

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 419 664**

51 Int. Cl.:

C12N 15/31 (2006.01)

C07K 14/195 (2006.01)

A61K 38/00 (2006.01)

A61K 38/16 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.12.1998 E 10177457 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.04.2013 EP 2256205**

54 Título: **Polipéptidos y polinucleótidos de Porphyromonas gingivalis**

30 Prioridad:

10.12.1997 AU PP083997

31.12.1997 AU PP118297

30.01.1998 AU PP154698

10.03.1998 AU PP226498

09.04.1998 AU PP291198

23.04.1998 AU PP312898

05.05.1998 AU PP333898

22.05.1998 AU PP365498

29.07.1998 AU PP491798

30.07.1998 AU PP496398

04.08.1998 AU PP502898

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

21.08.2013

73 Titular/es:

CSL LIMITED (50.0%)

45 Poplar Road

Parkville, Victoria 3052 , AU y

THE UNIVERSITY OF MELBOURNE (50.0%)

72 Inventor/es:

ROSS, BRUCE CARTER;

BARR, IAN GEORGE;

PATTERSON, MICHELLE ANNE;

AGIUS, CATHERINE THERESE;

ROTHEL, LINDA JOY;

MARGETTS, MAI BRIGID;

HOCKING, DIANNA MARGARET y

WEBB, ELIZABETH ANN

74 Agente/Representante:

PÉREZ BARQUÍN, Eliana

ES 2 419 664 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 y polinucleótidos de *Porphyromonas gingivalis*

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a secuencias de nucleótidos de *P. gingivalis*, polipéptidos de *P. gingivalis* y sondas para la detección de *P. gingivalis*. Los polipéptidos y nucleótidos de *P. gingivalis* se pueden usar en composiciones para su uso en la obtención de una respuesta inmunitaria contra *P. gingivalis* en un sujeto y tratar o evitar o reducir la gravedad de la afección conocida como periodontitis.

Antecedentes de la invención

Las enfermedades periodontales son enfermedades inflamatorias asociadas con bacterias de los tejidos de soporte de los dientes y varían desde la forma de gingivitis relativamente leve, la inflamación inespecífica reversible del tejido gingival hasta las formas de periodontitis más agresivas que se caracterizan por la destrucción de las estructuras de soporte del diente. La periodontitis se asocia con una infección subgingival de un grupo de bacterias gramnegativas específicas que conduce a la destrucción del periodonto y es un gran problema de salud pública. Una bacteria que ha atraído un interés considerable es *P. gingivalis*, dado que la recuperación de este microorganismo de lesiones de periodontitis en adultos puede ser hasta el 50 % de la flora subgingival cultivable anaeróbicamente, mientras que rara vez se recupera *P. gingivalis*, y cuando se hace es en pocas cantidades, de sitios sanos. Se ha asociado un aumento proporcional en el nivel de *P. gingivalis* en la placa subgingival con un aumento de la gravedad de la periodontitis y la erradicación del microorganismo de la población microbiana subgingival cultivable va acompañada de la resolución de la enfermedad. Se ha demostrado la progresión de las lesiones por periodontitis en primates no humanos con la implantación subgingival de *P. gingivalis*. Estos descubrimientos tanto en animales como en seres humanos apuntan a una función principal de *P. gingivalis* en el desarrollo de la periodontitis en adultos.

P. gingivalis es un bacilo gramnegativo proteolítico, asacarolítico, anaerobio, de pigmentación negra que obtiene energía del metabolismo de aminoácidos específicos. El microorganismo requiere indispensablemente para su proliferación hierro, preferentemente en forma de hemo o su producto de oxidación de Fe (III) hemina, y cuando prolifera en condiciones de exceso de hemina es altamente virulento en animales de experimentación. Se han implicado una serie de factores de virulencia en la patogenicidad de *P. gingivalis*, incluidos la cápsula, adhesinas, citotoxinas y enzimas hidrolíticas extracelulares.

Con el fin de desarrollar una vacuna segura y eficaz para evitar, eliminar o reducir la colonización por *P. gingivalis* es necesario identificar y producir antígenos que estén implicados en la virulencia que tengan utilidad como inmunógenos posiblemente a través de la generación de anticuerpos específicos. Aunque es posible intentar aislar los antígenos directamente de cultivos de *P. gingivalis*, con frecuencia es difícil. Por ejemplo como se menciona anteriormente, *P. gingivalis* es un anaerobio estricto y puede ser difícil de aislar y cultivar. También se sabe que, para una serie de organismos, cuando se cultivan *in vitro*, muchos genes de virulencia se regulan por disminución y las proteínas codificadas dejan de expresarse. Si se aplican técnicas de química convencionales para purificar candidatos de vacuna, puede que no se identifiquen moléculas (protectoras) potencialmente importantes. Con la secuenciación de ADN, como el gen está presente (pero no transcrito) aun cuando el organismo se cultiva *in vitro*, se puede identificar, clonar y producir como una proteína de ADN recombinante. De forma similar, el organismo *in vitro* puede expresar de forma transitoria un antígeno protector u objetivo terapéutico o se pueden producir en bajos niveles que hacen la identificación de estas moléculas extremadamente difícil por métodos convencionales.

Con la identificación serológica de los objetivos terapéuticos se limitan las respuestas a las que son detectables utilizando métodos comunes tales como transferencia de bandas western o ELISA. La limitación en este caso es tanto el nivel de respuesta que genera el animal o ser humano como determinar si esta respuesta es protectora, dañina o irrelevante. Con un enfoque de secuenciación para la identificación de posibles objetivos profilácticos o terapéuticos no existen limitaciones de este tipo.

También es bien conocido que *P. gingivalis* produce una variedad de proteasas ampliamente activas (solicitud de patente internacional N.º WO97/16542 de la Universidad de Melbourne, patentes de Estados Unidos N.ºs 5.475.097 y 5.523.390), lo que dificulta la identificación de proteínas intactas debido a su degradación por estas proteasas.

Sumario de la invención

Los presentes inventores han intentado aislar secuencias de nucleótidos de *P. gingivalis* que se pueden usar para la producción recombinante de polipéptidos de *P. gingivalis* y para desarrollar sondas nucleotídicas específicas para *P. gingivalis*. Las secuencias de ADN que se enumeran más adelante se han seleccionado de entre una gran cantidad de secuencias de *P. gingivalis* de acuerdo con su potencial indicador como candidatos de vacuna. Esta etapa intuitiva implicó la comparación de la secuencia proteínica deducida de las secuencias de ADN de *P. gingivalis* con las bases de datos de secuencias proteínicas conocidas. Algunas de las características usadas para seleccionar candidatos de vacuna útiles incluyen: la ubicación celular esperada, tal como proteínas de membrana externa o

5 proteínas secretadas, actividades funcionales particulares de proteínas similares tales como aquellas con una actividad enzimática o proteolítica, proteínas implicadas en rutas metabólicas esenciales que, cuando se inactivan o bloquean, pueden ser perjudiciales o letales para el organismo, proteínas que se podría esperar que desempeñen una función en la patogenia del microorganismo, p. ej., lisis de glóbulos rojos, aglutinación celular, o receptores celulares y proteínas que son parálogos a proteínas con eficacia de vacuna demostrada.

En un primer aspecto la presente invención proporciona un polipéptido antigénico de *Porphyromonas gingivalis* aislado, polipéptido que comprende;

10 una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO. 526 o SEQ ID NO. 383; o

una secuencia de aminoácidos al menos un 85 % o al menos un 95 % idéntica a la SEQ ID NO. 526 o la SEQ ID NO. 383; o

15 al menos 40 aminoácidos que tengan una secuencia contigua de al menos 40 aminoácidos idéntica a una secuencia contigua de aminoácidos de SEQ ID NO. 526 o SEQ ID NO. 383.

20 Tal como se usa en el presente documento, el % de identidad para polipéptidos se ha de calcular usando el algoritmo de alineación de Needleman y Munsch (9) usando una matriz de puntuación de proteínas estándar (Blosum 50).

En un segundo aspecto, la presente invención consiste en un polipéptido antigénico de *Porphyromonas gingivalis* aislado, comprendiendo el polipéptido una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO. 526 o SEQ ID NO. 383, descritas en la tabla 3.

25 En un tercer aspecto, la presente invención consiste en una molécula de ADN aislada, molécula de ADN que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido del primer aspecto de la presente invención.

30 La molécula de ADN puede comprender una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO. 119 o SEQ ID NO. 262.

En un cuarto aspecto, la presente invención consiste en un vector de expresión recombinante que comprende la molécula de ADN del tercer aspecto de la presente invención enlazado de forma funcional a un elemento regulador de la transcripción.

35 La presente invención también proporciona una célula aislada que comprende este vector de expresión recombinante.

En un aspecto adicional, la presente invención consiste en un método para producir una polipéptido de *P. gingivalis* que comprende cultivar la célula en condiciones que permitan la expresión del polipéptido.

40 En un aspecto adicional más, la presente invención proporciona una composición para su uso en la obtención de una respuesta inmunitaria dirigida contra *P. gingivalis* en un sujeto, composición que comprende una cantidad eficaz de al menos un polipéptido del primer aspecto de la presente invención, o al menos una molécula de ADN del tercer aspecto de la presente invención, o ambos, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Se prefiere que el vehículo farmacéuticamente aceptable sea un adyuvante. En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición de este tipo para su uso en el tratamiento de la infección por *P. gingivalis*. El tratamiento puede ser profiláctico o terapéutico.

50 En otro aspecto más, la presente invención proporciona un anticuerpo obtenido contra un polipéptido del primer aspecto de la invención. El anticuerpo puede ser policlonal o monoclonal. La presente invención también proporciona composiciones que incluyen estos anticuerpos. Se prefiere que estas composiciones estén adaptadas para uso oral y puedan ser, por ejemplo, dentífricos, colutorios, etc.

55 En otro aspecto adicional, la presente invención proporciona un método para detectar la presencia de una molécula de ADN del tercer aspecto de la invención en una muestra, que comprende:

60 (a) poner en contacto una muestra con una sonda nucleotídica que comprende al menos 18 nucleótidos y que tiene una secuencia contigua de al menos 18 nucleótidos idéntica a una secuencia contigua de nucleótidos de SEQ. ID. NO. 119 o SEQ ID NO. 262 en condiciones en las que se pueda formar un híbrido entre la sonda y la molécula de ADN del tercer aspecto de la invención en la muestra; y

(b) detectar el híbrido formado en la etapa (a), en el que la detección de un híbrido indica la presencia de una molécula de ADN del tercer aspecto de la invención en la muestra.

65 Se prefiere que la sonda comprenda además una marca detectable.

Descripción detallada

Definiciones

5 En el presente documento se usan indistintamente un polipéptido purificado o aislado o una preparación sustancialmente pura de un polipéptido y, tal como se usan en el presente documento, significan un polipéptido que se ha separado de otras proteínas, lípidos y ácidos nucleicos con los que se encuentra en la naturaleza. Preferentemente, el polipéptido también se separa de las sustancias, p. ej., anticuerpos o matriz de gel, p. ej., poliacrilamida, que se usan para purificarlo. Preferentemente, el polipéptido constituye al menos el 10, 20, 50, 70, 80
10 o 95 % en peso seco de la preparación purificada. Preferentemente, la preparación contiene: suficiente polipéptido para permitir la secuenciación de la proteína; al menos 1, 10 o 100 mg del polipéptido.

Una preparación de células purificada se refiere, en el caso de células vegetales o animales, a una preparación *in vitro* de células y no a una planta o un animal enteros intactos. En el caso de células cultivadas o células
15 microbianas, consiste de una preparación de al menos el 10 %, y más preferentemente del 50 %, de las células del sujeto.

Un ácido nucleico purificado o aislado o sustancialmente puro, p. ej., un ADN sustancialmente puro (son términos usados indistintamente en el presente documento), es un ácido nucleico que es uno o ambos de los siguientes: no inmediatamente contiguo con ambas secuencias codificantes con las que es inmediatamente contiguo (es decir, una en el extremo 5' y una en el extremo 3') en el genoma natural del organismo del que se obtiene el ácido nucleico; o que no tiene, sustancialmente, un ácido nucleico con el que se encuentra en el organismo del que se obtiene el ácido nucleico. El término incluye, por ejemplo, un ADN recombinante incorporado en un vector, p. ej., en un plásmido o virus que se replica de forma autónoma, o en el ADN genómico de un procarionte o eucariota, o que existe
20 como una molécula separada (p. ej., un ADNc o un fragmento de ADN genómico producido por PCR o tratamiento con endonucleasas de restricción) independiente de otras secuencias de ADN. El ADN sustancialmente puro también incluye un ADN recombinante que forma parte de un gen híbrido que codifica una secuencia de ADN adicional de *P. gingivalis*.

30 Tal como se usa en el presente documento, un "código" es un ácido nucleico que representa un tramo contiguo de secuencia genómica de un organismo.

Un "marco de lectura abierto", también denominado en el presente documento ORF, es una región de ácido nucleico que codifica un polipéptido. Esta región puede representar una porción de una secuencia codificante o una
35 secuencia total y se puede determinar desde un codón de parada hasta un codón de parada o desde un codón de inicio hasta un codón de parada.

Tal como se usa en el presente documento, una "secuencia codificante" es un ácido nucleico que se transcribe en ARN mensajero y/o se traduce en un polipéptido cuando se sitúa bajo el control de secuencias reguladoras apropiadas. Los límites de la secuencia codificante están determinados por un codón de inicio de la traducción en el extremo cinco prima y un codón de parada de la traducción en el extremo tres prima. Una secuencia codificante puede incluir, pero sin limitación, ARN mensajero, ADN sintético y secuencias de ácido nucleico recombinante.
40

Tal como se usa en el presente documento, un "complemento" de un ácido nucleico se refiere a una secuencia antiparalela o no codificante que participa en el apareamiento de bases de Watson-Crick con la secuencia original.
45

Un "producto génico" es una proteína o ARN estructural codificados específicamente por un gen.

Tal como se usa en el presente documento, el término "sonda" se refiere a un ácido nucleico, péptido u otra entidad química que se une específicamente a una molécula de interés. Frecuentemente, las sondas se asocian o pueden asociarse con una marca. Una marca es un resto químico que se puede detectar. Las marcas típicas comprenden tintes, radioisótopos, restos luminiscentes y quimioluminiscentes, fluoróforos, enzimas, agentes de precipitación, secuencias de amplificación y similares. Análogamente, un ácido nucleico, péptido u otra entidad química que se une específicamente a una molécula de interés e inmoviliza esa molécula se denomina en el presente documento "ligando de captura". Típicamente, los ligandos de captura se asocian o se pueden asociar con un soporte tal como nitrocelulosa, vidrio, membranas de nailon, perlas, partículas y similares. La especificidad de hibridación depende de condiciones tales como la composición de pares de bases de los nucleótidos y la temperatura y concentración salina de la reacción. Estas condiciones son fácilmente discernibles para un experto en la técnica usando experimentación de rutina.
50
55
60

Homólogo se refieren a la similitud de secuencia o identidad de secuencia entre dos polipéptidos o entre dos moléculas de ácido nucleico. Cuando una posición de las dos secuencias comparadas la ocupa la misma base o subunidad monomérica de aminoácido, p. ej., si una posición de cada una de las dos moléculas de ADN la ocupa una adenina, entonces las moléculas son homólogas en esa posición. El porcentaje de homología entre las dos secuencias es una función del número de posiciones coincidentes u homólogas compartidas por las dos secuencias dividido entre el número de posiciones comparadas x 100.
65

En el presente documento, los términos péptidos, proteínas y polipéptidos se usan indistintamente.

5 Tal como se usa en el presente documento un "componente inmunógeno" es un resto, tal como un polipéptido, análogo o fragmento del mismo, de *P. gingivalis*, que puede provocar una respuesta inmunitaria humoral y/o celular en un animal huésped.

10 Tal como se usa en el presente documento, un "componente antigénico" es un resto, tal como un polipéptido, análogo o fragmento del mismo, de *P. gingivalis*, que puede unirse a un anticuerpo específico con afinidad suficientemente alta para formar un complejo antígeno-anticuerpo detectable.

15 Tal como se usa en el presente documento, el término "promotor específico de célula" significa una secuencia de ADN que funciona como promotor, es decir, regula la expresión de una secuencia de ADN seleccionada enlazada de forma funcional al promotor, y que efectúa la expresión de la secuencia de ADN seleccionada en células específicas de un tejido. El término también engloba los llamados promotores "de fuga", que regulan la expresión de un ADN seleccionado principalmente en un tejido, pero que provocan la expresión también en otros tejidos.

20 Tal como se usa en el presente documento, el término "secuencia de control" se refiere a un ácido nucleico que tiene una secuencia de bases que reconoce el organismo huésped para efectuar la expresión de secuencias codificadas a las que están enlazada. La naturaleza de tales secuencias de control difiere en función del organismo huésped; en procariontes, tales secuencias de control incluyen en general un promotor, sitio de unión de ribosomas, terminadores y, en algunos casos, operadores; en eucariotes, en general tales secuencias de control incluyen promotores, terminadores y, en algunos casos, potenciadores. Se pretende que el término secuencia de control incluya, como mínimo, todos los componentes cuya presencia es necesaria para la expresión, y también puede incluir componentes adicionales cuya presencia es ventajosa, por ejemplo, secuencias líder.

30 Tal como se usa en el presente documento, el término "enlazado de forma funcional" se refiere a secuencias unidas o enlazadas para que funcionen del modo pretendido. Por ejemplo, una secuencia de control se une de forma funcional a la secuencia codificante mediante un enlace de tal forma que se logra la expresión de la secuencia codificante en condiciones compatibles con la secuencia de control y la célula huésped.

35 Tal como se usa en el presente documento, una "muestra" se refiere a una muestra biológica, tal como, por ejemplo, tejido o fluido aislado a partir de un individuo (incluidos, sin limitación, plasma, suero, líquido cefalorraquídeo, linfa, lágrimas, saliva y secciones tisulares) o a partir de constituyentes de cultivo celular *in vitro*, así como muestras del entorno.

40 En la puesta en práctica de la invención se emplearán, a menos que se indique lo contrario, técnicas convencionales de química, biología molecular, microbiología, ADN recombinante e inmunología bien conocidas por los expertos en la técnica. Técnicas de este tipo se describen y se explican en la literatura en fuentes tales como, J. Perbal, A Practical Guide to Molecular Cloning, John Wiley and Sons (1984), J. Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbour Laboratory Press (1989), T.A. Brown (editor), Essential Molecular Biology: A Practical Approach, volúmenes 1 y 2, IRL Press (1991), D.M. Glover y B.D. Hames (editores), DNA Cloning: A Practical Approach, volúmenes 1-4, IRL Press (1995 y 1996) y F.M. Ausubel et al. (editores), Current Protocols in Molecular Biology, Greene Pub. Associates y Wiley-Interscience (1988, incluidas todas las actualizaciones hasta el momento). La divulgación de estos textos se incorpora en el presente documento por referencia.

Vehículos farmacéuticamente aceptables

50 Los anticuerpos, polipéptidos y ADN de la presente invención se pueden incluir en composiciones que incluyen un vehículo o diluyente. Estas composiciones incluyen composiciones farmacéuticas donde el vehículo o el diluyente serán farmacéuticamente aceptables. Los vehículos o diluyentes farmacéuticamente aceptables incluyen los usados en composiciones adecuadas para administración oral, rectal, nasal, tópica (incluidas bucal y sublingual), vaginal, parenteral (incluidas subcutánea, intramuscular, intravenosa, intradérmica, intratecal y epidural). No son tóxicos para los receptores a las dosificaciones y concentraciones empleadas. Los ejemplos representativos de vehículos o diluyentes farmacéuticamente aceptables incluyen, pero sin limitación, agua, soluciones isotónicas preferentemente tamponadas a un pH fisiológico (tal como solución salina tamponada con fosfato o solución salina tamponada con Tris) y también pueden contener uno o más de, manitol, lactosa, trehalosa, dextrosa, glicerol, etanol o polipéptidos (tales como seroalbúmina humana). Las composiciones se pueden presentar convenientemente en formas farmacéuticas unitarias y se pueden preparar mediante cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de farmacia.

65 Como entenderán bien los expertos en la técnica, se pueden hacer modificaciones en las secuencias de aminoácidos establecidas en los listados de secuencias. Estas modificaciones pueden ser deleciones, inserciones, o sustituciones de residuos de aminoácido. Los polipéptidos modificados pueden ser naturales (es decir, purificados o aislados a partir de una fuente natural) o sintéticos (por ejemplo, mediante la realización de mutagénesis dirigida a sitio en el ADN codificante). Se pretende que estos polipéptidos modificados que tienen al menos el 85 %,

preferentemente al menos el 95 %, de identidad con las secuencias establecidas en el listado de secuencias estén dentro del alcance de la presente invención. Los anticuerpos obtenidos contra estos polipéptidos modificados también se unirán a los polipéptidos que tienen una de las secuencias establecidas en los listados de secuencias. El nivel de % de identidad se ha de calcular como se establece anteriormente.

5 Las secuencias proteínicas son homólogas si están relacionadas por divergencia a partir de un ancestro común. En consecuencia, un homólogo de especie de la proteína será la proteína equivalente natural en otra especie. Dentro de cualquier especie un homólogo puede existir como numerosas variantes alélicas, y éstas se considerarán homólogos de la proteína. Se pueden obtener variantes alélicas y homólogos de especie mediante las siguientes técnicas comunes conocidas por los expertos en la técnica.

Una variante alélica será una variante natural dentro de un organismo individual.

15 Mutantes, variantes y homología - Ácidos nucleicos

Los polinucleótidos mutantes tendrán una o más mutaciones que son deleciones, inserciones, o sustituciones de residuos de nucleótido. Los mutantes pueden ser naturales (es decir, aislados a partir de una fuente natural) o sintéticos (por ejemplo, mediante la realización de mutagénesis dirigida a sitio en el ADN). Por tanto, resulta evidente que los polinucleótidos de la invención pueden ser naturales o recombinantes (es decir, preparados usando técnicas de ADN recombinante).

Una variante alélica será una variante natural dentro de un organismo individual.

25 Las secuencias de nucleótidos son homólogas si están relacionadas por divergencia a partir de un ancestro común. En consecuencia, un homólogo de especie del polinucleótido será el polinucleótido equivalente natural en otra especie. Dentro de cualquier especie un homólogo puede existir como numerosas variantes alélicas, y éstas se considerarán homólogos del polinucleótido. Se pueden obtener variantes alélicas y homólogos de especies mediante las siguientes técnicas comunes conocidas por los expertos en la técnica.

30 Producción de anticuerpos

Un experto en la técnica puede producir anticuerpos, policlonales o monoclonales, que son específicos para un polipéptido de la presente invención usando técnicas comunes tales como, pero sin limitación, las descritas por Harlow et al. *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Springs Harbor Laboratory Press (1988), y D. Catty (editor), *Antibodies: A Practical Approach*, IRL Press (1988).

40 Se pueden usar diversos procedimientos conocidos en la técnica para la producción de anticuerpos policlonales frente a epitopos de una proteína. Para la producción de anticuerpos policlonales, son aceptables una serie de animales huésped para la generación de anticuerpos por inmunización con una o más inyecciones de una preparación de polipéptido, incluidos, pero sin limitación, conejos, ratones, ratas, etc. En función de la especie huésped, se pueden utilizar diversos adyuvantes para aumentar la respuesta inmunológica en el animal huésped, incluidos, pero sin limitación, adyuvante de Freund (completo e incompleto), geles minerales tales como hidróxido de aluminio, sustancias tensioactivas tales como lisolecitina, polioles plurónicos, polianiones, emulsiones de aceite, hemocianinas de lapa de California, dinitrofenol y adyuvantes humanos potencialmente útiles tales como BCG (bacilo de Calmette-Guérin) y *Corynebacterium parvum*.

50 Se puede preparar un anticuerpo monoclonal frente a un epítipo de una proteína usando cualquier técnica que permita la producción de moléculas de anticuerpo por líneas celulares continuas en cultivo. Éstas incluyen, pero sin limitación, la técnica de hibridoma originalmente descrita por Kohler y Milstein (1975, *Nature* 256, 493-497) y las más recientes técnica de hibridoma de linfocitos B humanos (Kesber et al. 1983, *Immunology Today* 4:72) y técnica de hibridoma de VEB (Cole et al. 1985, *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, Inc. págs. 77-96). Adicionalmente, se pueden usar técnicas desarrolladas para la producción de "anticuerpos quiméricos" mediante corte y empalme de los genes de la molécula de anticuerpo de especificidad de antígeno apropiada junto con genes de una molécula de anticuerpo humano de actividad biológica apropiada (Morrison et al. 1984, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 81:6851-6855; Neuberger et al. 1984 *Nature* 312:604-608; Takeda et al. 1985 *Nature* 31: 452-454). De forma alternativa, se pueden adaptar técnicas descritas para la producción de anticuerpos monocatenarios (en la patente de EE. UU. 4.946.778) para producir anticuerpos monocatenarios con 4 especificidades.

60 Las versiones humanas o humanizadas recombinantes de anticuerpos monoclonales son un modo de realización preferente para aplicaciones terapéuticas humanas. Se puede preparar anticuerpos humanizados de acuerdo con procedimientos de la literatura (p. ej., Jones et al. 1986, *Nature* 321:522-25; Reichman et al. 1988 *Nature* 332:323-27; Verhoeyen et al. 1988, *Science* 239:1534-36). También se puede emplear en la producción de anticuerpos humanizados la estrategia de "mutagénesis por conversión génica" recientemente descrita para la producción de anticuerpos monoclonales humanizados (Carter et al. 1992 *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 89: 4285-89). De forma alternativa, se pueden usar técnicas para generar la colección de fase recombinante de combinaciones aleatorias de regiones pesadas y ligeras para preparar anticuerpos recombinantes (p. ej., Huse et al. 1989 *Science* 246:1275-81).

Se pueden generar fragmentos de anticuerpo que contienen el idiotipo de la molécula tal como $Fu F(ab1)$ y $F(ab2)$ mediante técnicas conocidas. Por ejemplo, tales fragmentos incluyen, pero sin limitación: el fragmento $F(ab) E2$ que se puede producir por digestión con pepsina de la molécula de anticuerpo intacta; los fragmentos Fab' que se pueden generar mediante la reducción de los puentes disulfuro del fragmento $F(ab')_2$, y los dos fragmentos Fab que se pueden generar tratando la molécula de anticuerpo con papaína y un agente reductor. De forma alternativa, se pueden construir colecciones de expresión de Fab (Huse et al. 1989, Science 246:1275-1281) para permitir la identificación rápida y fácil de fragmentos Fab monoclonales con la especificidad deseada por una proteína.

10 Adyuvantes

"Adyuvante" significa una composición que comprende una o más sustancias que potencian la inmunogenicidad y eficacia de una composición de vacuna. Los ejemplos no limitantes de adyuvantes adecuados incluyen escualano y escualeno (u otros aceites de origen animal); copolímeros de bloque; detergentes tales como Tween®-80; Quil® A, aceites minerales tales como Drakeol o Marcol, aceites vegetales tales como aceite de cacahuete; adyuvantes derivados de corinebacterias tales como *Corynebacterium parvum*; adyuvantes derivados de propionibacterias tales como *Propionibacterium acne*; *Mycobacterium bovis* (bacilo de Calmette y Guérin o BCG); interleucinas tales como interleucina 2 e interleucina-12; monocinas tales como interleucina 1; factor de necrosis tumoral; interferones tales como interferón gamma; combinaciones tales como saponina-hidróxido de aluminio o Quil A hidróxido de aluminio; liposomas; adyuvante ISCOM; extracto de pared celular micobacteriana; glucopéptidos sintéticos tales como dipéptidos muramilo u otros derivados; Avridine; lípido A; sulfato de dextrano; DEAE-dextrano o DHAE-dextrano con fosfato de aluminio; carboxipolimetileno tal como Carbopol® EMA; emulsiones de copolímero acrílico tales como Neocryl A640 (p. ej., en la patente de EE. UU. N.º 5.047.238); proteínas de virus de la vaccinia o poxvirus animales; adyuvantes de partículas subvéricas tales como toxina del cólera, o mezclas de los mismos.

Tal como se usa en el presente documento, son condiciones rigurosas aquellas que (1) emplean fuerza iónica baja y temperatura alta para el lavado, por ejemplo, NaCl 0,015 M/citrato de sodio 0,0015 M/ NaDodSO₄ al 0,1 % a 50 °C; (2) emplean durante la hibridación un agente desnaturalizante tal como formamida, por ejemplo, formamida al 50 % (vol/vol) con seroalbúmina bovina al 0,1 %, Ficoll al 0,1 %, povidona al 0,1 %, tampón fosfato de sodio 50 mM a pH 6,5 con NaCl 750 mM, citrato de sodio 75 mM a 42 °C; o (3) emplean formamida al 50 %, 5 x SSC (NaCl 0,75 M, citrato de sodio 0,075 M), fosfato de sodio 50 mM (pH 6,8), pirofosfato de sodio al 0,1 %, 5 x solución de Denhardt, ADN de esperma de salmón sonicado (50 µg/ml), SDS al 0,1 % y sulfato de dextrano al 10 % a 42 °C en 0,2 x SSC y SDS al 0,1 %.

Como se entenderá, la presente invención incluye dentro de su alcance la vacunación con ADN. Se puede encontrar información adicional referente a la vacunación con ADN en Donnelly et al, Journal of Immunological Methods 176(1994) 145-152.

A lo largo de la presente memoria descriptiva, se entenderá que la palabra "comprenden", o variaciones tales como "comprende" o "que comprende", implica la inclusión de un elemento indicado o un número entero o grupo de elementos o números enteros, pero no la exclusión de ningún otro elemento o número entero, o grupo de elementos o números enteros.

45 Preparación de la colección de *P. gingivalis* para su secuenciación

Para determinar la secuencia de ADN de *P. gingivalis* se aisló ADN genómico de la cepa W50 de *P. gingivalis* (ATCC 53978) esencialmente por el método descrito por Mamur J. (J. Mol. Biol. 3, 208-218, 1961). La clonación de fragmentos de ADN se realizó esencialmente como describen Fleischmann et al. (Science; 269, 496-512, 1995) (2). Brevemente, se nebulizó ADN genómico de *P. gingivalis* purificado para fragmentar el ADN y se trató con nucleasa Bal31 para crear extremos romos; después se pasó dos veces por geles de agarosa al 1 % preparativos. Se extrajeron del gel fragmentos de ADN de 1,6-2,0 kb y se recuperó el ADN. A continuación, se ligó este ADN al vector pUC18 (digerido con *Sma*I y desfosforilado; Pharmacia) y se sometió a electroforesis a través de un gel de agarosa al 1 % preparativo. Se escindió el fragmento que comprendía el vector lineal más un inserto, se purificó y se repitió este método para eliminar cualquier contaminación con vector sin inserto. Se crearon extremos romos en el vector con inserto de ADN recuperado con polimerasa de ADN T4, después se realizó una ligadura final para producir ADN circular. Se transformaron alícuotas de células competentes para electroporación Epicurian Coli (Stratagene) con el ADN ligado y se plaquearon en placas de agar SOB con difusión de antibiótico que contenían X-gal y se incubaron a 37 °C durante la noche. Las colonias con insertos aparecieron blancas y aquellas sin insertos (vector solo) aparecieron azules. Se almacenaron las placas 4 °C hasta que se recogieron los clones blancos y se expandieron para la extracción del ADN plasmídico para su secuenciación.

60 Secuenciación de ADN

Se preparó ADN plasmídico mediante la recogida de colonias bacterianas en 1,5 ml de caldo de cultivo LB, TB o SOB complementado con 50-100 µg/ml de ampicilina en placas de 96 pocillos profundos. Se aisló el ADN plasmídico usando los kits de miniprep QIAprep Spin o QIAprep 96 Turbo (QIAGEN GmbH, Alemania). Se eluyó el ADN en una

matriz cuadriculada de 96 pocillos -20 C.

5 Se realizaron reacciones de secuenciación usando kits de reacción preparados para secuenciación cíclica ABI PRISM Dye Terminator y ABI PRISM BIGDye Terminator con polimerasa de ADN FS AmpliTaq (PE Applied Biosystems, Foster City, CA) usando los cebadores de secuenciación directos e inversos universales M13. Las reacciones de secuencia se llevaron a cabo en termocicladores GeneAmp 9700 de Perkin-Elmer (PE Applied Biosystems) o PCR Express de Hybaid (Hybaid, Reino Unido). Las reacciones de secuenciación se analizaron en secuenciadores de ADN ABI PRISM 377 (PE Applied Biosystems).

10 A continuación se establecen varias de las secuencias obtenidas. La relación entre estas secuencias se establece en la tabla 1. Cabe destacar que la presente invención se refiere a PG97. El codón de inicio se calculó usando una combinación de alineación de homología de secuencia (FASTA), predicción de la secuencia señal (PSORT, SignalP) o predicción del ORF (GeneMark).

15 Tabla 1: Tabla de referencia que indica las relaciones de cada ID de secuencia con las proteínas seleccionadas.

Nombre de la proteína	Secuencia de ADN del ORF completo	Secuencia de aminoácidos del ORF completo	Secuencia de ADN de la proteína	Secuencia de aminoácidos de la proteína
PG1	1	265	122	386
PG3	45	309	170	434
PG30	46	310	171	435
PG75	95	359	229	493
PG96	118	382	261	525
PG97	119	383	262	526

Análisis de secuencia de ADN

20 Se convirtieron archivos de ADN en formato FASTA en archivos de formato GCG y se importaron a una base de datos. Se tradujeron los archivos de ADN a archivos de aminoácidos usando el programa Flip obtenido del ANGIS (Australian Genomic Information Service, University of Sydney, Australia). Se realizaron una serie de análisis bioinformáticos en las proteínas con el fin de seleccionar posibles candidatos de vacuna. Los programas usados fueron búsqueda de homología FASTA (1), PSORT (2,3), SignalP (4), TopPred (5) y GeneMark (6). Se almacenaron las proteínas y sus resultados bioinformáticos en la base de datos creada para ello para buscar y recuperar proteínas con las características deseadas.

30 Después, se examinaron los resultados de homología FASTA para estas proteínas para cualquier alineación con una proteína que indicara ubicación de superficie o eficacia de vacuna. Se realizó una búsqueda de homología de todas las proteínas frente a una base de datos de proteínas bacterianas no redundante recopilada por el ANGIS usando el algoritmo FASTA. La configuración usada para las búsquedas FASTA fue Ktup = 2, penalización creación de hueco = -12, penalización por extensión de hueco = -2, anchura para derivar la alineación en opt = 16 y la matriz de puntuación Blosum 50. Se examinaron los resultados de búsqueda FASTA individuales para determinar la homología significativa por probabilidad estadística y alineaciones de aminoácidos. Los resultados se establecen en la tabla 2.

35 Después, se recortaron los archivos de proteínas en el primer, segundo, tercero, cuarto y quinto residuo de metionina usando un programa de recorte de proteínas (ANGIS). Después, se sometieron las proteínas recortadas a análisis con PSORT para la detección de secuencias señal y la predicción de la ubicación celular. Las proteínas que mostraron una probabilidad PSORT de membrana externa >0,8 se consideraron indicativas de ubicación de superficie. También se realizó una segunda detección de secuencias señal con el programa SignalP y, en determinados casos, este programa detectó señales no identificadas con PSORT. Todas las proteínas identificadas por otros métodos también se analizan con PSORT y SignalP. Anteriormente, se ha mostrado que el aminoácido C-terminal de las proteínas de membrana externa bacteriana es importante para el ensamblado de la proteína en la membrana externa (7). Se ha determinado una definición de estructura típica para proteínas de membrana externa como la presencia de una secuencia señal en el extremo N-terminal y una tirosina o fenilalanina en el extremo C-terminal. Varias de las proteínas seleccionadas presentan esta estructura característica. Se usó el programa TopPred para determinar la presencia y número de dominios transmembranarios (MSD) y la presencia de tales secuencias indica una preferencia de unión a membranas tales como la membrana externa. Los resultados de los análisis con PSORT, SignalP y TopPred con los aminoácidos C-terminales de las proteínas seleccionados se establecen en la tabla 3.

Los 70 aminoácidos del extremo C-terminal de una serie de proteínas de membrana externa de *P. gingivalis* comparten el 50-100 % de identidad de secuencia de proteína. Estas proteínas incluyen RGP1, RGP2, KGP, HagA,

HagC, HagD, prtH y prtT. Este motivo conservado puede estar implicado en la unión o selección de proteínas a la membrana externa. Los datos de proteínas se buscaron usando homología FASTA como se describe anteriormente y los resultados para PG96 y PG97 se recogen en la tabla 4.

5 Tabla 2: Resultados de homología de proteínas FASTA de ORF completos frente a una base de datos de proteínas no redundante.

Nombre de la proteína	Descripción de la homología	Número de acceso de Genbank	Longitud de homólogo	Longitud de proteína de <i>P. gingivalis</i>	Resultados de homología FASTA		
					% de identidad	Solapamiento	Valor de E
PG1	Proteína de membrana externa de 48 kD, <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	U24492	449 aa	451 aa	32	454 aa	1,40E-42
PG3	Adhesina F de porina de membrana externa, <i>Pseudomonas fluorescens</i>	U19743	317 aa	223 aa	35	187 aa	1,10E-10
PG30	Supuesta lipoproteína NlpD, <i>Aquifex aeolicus</i>	AE000754	187 aa	337 aa	42	142 aa	1,80E-12
PG75	Porina de membrana externa de clase 3 (porB), <i>Neisseria meningitidis</i>	U07191	332 aa	391 aa	23	239 aa	4,60E-01

10 Tabla 3: Resultados de los análisis de las proteínas por PSORT, SignalP y TopPred. La columna de señal presente indica la presencia de una secuencia señal detectada con PSORT o SignalP. Los términos entre paréntesis indican el tipo de secuencia señal determinada por PSORT. Los valores de ubicación celular y probabilidad se generan mediante PSORT y representan la probabilidad de que la proteína esté en los compartimentos celulares de la membrana externa (ME), la membrana interna (MI), el espacio periplásmico (EP) o el citoplasma (C). El número de dominios transmembranarios (DTM) se determinó por TopPred y no incluye secuencias señal no escindibles.

Nombre de la proteína	Número de SEQ ID de la proteína	Longitud de la proteína	Señal presente	Metionina en el ORF	Sitio de escisión de SignalP	Sitio de escisión de PSORT	Ubicación celular y probabilidad				Aminoácido de C-terminal	Número de DTM
							ME	MI	EP	C		
PG1	386	451 aa	Y	1	24	34	0	0	0	0,22	N	0
PG3	434	223 aa	Y (lipoproteína)	1	-	18	0,79	0,76	0	0	K	3
PG30	435	337 aa	Y	1	21	21	0,24	0	0,4	0	K	0
PG75	493	391 aa	Y	1	26	26	0,94	0	0,3	0	H	1
PG96	525	563 aa	Y	1	23	23	0,40	0	0,33	0	K	0
PG97	526	437 aa	Y	1	23	23	0,32	0	0,65	0	Q	0

15 Tabla 4: Porcentaje de identidad y porcentaje de similitud de diversas proteínas con los 70 aminoácidos del extremo C-terminal de la arginina proteasa 1 (RGP1), la arginina proteasa 2 (RGP2) y la cisteín proteasa/hemaglutinina (prtT) de *P. gingivalis*.

Nombre de la proteína	Porcentaje de identidad			Porcentaje de similitud		
	RGP1	RGP2	prtT	RGP1	RGP2	prtT
PG96	0	13	20	0	24	43
PG97	10	26	33	14	47	61

20 Clonación, expresión y purificación de genes recombinantes de *P. gingivalis*

PG1

Se usaron oligonucleótidos para las regiones 5' y 3' de la proteína deducida para amplificar el gen de interés a partir de una preparación del ADN genómico de *P. gingivalis* W50 usando el sistema de PCR de precisión TaqPlus

(Stratagene) y un termociclador PTC-100 (MJ Research) o un dispositivo similar. La secuencia del cebador oligonucleotídico 5' era GCGCCATATGCTGGCCGAACCGGCC, la secuencia del cebador oligonucleotídico 3' era GCGCCTCGAGTCAATTCATTTCTTATAGAG. Se purificó el fragmento de PCR, se digirió con enzimas de restricción Nde I, Xho I (Promega) y se ligó en los sitios correspondientes del plásmido pProEx-1 (Gibco-BRL) y se transformó en células ER1793 de *E. coli* (un regalo de Elizabeth Raleigh, New England Biolabs). Se seleccionó un clon resultante que expresaba el inserto correcto y se indujo con o sin IPTG 0,1 mM (Promega) para la expresión de la proteína recombinante. Se determinó la expresión de la proteína recombinante mediante análisis de SDS-PAGE y transferencia de bandas western usando uno de los antiseros de conejo descritos anteriormente o un anticuerpo anti-hexahistidina (Clontech) que detecta la marca de hexahistidina que se fusionó con la proteína recombinante de *P. gingivalis*. Se purificó PG1 mediante rotura de las células de *E. coli* por sonicación en tampón de unión (Novagen) y solubilización por adición de sarcosil (N-lauróil sarcosina) hasta una concentración final del 1 %. A continuación, se diluyó la preparación al 0,1 % de sarcosil en tampón de unión, se unió a una columna de níquel-ácido nitrilotriacético (Ni-NTA; Qiagen), después del lavado se eluyeron las proteínas unidas con imidazol 1 M en tampón de elución (Novagen) de acuerdo con las recomendaciones de Qiagen con sarcosil al 0,1 % añadido a todos los tampones. Después de la purificación, se dializaron las muestras frente a NaCl 500 mM, Tris 20 mM, sarcosil al 0,1 % a pH 7,4 para eliminar el imidazol, se concentraron según fuera necesario y se almacenaron a 4 °C hasta su utilización. Se evaluaron la pureza y antigenicidad por SDS-PAGE y transferencia de bandas western usando antiseros seleccionados (de entre los descritos anteriormente) y se determinó la concentración de proteína mediante el ensayo BCA (Pierce).

PG3

Los métodos usados para PG3 fueron esencialmente los mismos que para PG1 con las siguientes excepciones. La secuencia del cebador oligonucleotídico 5' era GCGCGTATACATGAAGAAATCAAGTGTAG, la secuencia del cebador oligonucleotídico 3' era GCGCAGATCTCTTCAGCGTACCTTGCTGTG y el ADN se amplificó con polimerasa de ADN Pfu (Stratagene). El producto de PCR se clonó directamente en pCR-Blunt y se transformó en Top10F' de *E. coli* (Invitrogen) antes de subclonarlo en el plásmido de expresión pGex-stop RBS(IV) usando los sitios de restricción Bst Z171 y Bgl II y se transformó en BL21DE3 de *E. coli* (Pharmacia Biotech). Se realizaron las siguientes modificaciones en la purificación de PG3 a partir del método para PG1. Las células que expresaban la proteína recombinante se rompieron por sonicación en tampón de unión y se concentraron por centrifugación los cuerpos de inclusión insolubles. Después, se solubilizaron los cuerpos de inclusión en urea 6 M (Sigma) en tampón de unión y se eluyeron con urea 6 M añadido al tampón de elución. En algunos casos se usó clorhidrato de guanidina 6 M (Sigma) en lugar de urea para estas etapas. Se eliminó la urea (o el clorhidrato de guanidina cuando se substituyó) de la proteína purificada mediante diálisis secuencial frente a concentraciones decrecientes de urea (urea 3 M, después 1,5 M, después 0,5 M, después 0 M, todas en Tris 50 mM, NaCl 500 mM, glicerol al 8 %, pH 7,4). La proteína purificada se almacenó congelada a -80 °C hasta que se necesitara. Se determinó la concentración de proteína mediante ensayo de proteínas Coomassie Plus (Pierce).

PG30

Los métodos usado para PG30 fueron esencialmente los mismos que para PG3 con las siguientes excepciones. Se eliminó la secuencia señal N-terminal predicha de la proteína recombinante. La secuencia del cebador oligonucleotídico 5' era TACGGAATTCGTGACCCCGTCAGAAATGTGCGC, la secuencia del cebador oligonucleotídico 3' era CTATGCGGCCGCTTTGATCCTCAAGGCTTTGCCCGG y se amplificó el ADN con el kit de PCR Tth XL. El producto de PCR se clonó en el plásmido de expresión pET24a usando los sitios de restricción Eco RI y Not I y se transformó en BL21DE3 de *E. coli*. Se llevaron a cabo estudios de expresión e inmunorreactividad en lisados de *E. coli* completos de PG30. Se hicieron proliferar cultivos de 10 ml de *E. coli* recombinante hasta una DO de 2,0 ($A_{600\text{ nm}}$) en caldo de cultivo Terrific y se indujeron las células con IPTG 0,5 mM y se tomaron muestras para análisis 4 horas después de la inducción. No se realizó purificación para estos estudios.

PG75

Los métodos usados para PG75 fueron esencialmente los mismos que para PG30 con las siguientes excepciones. Se eliminó la secuencia señal N-terminal predicha de la proteína recombinante. La secuencia del cebador oligonucleotídico 5' era GGCGGGATCCGCTCAGGAGCAACTGAATGTGGTA, la secuencia del cebador oligonucleotídico 3' era GAGTGCGGCCGCTGTGGAACAAATTGCGCAATCCATC y se amplificó el ADN con el kit de PCR Tth XL. El producto PCR se clonó en el plásmido de expresión pET24a usando los sitios de restricción Bam HI y Not I y se transformó en BL21DE3 de *E. coli*. Se llevaron a cabo estudios de expresión e inmunorreactividad en lisados de *E. coli* completos. No se realizó purificación para estos estudios.

PG96

Los métodos usados para PG96 fueron esencialmente los mismos que para PG30 con las siguientes excepciones. Se eliminó la secuencia señal N-terminal predicha de la proteína recombinante. La secuencia del cebador oligonucleotídico 5' era TGCTGAGCTCCAAACGCAAATGCAAGCAGACCGA, la secuencia del cebador oligonucleotídico 3' era GAGTGCGGCCGCTTTGAGAATTTTCATTGTCTCAGC y se amplificó el ADN con el kit de

PCR Tth XL. El producto PCR se clonó en el plásmido de expresión pET24a usando los sitios de restricción Sac I y Not I y se transformó en BL21DE3 de *E. coli*. Se llevaron a cabo estudios de expresión e inmunorreactividad en lisados de *E. coli* completos. No se realizó purificación para estos estudios.

5 PG97

Los métodos usados para PG97 fueron esencialmente los mismos que para PG30 con las siguientes excepciones. Se eliminó la secuencia señal N-terminal predicha de la proteína recombinante. La secuencia del oligonucleotídico 5' era GGCGGGATCCCAGTTTGTTCGGCTCCCACCACA, la secuencia del cebador oligonucleotídico 3' era GAGTGC GGCCGCTCTGTTTGATGAGCTTAGTGGTATA y se amplificó el ADN con el kit de PCR Tth XL. El producto PCR se clonó en el plásmido de expresión pET24a usando los sitios de restricción Bam HI y Not I y se transformó en BL21DE3 de *E. coli*. Se llevaron a cabo estudios de expresión e inmunorreactividad en lisados de *E. coli* completos. No se realizó purificación para estos estudios.

15 Antisueros animales y sueros de pacientes humanos

Se obtuvieron diversos antisueros para detectar la expresión y el replegamiento de las proteínas de *P. gingivalis* recombinantes. Se obtuvo un antisuero de células completas inyectando en conejos blanco de Nueva Zelanda 3 dosis de *P. gingivalis* (cepa W50) sonicadas que contenían aproximadamente 2 mg de proteína. La primera dosis se dio en adyuvante completo de Freund (ACF) y la segunda y tercera dosis se dieron en adyuvante incompleto de Freund (AIF) en intervalos de 3 semanas. Las dosis (1 ml) se administraron por vía intramuscular en las patas traseras y se sangró a los conejos 7 días después de la última dosis, se coaguló la sangre y se eliminó el suero y se almacenó a -20 °C hasta que se necesitara. Se produjo un segundo antisuero de conejo de forma similar pero usando como inmunógeno una fracción insoluble en sarcosil (cada dosis era de 0,69 mg de proteína) obtenida de *P. gingivalis* W50 de acuerdo con el método de Doidg y Trust T. et al., 1994. Se produjo un tercer antisuero de conejo de forma similar al primero, excepto porque se usó como inmunógeno la fracción soluble en sarcosil (1 mg de proteína por dosis) obtenida de células W50 de *P. gingivalis* de acuerdo con el método de Doidg P. y Trust T.J. (1994 Infect Immun 62:4526-33).

30 En estos estudios también se usó una reserva de "suero de rata protegido" y se obtuvo de ratas inmunizadas con células de *P. gingivalis* completas inactivadas con formalina en FIA (cepa ATCC 33277; 2 dosis de 2×10^9 células, separadas 3 semanas). 2 semanas después de la última dosis, se expuso a las ratas a células de *P. gingivalis* (cepa 33277) vivas administradas por vía oral como se describe anteriormente (Klaussen B. et al. 1991, Oral Microbiol Immunol 6:193-201) y, en el momento de sacrificarlas, al suero obtenido de estas ratas 6 semanas después de la inoculación de exposición final.

Se obtuvieron sueros humanos de pacientes adultos sometidos a tratamiento o exploración para periodontitis en una policlínica. Estos pacientes tenían al menos 6 dientes con pérdida de adhesión de 6 mm y tenían *P. gingivalis* presente en la placa subgingival, detectada usando una sonda de ADN específica para *P. gingivalis*. Se agruparon los sueros de estos pacientes y se compararon con una reserva de sueros de pacientes periodontalmente sanos.

40 Protocolos de inmunización y de modelo de lesión murino

Se usó el modelo de absceso de ratón mouse para evaluar la eficacia inmunizar ratones con proteínas recombinantes de *P. gingivalis* para proteger a los ratones de la formación de un absceso subcutáneo. Este modelo ya se ha usado como predictor de posibles vacunas contra enfermedades periodontales (Bird PS, et al. 1995 J. Periodontol. 66:351-362). Se inmunizaron ratones BALB/c de 6-8 semanas de edad mediante inyección por vía subcutánea en el día 0 de 0,1 ml que contenían 10 o 20 µg de proteína recombinante de *P. gingivalis*, 20 µg de proteína de lisado de *E. coli*, 2×10^9 células inactivadas con formalina de la cepa 33277 de *P. gingivalis* emulsionadas en adyuvante incompleto de Freund (AIF; Sigma). En el día 21, se volvió a inyectar a los ratones la misma dosis y después se sangraron 1 semana más tarde y se evaluaron los niveles de anticuerpos. En el día 35, se expuso a todos los ratones a aproximadamente 2×10^9 células de *P. gingivalis* (ATCC 33277) vivas mediante inyección subcutánea en el abdomen. Después de la exposición se realizó un seguimiento de la pérdida de peso de los ratones y se midió el tamaño de la lesión durante los 10 días siguientes. Los tamaños de la lesión se midieron en longitud y anchura y se expresaron en mm². Se realizó el análisis estadístico de los grupos usando un ANOVA de una vía Kruskal-Wallis y también se estudiaron individualmente usando la prueba de la t no pareada o la prueba de la suma de los rangos o de Mann-Whitney usando el paquete estadístico Instat.

60 La figura 1 muestra los resultados de un experimento en el día 4 después de la exposición (las lesiones tenían el tamaño máximo en este punto temporal). Los ratones de control inmunizados con lisado de *E. coli* mostraban lesiones grandes, mientras que los ratones inmunizados con células inactivadas de la cepa 33277 de *P. gingivalis* estaban totalmente protegidos. Esto indica que las células completas proporcionan protección frente a *P. gingivalis*, mientras que los ratones inmunizados con proteína de *E. coli* no estaban protegidos. Los ratones a los que se les administraron las diversas proteínas recombinantes de PG mostraron niveles significativos de protección para PG2, PG22, PG24 y PG29 ($p < 0,05$ prueba de la t no pareada) mientras que PG8A no fue significativamente diferente ($p = 0,07$) en comparación con el grupo de control de *E. coli*.

La figura 2 muestra los resultados de un experimento independiente que emplea combinaciones de proteínas recombinantes. Los ratones a los que se les administró PG1 + PG2 mostraron un nivel significativo de protección en comparación con los ratones de control a los que se les administró lisado de *E. coli* ($p < 0,026$ prueba de la t no pareada).

Inmunodetección

Se cultivaron candidatos clonados en 15 ml de caldo de cultivo Terrific, se indujeron con IPTG y se tomaron muestras 4 h después de la inducción. Se retiró un ml de cultivo, se sedimentó y se resuspendieron las células en un volumen de PBS determinado dividiendo la DO_{A600nm} del cultivo entre 8. Se añadió una alícuota de lisado (100 μ l) a 100 μ l de 2x tampón de muestra reductor (Tris 125 mM a pH 6,8, glicerol al 20 %, SDS al 4 %, DTT 80 mM, azul de bromofenol al 0,03 %) y se llevó a ebullición durante 10 min. Se realizó una SDS-PAGE de acuerdo con el método de Laemmli UK. 1970 (Nature 227:680-685) usando geles de Tris-Glicina al 4-20 % de 1,0 mm (Novex) de acuerdo con las recomendaciones de los fabricantes. Se transfirieron las proteínas a membranas de nitrocelulosa Hybond-C Extra (Amersham) por transferencia de bandas y después se bloquearon las membranas 2 h a temperatura ambiente (TA) en leche desnatada al 5 % en Tris 20 mM, NaCl 0,5 M, Tween-20 al 0,05 %, a pH 7,5 (TTBS).

Las inmunodetección se realizó por separado con el suero de conejo anti-células completas de *P. gingivalis*, el suero protector de rata, una reserva de suero de pacientes periodontales humanos y, en muchos casos, un conjugado de anticuerpo anti-marca T7 y HRP (Novagen). Antes de su uso, se diluyeron los sueros de conejo, rata y humano 1/5000, 1/1000 y 1/500 respectivamente en leche desnatada al 5 % en TTBS y se absorbieron con 100 μ l (para el suero de conejo) o 250 μ l (para el suero de rata y humano) de extracto de *E. coli* (20 mg/ml; Promega) durante 6 h a TA.

Se incuban durante la noche membranas a TA con el antisuero absorbido, o durante 1 hr a YA con 1/5000 de conjugado anti-T7-Tag diluido. Luego de lavados de 3x10 min con TTBS, anticuerpo anti-conejo (Silenus), anti-ratón (Silenus) o anti-humano (KPL) conjugado con HRP, se diluye 1/5000 en 5 % de leche descremada en TTBS, se agrega durante 1h a TA. Las membranas se lavan como anteriormente, antes de la adición del sustrato de peroxidasa de membrana TMB (KPL) para la detección de las proteínas inmunoreactivas. Los resultados de reactividad de las proteínas *P. gingivalis* recombinantes se muestra en la Tabla 5.

Tabla 5: Resultados de inmunotransferencia de proteínas expresadas en *E.coli* contra antisueros de conejo, rata y humano. El PM deducido se calculó a partir de la secuencia de aminoácidos de las proteínas de *P. gingivalis*, de algunas de las cuales se había eliminado la secuencia señal N-terminal. El PM aparente se determinó a partir de geles de SDS-PAGE. Las marcas N- y C-terminales añadían aproximadamente 2,5 KDa al PM deducido de las proteínas recombinantes. Los símbolos son + positivo, - negativo, +/- positivo débil, NR no realizado.

Número de la proteína	PM deducido (KDa)	PM aparente (KDa)	Reactividad de los antisueros			
			T7	Conejo	Rata	Humano
PG1	47,5	63	NR	-	-	-
PG3	22,6	18,3	NR	- ^a	-	-
PG30	35,1	46,9	+	-	-	-
PG75	40,7	46,7	+	-	-	-
PG96	59,3	70,3	+	+	+	+
PG97	44,4	57,5	+	-	+	+

a. Reacción positiva detectada con el antisuero de conejo frente al antígeno de *P. gingivalis* insoluble en sarcosil.

Referencias

- Lipman DJ, Pearson WR. 1985. Rapid and sensitive protein similarity searches. Science 277:1435-1441.
- Horton, P. y Nakai, K. (1996). A probabilistic classification system for predicting the cellular localization sites of proteins. Intellig. Syst. Mol. Biol. 4: 109-115.
- Nakai K, Kanehisa M. 1991. Expert systems for predicting protein localization sites in Gram-negative bacteria. Proteins: Structure, Function, and Genetics 11:95-110.
- Nielsen H, Engelbrecht J, Brunak S y von Heijne G. 1997. Identification of prokaryotic and eukaryotic signal peptides and prediction of their cleavage sites. Protein Engineering 10, 1-6.
- Claros MG y G von Heijne. (1994). TopPred II: an improved software for membrane protein structure predictions.

Comput. Appl. Biosci. 10: 685-686.

6. Borodovsky M, Rudd KE y EV Koonin. (1994). Intrinsic and extrinsic approaches for detecting genes in a bacterial genome. Nucleic Acids Res. 22: 4756-4767.

5 7. Struvye M, Moons M, Tommassen J. 1991. Carboxy-terminal phenylalanine is essential for the correct assembly of a bacterial outer membrane protein J. Mol. Biol. 218:141-148.

10 8. Aduse-Opoku J, Slaney JM, Rangarajan M, Muir J, Young KA, Curtis MA. 1997. The Tla receptor protein of *Porphyromonas gingivalis* W50: a homolog of the RI precursor (PrpRI) is an outer membrane receptor required for growth on low levels of hemin. J. Bacteriol. 179:4778-4788.

15 9. Needleman SB, Munsch CD. 1970. A general method applicable to the search of similarity in the amino acid sequence of two proteins. J. Molec. Biol. 48: 443-453.

Listado de secuencias

Solicitante: CSL Limited

20 Inventores: ROSS, Bruce, Carter

BARR, Ian, George

25 PATTERSON, Michelle, Anne

ROTHEL, Linda, Joy

MARGETTES, Mai, Brigid

30 HOCKING, Dianna, Margaret

WEBB, Elizabeth, Ann

35 Título: POLIPÉPTIDOS Y POLINUCLEÓTIDOS DE *PORPHYROMONAS GINGIVALIS*

N. ° de Solicitud: EP 06008722.8

Fecha de presentación: 27-04-2006

40 Ref. del agente: P30594EP1/NJL

Divisional de: EP 98960880.7

10-12-1998

45 Datos de prioridad AU PP 0839

10-12-1998

50 AU PP 1182

31-12-1997

55 AU PP 1546

30-01-1998

AU PP 2264

60 10-03-1998

AU PP 2911

09-04-1998

65 AU PP 3128

23-04-1998
AU PP 3338
5 05-05-1998
AU PP 3654
10 22-05-1998
AU PP 4917
29-07-1998
15 AU PP 4963
30-07-1998
20 AY PP 5028
04-08-1998
25 (2) INFORMACIÓN PARA SEQ ID NO: 1
(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
(A) LONGITUD: 1362 pares de bases
30 (B) TIPO: ácido nucleico
(C) CADENA: doble
(D) TOPOLOGÍA: circular
35 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN (genómico)
(iii) HIPOTÉTICO: NO
40 (iv) NO CODIFICANTE: NO
(vi) FUENTE ORIGINAL:
45 (A) MICROORGANISMO: PORPHYROMONAS GINGIVALIS
(ix) CARACTERÍSTICA:
(A) NOMBRE/CLAVE: característica_misc
50 (B) UBICACIÓN 1...1362
(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 1

ES 2 419 664 T3

TTCTGTGTCA	TGGCAAAAGT	TATAAAAACA	AAAAAAGGCC	TTGCACCTAA	TCTGAAAGGA	60
AAACCGCTGC	COGAGATGCT	GGCCGAACCG	GCCCAAAGTC	CTACTTACGC	GGTCGTGCC	120
GACGATTTTG	AAGSTGTTAT	CCCCAAGGTG	ACGGCTCGTC	CGGGGGATAA	GGTGGGTGCC	180
GGCTCAGCAC	TGATGCACCA	CAAGGCATAT	CCGGAGATGA	AGTTTACAA	TCCGGTTAGC	240
GGCGAAGTGA	TCGCGGTGAA	TCGCGGTGCC	AAGCGCAAGG	TGTTGAGCAT	CGAGGTGAAA	300
CCGACGGAC	TGAACGAATA	CGAGTCATT	CCTGTCGGGG	ATCCGTCTGC	CCTCTCTGCC	360
GAACAGATCA	AGGAGCTTTT	ACTGTCGAGC	GGTATGTGGG	GTTTTATTAA	GCAACGCTCT	420
TACGACATAG	TGGCTACACC	GGATATAGCT	CCACGCGACA	TTTATATTAC	TGCCAACTTT	480
ACTGCACCAT	TGGCTCCGGG	CTTCGATTTT	ATCGTTCGAG	GAGAAGAAGC	CGCCCTGCAG	540
ACTGCCATCG	ATGCCTTGGC	CAAACCTCAG	ACAGGAAAGG	TGTATGTGGG	CCTGAAGCCG	600
GGTTCATCTC	TGGGCTTGCA	CAATGCAGAA	ATCGTAGAAG	TACACGGACC	TCATCCGGCA	660
GGTAACCTGG	CGGTGCTGAT	CAATCATAAG	AAGCCAATCA	ATCGGGGCGA	AAUGGTGTGG	720
ACGCTCAAGG	CTACCGACCT	GATCGTGATC	GGAGGTTTCC	TGCTTACGGG	CAAAGCCGAT	780
TTTACCAGAA	TGATTTGCCAT	GACCGGCTCA	GACGCTGCAG	CTCACGGATA	CGTCCGTATT	840
ATGCCGGGTT	GCAATGTCTT	TGCTTCCTTC	CCCGCCCGAC	TGACAATAAA	GGAATCTCAC	900
GAGCGTGTGA	TCGATGGCAA	TGTGCTGACC	GSTAAGAAGC	TCTGCCGAGAA	GGAGCCTTTC	960
CTGTCAGCCC	GGTGTGACCA	GATCACGGTG	ATCCCGAAG	GCGACGATGT	GGACGAACTC	1020
TTGGGGTGGG	CTGCACCCCG	TCTCGATCAG	TACAGCATGA	GCAGAGCTTA	TTTCTCTTGG	1080
TTGCAGGGGA	AAAACAAAGA	GTACGTAICT	GATGCCCGGA	TCAAGGGTGG	CGAACGTGCT	1140
ATGATCATGA	GCAACGAGTA	TGACCGCGTT	TCCCGATGG	ACATCTATCC	GGAGTATTTG	1200
CTCAAGGCTA	TTATAGCATT	CGACATCGAC	AAGATGGAGG	ACTTAGGCAT	ATATGAAGTG	1260
GCTCCGGAGG	ACTTTGCCAC	TTGCGAATTT	GTGGATACAT	CCAAGATCGA	GCTGCAGCGT	1320
ATCGTTCGGG	AGGCTTGGG	TATGCTCTAT	AAGGAAATGA	AT		1362

(2) INFORMACIÓN PARA SEQ ID NO: 45

5 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 690 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

10 (C) CADENA: doble

(D) TOPOLOGÍA: circular

15 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN (genómico)

(iii) HIPOTÉTICO: NO

(iv) NO CODIFICANTE: NO

20 (vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) MICROORGANISMO: PORPHYROMONAS GINGIVALIS

25 (ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: característica_misc

(B) UBICACIÓN 1...690

30 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 45

ACGAATAAAA	AAGAAGAGAC	AATGAAGAAA	TCAAGTGTAG	TAGCCTCAST	TTTGCCCGTG	60
GCTCTCGTGT	TGCCCCGTTG	CGGACTGAAC	AATATGGCAA	AAGGCGGCT	TATCGGCGCC	120
GGAGTAGGAG	GTGCCATTGG	TGCCGGAGTA	GGTAACGTAG	COGGAATAC	GGCTGTGCT	180
GCCATCGTGG	GTAATGCAGT	CGGTGGAGCA	GCCGGTGTCT	TCATCGGAAA	GAAGATGGAC	240
AAGCAGAAAA	AAGAACTGGA	GGCCGCAGTA	CCCGATGCTA	CGATTGAGAC	AGTAAATGAC	300
GGAGAGGCTA	TTCTGSTTAC	TTTCGATAGC	GGTATCCTCT	TTGCCGACGA	CTCCAGCACT	360
CTGAGTCCCA	ACTCAGCCAC	TGCGCTGACG	AAGTTTGTCT	CAAACATGAA	CAAAAACCC	420
GACACGGATA	TTCGTATCGT	AGGCCATACG	GACAATACCG	GCTCCGACAA	GATCAACGAT	480
CCTCTGTCTG	AGAGACGTGC	AGCCAGCGTA	TATTCTTTCC	TGAATTCTCA	GGGTGTGAGT	540
ATGTCCCGCA	TGGCAGCCGA	AGGGCGTGGG	AGCCATGAAC	CGGTTGCAGA	CAATAGCACA	600
STTGGCCGAC	STTGGCCCAA	CCGCCGTGTG	GAGGTTTATA	TCTTGCCGAA	TGCCAAGATG	660
ATCGAACAA	CACAGCAAGG	TACGCTGAAG				690

35 (2) INFORMACIÓN PARA SEQ ID NO: 46

(1) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

- (A) LONGITUD: 1026 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- 5 (C) CADENA: doble
- (D) TOPOLOGÍA: circular
- 10 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN (genómico)
- (iii) HIPOTÉTICO: NO
- (iv) NO CODIFICANTE: NO
- 15 (vi) FUENTE ORIGINAL:
- (A) MICROORGANISMO: PORPHYROMONAS GINGIVALIS
- 20 (ix) CARACTERÍSTICA:
- (A) NOMBRE/CLAVE: característica_misc
- (B) UBICACIÓN 1...1026
- 25 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 46

```

AACAGGAACA GAAATATGTC GAAAAAATCG ATCCTTCTGC TTTGCTGTTC GCTGTGCTTC      60
ATTTCTGCTA CGAAGGCTGT GACCCCGGTC AGAAATGTGC GCAATAGCCA AGTGAACAGC     120
AAAGCAAAGA CCGAACGTAC AAAGCCCTCG GACTCTGTAC GGTACATTAG CAACATGATT     180
CCAGATCCGC TGGAGTTCCG CAACAGATT TCTTCCGAAA AAGAGGTAAG AAAAGCCGAA     240
TATGAAAAATC GGCTGGGGAT GGAAGCACTC AATTACCCCG CCATAGATTT ATATGGTGAA     300
GATTCTTGGA GCGAGTATGT AAACCCTTTC GTGGGTGCAG GAACCGATGT CGAAATTCCG     360
AATTCCTATG ACATTGATTG CTCTTCGTTT GTGATGCCCG TCGAAGATAA GCAGGTCACC     420
TCTCAATTTG GCTACCGTCG GCGTTTCGGG CCGATGCACT ATGGTATTGA TCTTTCAGTG     480
AATCGTGGGS ATACGATACG AGCAGCCTTT GACGGGAAAG TTCGGGTACG CAGCTATGAA     540
GCGGGTGGCT ATGGCTACTA CATAGTCTTG CGCCATCCGA ACGGACTGGA GACTGTGTAC     600
GGACACATGA GTCCCAATT GGTAGACGAG AATCAGATCG TTCGAGCAGG ACAACCGATC     660
GGATTAGSAG GCAGCAGGGG TCGAAGCACC GGTCCCTCATC TTCACTTCGA GACCCGCTTC     720
ATGGGTATTC CCATCAATCC GAGTACCATT ATAGACTTCG ATAACGGAGT GCCGCTCCGA     780
GACATTTACA CATTCAAACG AGGGAGCAAT TCTCGCTATG CAAAAGCCTC TAAGACTTCT     840
TCTCGCTATG CAAAAAAGG GAAGAAAGGC AGACAAGCTT CTTCTCCTAT GACCTATAGA     900
ATCAAAAAAG GCGATACTTT GGAAACAATA GCCAAAAAGG CCGGCACTTC TGTTAGAAA     960
CTCTGTGCTA CCAATGGCAT TGGCAAGAGT AAAATTTTGA CTCGGGGCAA AGCCTTGAGG     1020
ATCAAA                                     1026
    
```

- 30 (2) INFORMACIÓN PARA SEQ ID NO: 95
- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- (A) LONGITUD: 1218 pares de bases
- 35 (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) CADENA: doble
- 40 (D) TOPOLOGÍA: circular
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN (genómico)
- (iii) HIPOTÉTICO: NO
- 45 (iv) NO CODIFICANTE: NO
- (vi) FUENTE ORIGINAL:
- 50 (A) MICROORGANISMO: PORPHYROMONAS GINGIVALIS
- (ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: característica_misc

(B) UBICACIÓN 1...1218

5

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 95

ATATTCATAG	ACCCCGATAA	GAATACAAAA	CAAAACGAAC	GAAATATGAT	TATCAAGAAA	60
ATGCTGAAAA	ATAAATGGC	CCCCTTGGCC	ATACTGTTCC	TTTTTGCTCC	AAAGGCTATG	120
AAGGCTCAGG	AGCAACTGAA	TGTGGTACAC	ACCTCTGTGC	CATCGCTGAA	TATCAGTCCG	180
GATGCACGTG	CGGCCGGTAT	GGGGGATATA	GGTGTGGCAA	CGACGCCGGA	TGGGTATTCA	240
CAGTATTGGA	ATCCGAGTAA	ATATGCTTTC	ATGGATACGA	AAGCOGCTAT	TAGCTTCTCA	300
TATACACCCCT	GGCTGTCCAA	GCTGGTCAAT	GATATTGCC	TGATGCAGAT	GACCGGTTTC	360
TACAAATTGG	GAACAGACGA	GAATCAGGCT	ATTAGTGTCT	CTCTGCCTTA	TTTCACATTA	420
GGAAAGTTGG	AGACTTTCGA	CGAATTGGGC	GAATCCATGG	GAGAGGCCCA	TCCCAATGAA	480
TTTGTGTGCG	ATTTGGGCTA	TAGCCGCCAG	TTGTCCGAGA	ACTTCTCCAT	GGCTGTTGCA	540
CTGCGTTACA	TCCGCTCAGA	CCAAAGCACT	CACAACCCG	GAGAGAATCA	GGCCGGAAT	600
GCCTTTGCGG	CGGATATAGC	CGGTTATTTG	CAGAAATATG	TGCTACTGGG	TAATGCCGAG	660
AGCTTGTGGT	CGTTGGGTTT	CAACGTAAG	AATATCGGAA	CGAAGATCTC	CTATGACGGA	720
GGTGTACCGA	GTTTTTTCAT	CCCTACTTCG	TTGAATCTCG	GGACGGGGCT	GTTGTATCCG	780
ATCGATGACT	ATAACAGCAT	CAATTTCAAC	CTTGAACCTA	GCAAGCTGCT	TGTACCCACT	840
CCTCCTATCA	TGGATCAAAA	CGATCAGGCC	GGGTATGAGG	CTGCACTCAA	GAATATCAG	900
GAAACTTCIT	CGATCAGCGG	TATATTCICT	TCTTTCGGTG	ATGCGCCGGG	AGGACTCAAG	960
GAAGAATTCC	GTGAGATTAC	ATGGGGACTT	GGGGCTGAAT	ATAGCTATGA	CGATAAATT	1020
TTTGTTCGTG	CCGGATATTC	ATACCTGCAC	CCCACCAAAG	GCAATTTGCA	GTACTTCACG	1080
GCCGTTGCCG	GCTTCAAAAT	GAACATATTC	CGTATCGATG	CTTCTACCT	GTTGTCTACG	1140
ATCCAGAGTA	ATCCGTTGGA	TCAGACTCTG	CGGTTTACGC	TTGCTTTTGA	TATGGATGGA	1200
TTGCCAATT	TGTTCCAC					1218

10 (2) INFORMACIÓN PARA SEQ ID NO: 118

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 1689 pares de bases

15

(B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: doble

20

(D) TOPOLOGÍA: circular

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN (genómico)

(iii) HIPOTÉTICO: NO

25

(iv) NO CODIFICANTE: NO

(vi) FUENTE ORIGINAL:

30

(A) MICROORGANISMO: PORPHYROMONAS GINGIVALIS

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: característica_misc

35

(B) UBICACIÓN 1...1689

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 118

CATCATAAAA	CATATCAAAAC	AATGAAAAAG	CTTTTACAGG	CTAAAGCCTT	GATTCTGGCA	60
TTGGGACTCT	TCCAACCTGCC	CGCAATCGCC	CAAACGCAAA	TGCAAGCAGA	CGGAACAAAC	120
GGTCAATTTG	CAACAGAAAG	GATGCAACGA	GCATTCCAGG	AAACGAATCC	CCCTGCAGGT	180
CCTGTGGGTG	CTATCGCTGA	GTACGAACGC	TCTGCAGCCG	TTTTGGTACG	CTACCCGTTG	240
GGTATCCCGA	TGGAATTGAT	CAAAGAGCTG	GCCAAGAACG	ACAAGGTGAT	TACCATTGTG	300
GCGAGTGAAA	GCCAAAATAA	CACCGTTATA	ACCCAGTACA	CCCAAAGCGG	TGTGAATCTC	360
TCTAATTGCG	ATTTCTATCAT	TGCGAAAACCT	GACTCTTACT	GGACACGCGA	CTATACCCGT	420
TGGTTGCGCA	TGTACGATAC	GAACAAAGTA	GGTCTCGTGG	ACTTTATTTA	TAACCGCCCT	480
CGTCCCTAACG	ATGATGAATT	CCCCAAATAC	GAAGCACAAT	ATCTGGGCAT	CGAGATGTTC	540
GGGATGAAGC	TCAAGCAGAC	CGGTGGCAAC	TACATGAACG	ACGGATATGG	ATCCGCTGTG	600
CAGTCACATA	TGCGATATAC	GGAGAACTCC	TCTCTGTCTC	AAGCTCAAGT	AAATCAAAAG	660

40

ES 2 419 664 T3

ATGAAAGACT	ATCTGGGCAT	CACACATCAT	GATGCGGTAC	AAGATCCGAA	CGGCGAATAT	720
ATCAACCATG	TGGACTGTTG	GGGCAAGTAT	TTGGCACCGA	ACAAAATCCT	CATCAGGAAA	780
GTGCCTGACA	ATCACCCCTCA	GCACCAAGCC	CTGGAAGATA	TGGCAGCCTA	CTTCGCAGCA	840
CAGACCTGGC	CATGGGGAAC	GAAGTACGAG	GTATATGGCG	CTTTGGCCAC	CAATGAACAA	900
CCGTACACGA	ACTCTCTGAT	TCTGAACAAC	AGGGTATTTG	TTCTGTCAA	TGGCCCCGCC	960
TCCGTGGACA	ACGATGCTCT	GAACGTCTAT	AAGACGGCAA	TGCCCGGTTA	CGAAATTATA	1020
GGTGTCAAAG	GGGCTTCAGG	AACACCTTGG	TTAGGAACAG	ATGCCCTGCA	TTGTCTACT	1080
CACGAGBTAG	CGSATAAGGG	CTATCTCTAT	ATCAAGCACT	ACCCGATACT	GGGCGAACAG	1140
GCAGGCCCTG	ATTATAAGAT	CGAAGCAGAT	GTCGTCTCAT	GCGCCAATGC	TACTATCTCG	1200
CCGTAGCAAT	GTTAATAATCG	TATCAATGGT	TCCGTAGCT	TTAAGGCTGC	TGATATGAG	1260
ATGGAATCAA	CAGGTCACATA	TACTTATAGC	TTTACAGGTC	TTAACAAGAA	TGATAAGGTA	1320
GAATACTATA	TCTCTGCGCG	TGACAATAGT	GGTCGCAAAG	AGACTTATCC	CTTTATCGGC	1380
GAACCTGATC	CTTTCAAGTT	TACGTGTATG	AACGAAACCA	ATACATGTAC	TGTGACCGGA	1440
GCTGCCAAAG	CTCTTCTGTC	ATGGTTCAAC	GCCGTTGTT	CAGAAGTGGC	TGTTTCGGTA	1500
AGTTTGAATA	TTGCCGGCAC	ATATCGGATA	AAGCTTTATA	ACACCCGAGG	AGAAGAAGTC	1560
GCTGCAATSA	CCAAGGAATT	AGTAGCAGGG	ACGAGTGTCT	TCAGTATGGA	TGTGTATTCT	1620
CAGGCTCCGG	GCACATATGT	TCTGTTTCTT	GAAGGAAATG	GAATCCGTGA	GACAATGAAA	1680
ATTCTCAA						1689

(2) INFORMACIÓN PARA SEQ ID NO: 119

5 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 1311 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

10

(C) CADENA: doble

(D) TOPOLOGÍA: circular

15 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN (genómico)

(iii) HIPOTÉTICO: NO

(iv) NO CODIFICANTE: NO

20

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) MICROORGANISMO: PORPHYROMONAS GINGIVALIS

25 (ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: característica_misc

(B) UBICACIÓN 1...1311

30

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 119

ACCACAAATA	GAANAACAAA	TACTAATATG	AAACTTTCAT	CTAAGAAAAT	CTTAGCAATC	60
ATTGCATTGC	TGACGATGGG	ACATGCTGTG	CAGGCACAGT	TTGTTCCGGC	TCCCACCACA	120
GGGATTCGCA	TGCTGTCCAC	TACAACCAAG	GCCGTAGGGC	AAAAATCGA	ATTGTTGGTT	180
CATTCCTATG	AGAAGAAAGG	CATCTGGATC	GATCTCAATG	GGGATGCCAC	TTACCAACAA	240
GGAGAGGAAA	TAACCGTATT	CGATGAGGCA	TACCACGAAT	ACACGATCGG	GACGCAAAAC	300
CTCACTATCT	ATGGTAATAC	GACCCGATTG	GGCTGTGAT	CTACCCGGTC	AACGGTGTTC	360
GATGTAAGCA	AAAACCCFAA	TCTGACCTAT	CTCCGATGCC	CGAAAAATAA	TCTGAATCA	420
TTGGACTTGA	CGCAAAACCC	AAAGCTGCTG	CGAGTTTGGT	GCGACTCTAA	CGAAATAGAA	480
AGTTTGGACC	TGAGTGGCAA	TCCGGCTTTG	ATCATCTCTG	GCTGTGACAG	GAATAAGCTG	540
ACTGAGCTGA	AGACCGATAA	CAACCCCAAG	TTGGCTCTC	TTTGGTGTTC	TGATAATAAC	600
CTGACGGAGT	TGGAACTCAG	TGCCAATCCT	CGTCTCAATG	ATCTTTGGTG	CTTCGGTAAT	660
CGGATCAGCA	AACCTGATCT	GAGTGCCAAAT	CCTCTATTGG	TAACACTTTG	GTGCAGTGAC	720
AATGAGCTTT	CGACCTTGGG	TCTTTCCAAG	AATTTGGAGC	TTGCTTACCT	TTGGTGTTC	780
TGCAACAAC	TTACATCCTT	GAATCTGTGG	GGGGTGAAGG	GACTGAGTGT	TTTGGTTTGT	840
CATTCCTATG	AGATCGCAGG	TGAAGAAATG	ACGAAAGTGG	TGAATGCTTT	GCCCACACTA	900
TCTCCCGGCG	CAGGCGCTCA	GAGCAAGTTC	GTGTTGTAG	ACCTCAAGGA	CAGTGTGAG	960
AAGAATATCT	GTACCGTAAA	GGATGTGGAA	AAAGCTAAAA	GTAAGAATCG	GCGAGTATTT	1020
GACTTCAACG	GTGATTCTGA	CAATATGCTT	CCATACGAAG	GAAGTCCGAC	ATCGAACTTG	1080
GCAGTAGATG	CTCCCACTGT	CAGGATATAT	CCCAATCCGG	TAGGAAGATA	TGCGCTCGTC	1140
GAGATCCCGG	AGTCTCTTTT	AGGGCAGGAA	GCTGCTTTAT	ACGATATGAA	TGGGGTAAAA	1200
GTCTATAGTT	TCCCGSTAGA	GTCTCTTCGT	CAGAACATTTG	ACCTGACACA	TCTTCCCGAC	1260
GGCACTTATT	TCTTCGGTCT	CGATAACTAT	ACCACAAAGC	TCATCAAACA	G	1311

(2) INFORMACIÓN PARA SEQ ID NO: 122

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

5

(A) LONGITUD: 1353 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

10

(C) CADENA: doble

(D) TOPOLOGÍA: circular

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN (genómico)

15

(iii) HIPOTÉTICO: NO

(iv) NO CODIFICANTE: NO

20

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) MICROORGANISMO: PORPHYROMONAS GINGIVALIS

(ix) CARACTERÍSTICA:

25

(A) NOMBRE/CLAVE: característica_misc

(B) UBICACIÓN 1...1353

30

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 122

```

ATGGCAAAG TTATAAAAAC AAAAAAAGGC CTTGCACTTA ATCTGAAAGG AAAACCGCTG      60
CCCGAGATGC TGGCCGAACC GGCCCAAAGT CCTACTTACG CGGTGCGTGC CGACGATTTT      120
GAAGGTGTTA TCCCCAAAGT GACGGCTCGT CCGGGGGATA AGGTGCGTGC CGGCTCAGCA      180
CTGATGCACC ACAAGGCATA TCCGGAGATG AAGTTTACAA GTCCGGTTAG CGGCGAAGTG      240
ATCGCGGTGA ATCGCGGTGC CAAGCGCAAG GTGTGAGCA TCGAGGTGAA ACCGGACGGA      300
CTGAACGAAT ACGAGTCATT CCCTGTCGGG GATCCGTCIG CCTCTCTGCG CGAACAGATC      360
AAGGAGCTTT TACTGTCCAG CGGTATGTGG GGTTTTATTA AGCAACGTCC TTACGACATA      420
GTGGGTACAC CGGATATAGC TCCACGCGAC ATTTATATTA CTGCCAACTT TACTGCACCA      480
TTGGCTCCGG ACTTCGATTT CATCGTTCGA GGAGAAGAAC GCGCCCTGCA GACTGCCATC      540
GATGCCITGG CCAAACTCAC GACAGGAAAG GTGTATGTGG GCCTGAAGCC GGGTTCATCT      600
CTGGGCTTGC ACAATGCAGA AATCGTAGAA GTACACGSAC CTCATCCGGC AGGTAACGTG      660
GGCGTGTGA TCAATCATAC GAAGCCAATC AATCGGGGGG AAACGGTGTG GACGCTCAAG      720
GCTACCGACC TGATCGTGAT CGGACGTTTC CTGCTTACGG GCAAAGCCGA TTTTACCAGA      780
ATGATTGCCA TGACCGGCTC AGACGCTGCA GCTCACGGAT ACGTCCGTAT TATGCCGGGT      840
TGCAATGTCT TTGCTTCCTT CCCC GGCCGA CTGACAATAA AGGAATCTCA CGAGCSTGTS      900
ATCGATGGCA ATGTGCTGAC CGGTAAGAAG CTCCTGCGAGA AGGAGCCTTT CCTGTGAGCC      960
CGGTGTGACC AGATCAOGST GATCCCCGAA GCGGACGATG TGGACGAACT CTTCGGGTGG      1020
GCTGCACCCC GTCTCGATCA GTACAGCATG AGCAGAGCTT ATTICTCTTG GTTGCAAGGG      1080
AAAAACAAG ASTACGTAAT CGATGCCCGG ATCAAGGOTG GCGAACGTGC TATGATCATG      1140
AGCAACGAGT ATGACCGCGT TTTCCCGATG GACATCTATC CCGAGTATTI GCTCAAGGCT      1200
ATTATAGCAT TCGACATCGA CAAGATGGAG GACTTAGGCA TATATGAAGT GGTCCGGAG      1260
GACTTTGCCA CTTGCGAATT TGTGGATACA TCCAAGATCG AGTGCAGCG TATGCTTCGC      1320
GAGGGCTTGG ATATGCTCTA TAAGGAAATG AAT
    
```

(2) INFORMACIÓN PARA SEQ ID NO: 170

35

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 669 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

40

(C) CADENA: doble

(D) TOPOLOGÍA: circular

45

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN (genómico)

(iii) HIPOTÉTICO: NO

(iv) NO CODIFICANTE: NO

(vi) FUENTE ORIGINAL:

5 (A) MICROORGANISMO: PORPHYROMONAS GINGIVALIS

(ix) CARACTERÍSTICA:

10 (A) NOMBRE/CLAVE: característica_misc

(B) UBICACIÓN 1...669

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 170

15

ATGAAGAAAT	CAAGTGTAGT	AGCCTCAGTT	TTGGCCGTGG	CTCTCGTGT	CGCCGGTTCC	60
GGACTGAACA	ATATGGCAA	AGGCGGCCTT	ATGGGCGCG	GAGTAGGAGG	TGCCATTGGT	120
GCCGGAGTAG	GTAACGTAGC	CGGAAATACG	GCTGTCCGTT	CCATCGTCGG	TACTGCAGTC	180
GGTGGAGCAG	CCGTGCTCT	CATCGGAAAG	AAGATGGACA	AGCAGAAAA	AGAACTGGAG	240
GCCGCAGTAC	CCGATGCTAC	GATTCAGACA	GTAAATGACG	GAGAGGCTAT	TCTGGTFACT	300
TTGGATAGCG	GTATCCTCTT	TGCGACGAAC	TCCAGCACTC	TGAGTCCCAA	CTCACGCACT	360
GCGCTGACGA	AGTTTCTG	AAACATGAAC	AAAAACCCCG	ACACGGATAT	TCGTATCGTA	420
GGCCATACGG	ACAATACCGG	CTCCGACAAG	ATCAACGATC	CTCTGTCTGA	GAGACGTGCA	480
GCCAGCGTAT	ATTETTCTCT	GAATTCTCAG	GGTGTGAGTA	TGTCCCGCAT	GGCAGCCGAA	540
GGGCGTGGGA	GCCATGAACC	GGTTGCAGAC	AATAGCACAG	TTGCCGGACG	TTCGGCCAAC	600
CGCCGTGTGG	AGGTTTATAT	CTTGCCGAAT	GCCAAGATGA	TGGAACAAGC	ACAGCAAGGT	660
ACGCTGAAG						669

20 (2) INFORMACIÓN PARA SEQ ID NO: 171

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 1011 pares de bases

25 (B) TIPO: ácido nucleico

(C) CADENA: doble

30 (D) TOPOLOGÍA: circular

(11) TIPO DE MOLÉCULA: ADN (genómico)

(iii) HIPOTÉTICO: NO

35 (iv) NO CODIFICANTE: NO

(vi) FUENTE ORIGINAL:

40 (A) MICROORGANISMO: PORPHYROMONAS GINGIVALIS

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: característica_misc

45 (B) UBICACIÓN 1...1311

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 171

ES 2 419 664 T3

ATGTCGAAAA	AATCGATCCT	TCTGCTTTGC	TGTTGCGTGT	GCTTCATTTT	TGCTACGAAG	60
GCTGTGACCC	CCGTGAGAAA	TGTGCGCAAT	AGCCRAAGTGA	ACAGCAAAGC	AAAGACCGAA	120
CGTACAAAGC	CCTCGGACTC	TGTACGGTAC	ATTAGCAACA	TGATTGCAGA	TCGGCTGGAG	180
TTCCGCAACA	AGATTCTTTC	CGAAAAAGAG	GTAAASAAAAG	CGGAATATGA	AAATCGGCTG	240
GCGATGGAAG	CACCTCAATTA	CCCTGCCATA	GATTTATATG	GTGAAGATTTC	TTGGAGCGAG	300
TATGTAAACC	CTTTGCTGGG	TGCAGGAACC	GATGTGAAA	TFCCGAACTC	CTATGACA'TT	360
GATTGCTCTT	CGTTCGTGAT	GCCCCTCGAA	GATAAGCAGG	TCACCTCTCA	ATTTGGCTAC	420
CGTCGSCSTT	TCGGACGGAT	SCACTATGGT	ATTGATCTTT	CAGTGAATCG	TGGCGATACG	480
ATACGAGCAG	CCTTTGACGG	GAAAGTTCTG	GTACGCAGCT	ATGAAGCGCG	TGGCTATGGC	540
TACTACATAG	TCTTGCSCCA	TCCGAACGGA	CTGGAGACTG	TGTACGGACA	CATGAGTCCG	600
CAATTGCTAG	ACGAGAATCA	GATCGTTTCA	GCAGSACAAC	CGATCGGATT	AGGAGGACAGC	660
ACGGGTCGAA	GCACCGGTC	TCATCTTAC	TTCGAGACCC	GCTTCATGGG	TATCCCATC	720
AATCCGASTA	CCATTATAGA	CTTCGATAAC	GGAGTGCCGC	TCCGAGACAT	TTACACATTC	780
AAACGAGGGA	GCAATTCTCG	CTATGCAAAA	GCCTTAAGA	CTTCTTCTCG	CTATGCAAAA	840
AAAGGGAAGA	AAGGCAGACA	AGCTTCTTCT	CCTATGACCT	ATAGAATCAA	AAAAGGCGAT	900
ACTTTGGAAA	CAATAGCCAA	AAGGCACGGC	ACTTCTGTTT	AGAAACTCTG	TGCTACCAAT	960
GGCATTTGGCA	AGAGTAAAT	TTTGACTCCG	GGCAAAGCCT	TGAGGATCAA	A	1011

(2) INFORMACIÓN PARA SEQ ID NO: 229

5 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 1173 pares de bases

(B) TIPO: ácido nucleico

10

(C) CADENA: doble

(D) TOPOLOGÍA: circular

15 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN (genómico)

(iii) HIPOTÉTICO: NO

(iv) NO CODIFICANTE: NO

20

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) MICROORGANISMO: PORPHYROMONAS GINGIVALIS

25 (ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: característica_misc

(B) UBICACIÓN 1...1173

30

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 229

ATGATTATCA	AGAAAAATGCT	GAAAAATAAA	TTGGCCCCCT	TGGCCATACT	GTTCCITTTT	60
GCTCCAAAGG	CTATGAAGC	TCAGGAGCAA	CTGAA'TGTGG	TACACACCTC	TGTCCATCG	120
CTGAATATCA	GTCCGGATGC	ACGTGCGGCC	GGTATGGGGG	ATATAGGTGT	GGCAACGACG	180
CCGGATGCGT	ATTACACAGTA	TTGGAA'TCCG	AGTAAATATG	CTTTTATGGA	TACGAAAGCC	240
GGTATTAGCT	TCATCATATAC	ACCCTGGCTG	TCCAAGCTGG	TCAATGATAT	TGCCCTGATG	300
CAGATGACCG	GTTTCTACAA	ATTGGGAACA	GACGAGAATC	AGGCTATTAG	TGCTTCTCTG	360
CGTTATTTC	CATTAGGAAA	GTTGGAGACT	TTCGACCAAT	TGGGCCAATC	CATGGGAGAG	420
GCCCATCCCA	ATGAATTTGC	TGTCGATTG	GGCTATAGCC	GCCAGTTGTC	GGAGAACTTC	480
TCCATGGCTG	TTGCACTGCG	TTACATCCGC	TCAGACCAA	GCCTCACAA	CACCGGAGAG	540
AATCAGGCCG	GAAATGCC'TT	TGCGGCGGAT	ATAGCCGGTT	ATTTGCAGAA	GTATGTGCTA	600
CTGGGTAATG	CGGAGAGCTT	GTGGTCTGTT	GGTTTCAACG	TAAAGAATAT	CGGAACGAAG	660
ATCTCCATAG	ACGGAGGTGT	CACGAGTTTT	TTCATCCCTA	CTTCGTTGAA	TCTCGGGACG	720
GGGCTGTTGT	ATCCGATCGA	TGACTATAAC	AGCATCAATT	TCAACCTTGA	ACTTAGCAAG	780
CTGCTTGTAC	CCACTCCTCC	TATCATGGAT	CAAAACGATC	AGGCCGGGTA	TGAGGCTGCA	840
CTCAAGAAAT	ATCAGGAAAC	TTCTTCGATC	AGCGGTATAT	TCTTCTTCTT	CGGTGATGCG	900
CCGGGAGGAC	TCAAGGAAGA	ATTCCGTGAG	ATTACATGGG	GACTTGGGGC	TGAATATAGC	960
TATGACGATA	AATTTTTTGT	TGCTGCCGGA	TATTCATACC	TGCACCCAC	CAAAGGCAAT	1020
TTCCAGTACT	TCACGGCCGG	TGCCGGCTTC	AAAATGAACA	TATTCGGTAT	CGATGCTTCC	1080
TACCTGTTGT	CTACGATCCA	GAGTAATCCG	TTGGATCAGA	CTCTGCGGTT	TACGCTTGCT	1140
TTGATATGG	ATGGATTGCG	CAATTTGTTT	CAC			1173

35 (2) INFORMACIÓN PARA SEQ ID NO: 261

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

ES 2 419 664 T3

- (A) LONGITUD: 1668 pares de bases
- (B) TIPO: ácido nucleico
- 5 (C) CADENA: doble
- (D) TOPOLOGÍA: circular
- 10 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN (genómico)
- (iii) HIPOTÉTICO: NO
- (iv) NO CODIFICANTE: NO
- 15 (vi) FUENTE ORIGINAL:
- (A) MICROORGANISMO: PORPHYROMONAS GINGIVALIS
- 20 (ix) CARACTERÍSTICA:
- (A) NOMBRE/CLAVE: característica_misc
- (B) UBICACIÓN 1...1668
- 25 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 261

```

ATGAAAAAGC TTTTACAGGC TAAAGCCTTG ATTCTGGCAT TGGGACTCTT CCAACTGCC 60
GCAATCGCCC AAACGCAAAT GCAAGCAGAC CGAACAAACG GTCAATTTGC AACAGAAGAG 120
ATGCAAGGAG CATTCAGGA AACGAATCCC CCTGCGAGTC CTGTGCGTGC TATCGCTGAG 180
TACGAACGCT CTSCAGCCGT TTTGGTACGC TACCCGTTGG STATCCCGAT GGAATTGATC 240
AAAGAGCTGG CCAAGAACGA CAAGGTGATT ACCATTGTGG CGAGTGAAAG CCAAAAAAAC 300
ACCGTTATAA CCCAGTACAC CCAAGCGGT GTGAATCTCT CTAATTGCGA TTTTCATCATT 360
GCGAAAAC TGACTTACTG GACACGCGAC TATACCGGTT GGTTCGCAAT GTACGATACG 420
AACAAAGTAG GTCTCGTGGC CTTTATTTAT AACCGCCCTC GTCTAACGA TGATGAATTC 480
CCCAATACG AAGCACAATA TCTGGGCATC GAGATGTTGG GGATGAAGCT CAAGCAGACC 540
GGTGGCAACT ACATGACGGA CGGATATGGA TCCGCTGTGC AGTCACATAT CGCATATACG 600
GAGAACTCCT CTCGTCTCA ASCICAAGTA AATCAAAAGA TGAAGACTA TCTGGGCATC 660
ACACATCATG ATGTGGTACA AGATCCGAAC GCGGAATATA TCAACCATGT GGACTGTTGG 720
GGCAAGTATT TGGCACCGAA CAAATCCTC ATCAGGAAAG TGCTGACAA TCACCCTCAG 780
CACCAAGCCC TGGAAGATAT GGCAGCCTAC TTCGAGCAC AGCCTGCCG ATGGGGAAAG 840
AAGTACGAGG TATATCGCGC TTTGGCCACC AATGAACAAC CGTACACGAA CTCTCTGATT 900
CTGAACAACA GGGTATTTGT TCCTGTCAAT GGCCCCGCT CGTGGACAA CGATGCTCTG 960
AACGTCTATA AGACGGCAAT GCCCGGTTAC GAAATTATAG GTGTCAAAGG GGCTTCAGGA 1020
ACACCTTGGT TAGGAACAGA TGCCCTGCAT TGTCGTACTC ACAGGCTAGC GGATAAGGGC 1080
TATCTCTATA TCAAGCACTA CCCGATACTG GCGGAACAGS CAGGCCCTGA TTATAAGATC 1140
GAAGCAGATG TCGTCTCATG CGCCAATGCT ACTATCTGCG CGGTACAATG TTTACTATCGT 1200
ATCAATGGTT CCGGTAGCTT TAAGGCTGCT GATATGACGA TGGAAATCAAC AGGTCACTAT 1260
ACTTATAGCT TTACAGGCTT TAACAAGAAT GATAAGGTAG AATACTATAT CTCTGCGCT 1320
GACAATAGTG GTCCGAAAGA GACTTATCCC TTTATCGGCG AACCTGATCC TTTCAAGTTT 1380
ACGTGTATGA ACGAAACCAA TACATGTACT GTGACCGGAG CTGCCAAAGC TCTTCGTGCA 1440
TGGTTCAACG CCGSTCGTTC AGAAGTGGCT GTTGGGTAA GTTTGAATAT TGCCGGCACA 1500
TATCGGATAA AGCTTTATAA CACCGCAGGA GAAGAAGTCG CTGCAATGAC CARGGAATTA 1560
GTAGCAGGGA CGAGTGTCTT CAGTATGGAT GTGTATTCTC AGGCTCCGGG CACATATGTT 1620
CTGGTTGTGG AAGGAAATGG AATCCGTGAG ACAATGAAA TTCTCAA 1668

```

- 30 (2) INFORMACIÓN PARA SEQ ID NO: 262
- (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:
- (A) LONGITUD: 1284 pares de bases
- 35 (B) TIPO: ácido nucleico
- (C) CADENA: doble
- 40 (D) TOPOLOGÍA: circular
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: ADN (genómico)

(iii) HIPOTÉTICO: NO

(iv) NO CODIFICANTE: NO

5 (vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) MICROORGANISMO: PORPHYROMONAS GINGIVALIS

(ix) CARACTERÍSTICA:

10

(A) NOMBRE/CLAVE: característica_misc

(B) UBICACIÓN 1...1284

15 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 662

ATGAAACTTT	CATCTAAGAA	AATCTTAGCA	ATCATTGCAT	TGCTGACGAT	GGGACATGCT	60
GTGCAAGCAC	AGTTTGTTC	GGCTCCCACC	ACAGGGATTC	GCATGTCTGT	CACTACAACC	120
AAGGCCGTAG	GCGAAAAAT	CGAATGTGTG	GTTCATTCCA	TAGAGAAGAA	AGGCATCTGG	180
ATCGATCTCA	ATGSSGATGC	CACTTACCAA	CAAGGAGAGG	AAATAACCGT	ATTGATGAG	240
GCATACCACG	AATACACGAT	CGGGACGCAA	ACCCTCACTA	TCTATGGTAA	TACGACCCGA	300
TTGGGCTGTC	GATCTACCGG	TGCAACGGCT	GTGATGTAA	CGAAAAACCC	TAATCTGACC	360
TATCTGCGCAT	GCCCGAAAAA	TAATCTGAAA	TCATTGGACT	TGACGCAAAA	CCCAAAGCTG	420
CTGGGAGTTT	GGTGGGACTC	TAAGGAAATA	GAAAGTTTGG	ACCTGAGTGG	CAATCCGGCT	480
TTGATCATCC	TCGGCTGTGA	CAGGAATAAG	CTGACTGAGC	TGAAGACCGA	TAACAACCCG	540
AAGTTGGCCT	CTCTTGGTGG	TTCTGATAAT	AACCTGACGG	AGTTGGAACT	CAGTGCCAAT	600
CCTCGTCTCA	ATGATCTTTG	GTGCTTCGGT	AATCGGATCA	CGAAACTCGA	TCTGAGTGCC	660
AATCCTCTAT	TGGTAACACT	TTGGTGCAGT	GACAATGAGC	TTTCGACCTT	GGATCTTCC	720
AAGAAITCGG	ACGTTGCTTA	CCTTTGGTGT	TCATCGAACA	AACCTACATC	CTTGAATCTG	780
TCGGGGGTGA	AGGGACTGAG	TGTTTGGSTT	TGTCATTCCA	ATCAGATCGC	AGGTGAAGAA	840
ATGACGAAAG	TGGTGAATGC	TTTGCCACA	CTATCTCCCG	GCGCAGGCGC	TCAGAGCAAG	900
TTCTGCTGTTG	TAGACCTCAA	GGACACTGAT	GAGAAGAATA	TCTGTACCGT	AAAGSATGTG	960
GAAAAAGCTA	AAAGTAAGAA	CTGGCGAGTA	TTTACTTCA	ACGSGATTTC	TGACAATATG	1020
CTTCCATAAG	AAGGAAGTCC	GACATCGAAC	TTGGCAGTAG	ATGCTCCCAC	TGTCAGGATA	1080
TATCCCAATC	CGGTAGGAAG	ATATGCGCTC	GTGAGATCC	CGGAGTCTCT	TTTAGGGCAG	1140
GAAGCTGCTT	TATACGATAT	GAATGGGGTA	AAAGTCTATA	GTTTCGGCGT	AGAGTCTCTT	1200
CGTCAGAACA	TTGACCTGAC	ACATCTTCCC	GACGGCACTT	ATTTCTTCCG	TCTCGATAAC	1260
TATACCACTA	AGCTCATCAA	ACAG				1284

(2) INFORMACIÓN PARA SEQ ID NO: 265

20

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 454 aminoácidos

25

(B) TIPO: aminoácido

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: proteína

30

(iii) HIPOTÉTICO: SÍ

(vi) FUENTE ORIGINAL:

35

(A) MICROORGANISMO: Porphyromonas gingivalis

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: característica_misc

40

(B) UBICACIÓN 1...454

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 265

ES 2 419 664 T3

Phe Cys Val Met Ala Lys Val Ile Lys Thr Lys Lys Gly Leu Ala Leu
 1 5 10 15
 Asn Leu Lys Gly Lys Pro Leu Pro Glu Met Leu Ala Glu Pro Ala Gln
 20 25 30
 Ser Pro Thr Tyr Ala Val Val Pro Asp Asp Phe Glu Gly Val Ile Pro
 35 40 45
 Lys Val Thr Ala Arg Pro Gly Asp Lys Val Arg Ala Gly Ser Ala Leu
 50 55 60
 Met His His Lys Ala Tyr Pro Glu Met Lys Phe Thr Ser Pro Val Ser
 65 70 75 80
 Gly Glu Val Ile Ala Val Asn Arg Gly Ala Lys Arg Lys Val Leu Ser
 85 90 95
 Ile Glu Val Lys Pro Asp Gly Leu Asn Glu Tyr Glu Ser Phe Pro Val
 100 105 110
 Gly Asp Pro Ser Ala Leu Ser Ala Glu Gln Ile Lys Glu Leu Leu Leu
 115 120 125
 Ser Ser Gly Met Trp Gly Phe Ile Lys Gln Arg Pro Tyr Asp Ile Val
 130 135 140
 Ala Thr Pro Asp Ile Ala Pro Arg Asp Ile Tyr Ile Thr Ala Asn Phe
 145 150 155 160
 Thr Ala Pro Leu Ala Pro Asp Phe Asp Phe Ile Val Arg Gly Glu Glu
 165 170 175
 Arg Ala Leu Gln Thr Ala Ile Asp Ala Leu Ala Lys Leu Thr Thr Gly
 180 185 190
 Lys Val Tyr Val Gly Leu Lys Pro Gly Ser Ser Leu Gly Leu His Asn
 195 200 205
 Ala Glu Ile Val Glu Val His Gly Pro His Pro Ala Gly Asn Val Gly
 210 215 220
 Val Leu Ile Asn His Thr Lys Pro Ile Asn Arg Gly Glu Thr Val Trp
 225 230 235 240
 Thr Leu Lys Ala Thr Asp Leu Ile Val Ile Gly Arg Phe Leu Leu Thr
 245 250 255
 Gly Lys Ala Asp Phe Thr Arg Met Ile Ala Met Thr Gly Ser Asp Ala
 260 265 270
 Ala Ala His Gly Tyr Val Arg Ile Met Pro Gly Cys Asn Val Phe Ala
 275 280 285
 Ser Phe Pro Gly Arg Leu Thr Ile Lys Glu Ser His Glu Arg Val Ile
 290 295 300
 Asp Gly Asn Val Leu Thr Gly Lys Lys Leu Cys Glu Lys Glu Pro Phe
 305 310 315 320
 Leu Ser Ala Arg Cys Asp Gln Ile Thr Val Ile Pro Glu Gly Asp Asp
 325 330 335
 Val Asp Glu Leu Phe Gly Trp Ala Ala Pro Arg Leu Asp Gln Tyr Ser
 340 345 350
 Met Ser Arg Ala Tyr Phe Ser Trp Leu Gln Gly Lys Asn Lys Glu Tyr
 355 360 365
 Val Leu Asp Ala Arg Ile Lys Gly Gly Glu Arg Ala Met Ile Met Ser
 370 375 380
 Asn Glu Tyr Asp Arg Val Phe Pro Met Asp Ile Tyr Pro Glu Tyr Leu
 385 390 395 400
 Leu Lys Ala Ile Ile Ala Phe Asp Ile Asp Lys Met Glu Asp Leu Gly
 405 410 415
 Ile Tyr Glu Val Ala Pro Glu Asp Phe Ala Thr Cys Glu Phe Val Asp
 420 425 430
 Thr Ser Lys Ile Glu Leu Gln Arg Ile Val Arg Glu Gly Leu Asp Met
 435 440 445
 Leu Tyr Lys Glu Met Asn
 450

(2) INFORMACIÓN PARA SEQ ID NO: 309

5

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 230 aminoácidos

10 (B) TIPO: aminoácido

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: proteína

(iii) HIPOTÉTICO: SÍ

5 (vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) MICROORGANISMO: Porphyromonas gingivalis

(ix) CARACTERÍSTICA:

10 (A) NOMBRE/CLAVE: característica_misc

(B) UBICACIÓN 1...230

15 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 309

```

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

130 135 140
Arg Ile Val Gly His Thr Asp Asn Thr Gly Ser Asp Lys Ile Asn Asp
145 150 155 160
Pro Leu Ser Glu Arg Arg Ala Ala Ser Val Tyr Ser Phe Leu Asn Ser
165 170 175
Gln Gly Val Ser Met Ser Arg Met Ala Ala Glu Gly Arg Gly Ser His
180 185 190
Glu Pro Val Ala Asp Asn Ser Thr Val Ala Gly Arg Ser Ala Asn Arg
195 200 205
Arg Val Glu Val Tyr Ile Leu Pro Asn Ala Lys Met Ile Glu Gln Ala
210 215 220
Gln Gln Gly Thr Leu Lys
225 230

```

20 (2) INFORMACIÓN PARA SEQ ID NO: 310

(1) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

25 (A) LONGITUD: 342 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

(D) TOPOLOGÍA: lineal

30 (ii) TIPO DE MOLÉCULA: proteína

(iii) HIPOTÉTICO: SÍ

35 (vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) MICROORGANISMO: Porphyromonas gingivalis

(ix) CARACTERÍSTICA:

40

(A) NOMBRE/CLAVE: característica_misc

(B) UBICACIÓN 1...342

5 (xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 310

```

Asn Arg Asn Arg Asn Met Ser Lys Lys Ser Ile Leu Leu Leu Cys Cys
1      5      10      15
Ser Lou Cys Phe Ile Ser Ala Thr Lys Ala Val Thr Pro Val Arg Asn
20      25      30
Val Arg Asn Ser Gln Val Asn Ser Lys Ala Lys Thr Glu Arg Thr Lys
35      40      45
Pro Ser Asp Ser Val Arg Tyr Ile Ser Asn Met Ile Ala Asp Arg Leu
50      55      60
Glu Phe Arg Asn Lys Ile Ser Ser Glu Lys Glu Val Arg Lys Ala Glu
65      70      75      80
Tyr Glu Asn Arg Leu Ala Met Glu Ala Leu Asn Tyr Pro Ala Ile Asp
85      90      95
Leu Tyr Gly Glu Asp Ser Trp Ser Glu Tyr Val Asn Pro Phe Val Gly
100     105     110
Ala Gly Thr Asp Val Glu Ile Pro Asn Ser Tyr Asp Ile Asp Cys Ser
115     120     125
Ser Phe Val Met Pro Val Glu Asp Lys Gln Val Thr Ser Gln Phe Gly
130     135     140
Tyr Arg Arg Arg Phe Gly Arg Met His Tyr Gly Ile Asp Leu Ser Val
145     150     155     160
Asn Arg Gly Asp Thr Ile Arg Ala Ala Phe Asp Gly Lys Val Arg Val
165     170     175
Arg Ser Tyr Glu Ala Arg Gly Tyr Gly Tyr Tyr Ile Val Leu Arg His
180     185     190
Pro Asn Gly Leu Glu Thr Val Tyr Gly His Met Ser Arg Gln Leu Val
195     200     205
Asp Glu Asn Gln Ile Val Arg Ala Gly Gln Pro Ile Gly Leu Gly Gly
210     215     220
Ser Thr Gly Arg Ser Thr Gly Pro His Leu His Phe Glu Thr Arg Phe
225     230     235     240
Met Gly Ile Pro Ile Asn Pro Ser Thr Ile Ile Asp Phe Asp Asn Gly
245     250     255
Val Pro Leu Arg Asp Ile Tyr Thr Phe Lys Arg Gly Ser Asn Ser Arg
260     265     270
Tyr Ala Lys Ala Ser Lys Thr Ser Ser Arg Tyr Ala Lys Lys Gly Lys
275     280     285
Lys Gly Arg Gln Ala Ser Ser Pro Met Thr Tyr Arg Ile Lys Lys Gly
290     295     300
Asp Thr Leu Glu Thr Ile Ala Lys Arg His Gly Thr Ser Val Gln Lys
305     310     315     320
Leu Cys Ala Thr Asn Gly Ile Gly Lys Ser Lys Ile Leu Thr Pro Gly
325     330     335
Lys Ala Leu Arg Ile Lys
340
    
```

(2) INFORMACIÓN PARA SEQ ID NO: 359

10

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 406 aminoácidos

15

(B) TIPO: aminoácido

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: proteína

20

(iii) HIPOTÉTICO: SÍ

(vi) FUENTE ORIGINAL:

25

(A) MICROORGANISMO: Porphyromonas gingivalis

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: característica_misc

(B) UBICACIÓN 1...406

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 359

5

Ile	Phe	Ile	Asp	Pro	Asp	Lys	Asn	Thr	Lys	Gln	Asn	Glu	Arg	Asn	Met
1				5					10					15	
Ile	Ile	Lys	Lys	Met	Leu	Lys	Asn	Lys	Leu	Ala	Pro	Leu	Ala	Ile	Leu
		20						25					30		
Phe	Leu	Phe	Ala	Pro	Lys	Ala	Met	Lys	Ala	Gln	Glu	Gln	Leu	Asn	Val
		35					40					45			
Val	His	Thr	Ser	Val	Pro	Ser	Leu	Asn	Ile	Ser	Pro	Asp	Ala	Arg	Ala
	50					55					60				
Ala	Gly	Met	Gly	Asp	Ile	Gly	Val	Ala	Thr	Thr	Pro	Asp	Ala	Tyr	Ser
65					70					75					80
Gln	Tyr	Trp	Asn	Pro	Ser	Lys	Tyr	Ala	Phe	Met	Asp	Thr	Lys	Ala	Gly
			85						90					95	
Ile	Ser	Phe	Ser	Tyr	Thr	Pro	Trp	Leu	Ser	Lys	Leu	Val	Asn	Asp	Ile
			100					105					110		
Ala	Leu	Met	Gln	Met	Thr	Gly	Phe	Tyr	Lys	Leu	Gly	Thr	Asp	Glu	Asn
		115					120					125			
Gln	Ala	Ile	Ser	Ala	Ser	Leu	Arg	Tyr	Phe	Thr	Leu	Gly	Lys	Leu	Glu
	130					135					140				
Thr	Phe	Asp	Glu	Leu	Gly	Glu	Ser	Met	Gly	Glu	Ala	His	Pro	Asn	Glu
145					150					155					160
Phe	Ala	Val	Asp	Leu	Gly	Tyr	Ser	Arg	Gln	Leu	Ser	Glu	Asn	Phe	Ser
			165						170					175	
Met	Ala	Val	Ala	Leu	Arg	Tyr	Ile	Arg	Ser	Asp	Gln	Ser	Thr	His	Asn
		180						185					190		
Thr	Gly	Glu	Asn	Gln	Ala	Gly	Asn	Ala	Phe	Ala	Ala	Asp	Ile	Ala	Gly
		195					200					205			
Tyr	Leu	Gln	Lys	Tyr	Val	Leu	Leu	Gly	Asn	Ala	Glu	Ser	Leu	Trp	Ser
	210					215					220				
Leu	Gly	Phe	Asn	Val	Lys	Asn	Ile	Gly	Thr	Lys	Ile	Ser	Tyr	Asp	Gly
225					220					235					240
Gly	Val	Thr	Ser	Phe	Phe	Ile	Pro	Thr	Ser	Leu	Asn	Leu	Gly	Thr	Gly
				245					250					255	
Leu	Leu	Tyr	Pro	Ile	Asp	Asp	Tyr	Asn	Ser	Ile	Asn	Phe	Asn	Leu	Glu
			260					265					270		
Leu	Ser	Lys	Leu	Leu	Val	Pro	Thr	Pro	Pro	Ile	Met	Asp	Gln	Asn	Asp
		275					280					285			
Gln	Ala	Gly	Tyr	Glu	Ala	Ala	Leu	Lys	Lys	Tyr	Gln	Glu	Thr	Ser	Ser
		290				295					300				
Ile	Ser	Gly	Ile	Phe	Ser	Ser	Phe	Gly	Asp	Ala	Pro	Gly	Gly	Leu	Lys
305					310					315					320
Glu	Glu	Phe	Arg	Glu	Ile	Thr	Trp	Gly	Leu	Gly	Ala	Glu	Tyr	Ser	Tyr
				325					330					335	
Asp	Asp	Lys	Phe	Phe	Val	Arg	Ala	Gly	Tyr	Ser	Tyr	Leu	His	Pro	Thr
			340					345					350		
Lys	Gly	Asn	Leu	Gln	Tyr	Phe	Thr	Ala	Gly	Ala	Gly	Phe	Lys	Met	Asn
		355					360					365			
Ile	Phe	Arg	Ile	Asp	Ala	Ser	Tyr	Leu	Leu	Ser	Thr	Ile	Gln	Ser	Asn
	370					375					380				
Pro	Leu	Asp	Gln	Thr	Leu	Arg	Phe	Thr	Leu	Ala	Phe	Asp	Met	Asp	Gly
385					390					395					400
Leu	Arg	Asn	Leu	Phe	His										
				405											

(2) INFORMACIÓN PARA SEQ ID NO: 382

10 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 563 aminoácidos

(D) TIPO: aminoácido

15

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: proteína

20 (iii) HIPOTÉTICO: SÍ

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) MICROORGANISMO: Porphyromonas gingivalis

5

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: característica_misc

10 (B) UBICACIÓN 1...563

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 382

```

His His Lys Thr Tyr Gln Thr Met Lys Lys Leu Leu Gln Ala Lys Ala
1 1 5 10 15
Leu Ile Leu Ala Leu Gly Leu Phe Gln Leu Pro Ala Ile Ala Gln Thr
20 25 30
Gln Met Gln Ala Asp Arg Thr Asn Gly Gln Phe Ala Thr Glu Glu Met
35 40 45
Gln Arg Ala Phe Gln Glu Thr Asn Pro Pro Ala Gly Pro Val Arg Ala
50 55 60
Ile Ala Glu Tyr Glu Arg Ser Ala Ala Val Leu Val Arg Tyr Pro Phe
65 70 75 80
Gly Ile Pro Met Glu Leu Ile Lys Glu Leu Ala Lys Asn Asp Lys Val
85 90 95
Ile Thr Ile Val Ala Ser Glu Ser Gln Lys Asn Thr Val Ile Thr Gln
100 105 110
Tyr Thr Gln Ser Gly Val Asn Leu Ser Asn Cys Asp Phe Ile Ile Ala
115 120 125
Lys Thr Asp Ser Tyr Trp Thr Arg Asp Tyr Thr Gly Trp Phe Ala Met
130 135 140
Tyr Asp Thr Asn Lys Val Gly Leu Val Asp Phe Ile Tyr Asn Arg Pro
145 150 155 160
Arg Pro Asn Asp Asp Glu Phe Pro Lys Tyr Glu Ala Gln Tyr Leu Gly
165 170 175
Ile Glu Met Phe Gly Met Lys Leu Lys Gln Thr Gly Gly Asn Tyr Met
180 185 190
Thr Asp Gly Tyr Gly Ser Ala Val Gln Ser His Ile Ala Tyr Thr Glu
195 200 205
Asn Ser Ser Leu Ser Gln Ala Gln Val Asn Gln Lys Met Lys Asp Tyr
210 215 220
Leu Gly Ile Thr His His Asp Val Val Gln Asp Pro Asn Gly Glu Tyr
225 230 235 240
Ile Asn His Val Asp Cys Trp Gly Lys Tyr Leu Ala Pro Asn Lys Ile
245 250 255
Leu Ile Arg Lys Val Pro Asp Asn His Pro Gln His Gln Ala Leu Glu
260 265 270
Asp Met Ala Ala Tyr Phe Ala Ala Gln Thr Cys Ala Trp Gly Thr Lys
275 280 285
Tyr Glu Val Tyr Arg Ala Leu Ala Thr Asn Glu Gln Pro Tyr Thr Asn
290 295 300
Ser Leu Ile Leu Asn Asn Arg Val Phe Val Pro Val Asn Gly Pro Ala
305 310 315 320
Ser Val Asp Asn Asp Ala Leu Asn Val Tyr Lys Thr Ala Met Pro Gly
325 330 335
Tyr Glu Ile Ile Gly Val Lys Gly Ala Ser Gly Thr Pro Trp Leu Gly
340 345 350
Thr Asp Ala Leu His Cys Arg Thr His Glu Val Ala Asp Lys Gly Tyr
355 360 365
Leu Tyr Ile Lys His Tyr Pro Ile Leu Gly Glu Gln Ala Gly Pro Asp
370 375 380
Tyr Lys Ile Glu Ala Asp Val Val Ser Cys Ala Asn Ala Thr Ile Ser
385 390 395 400
Pro Val Gln Cys Tyr Tyr Arg Ile Asn Gly Ser Gly Ser Phe Lys Ala
405 410 415
Ala Asp Met Thr Met Glu Ser Thr Gly His Tyr Thr Tyr Ser Phe Thr
420 425 430
Gly Leu Asn Lys Asn Asp Lys Val Glu Tyr Tyr Ile Ser Ala Ala Asp
435 440 445
Asn Ser Gly Arg Lys Glu Thr Tyr Pro Phe Ile Gly Glu Pro Asp Pro
450 455 460

```

```

Phe Lys Phe Thr Cys Het Asn Glu Thr Asn Thr Lys Thr Val Thr Gly
465                               470                               475                               480
Ala Ala Lys Ala Leu Arg Ala Trp Phe Asn Ala Gly Arg Ser Glu Leu
                               485                               490                               495
Ala Val Ser Val Ser Leu Asn Ile Ala Gly Thr Tyr Arg Ile Lys Leu
                               500                               505                               510
Tyr Asn Thr Ala Gly Glu Glu Val Ala Ala Het Thr Lys Glu Leu Val
                               515                               520                               525
Ala Gly Thr Ser Val Phe Ser Het Asp Val Tyr Ser Gln Ala Pro Gly
                               530                               535                               540
Thr Tyr Val Leu Val Val Glu Gly Asn Gly Ile Arg Glu Thr Het Lys
545                               550                               555                               560
Ile Leu Lys
    
```

(2) INFORMACIÓN PARA SEQ ID NO: 383

5 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 437 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

10

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: proteína

15

(iii) HIPOTÉTICO: SÍ

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) MICROORGANISMO: Porphyromonas gingivalis

20

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: característica_misc

25

(B) UBICACIÓN 1...437

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 383

ES 2 419 664 T3

Thr Thr Asn Arg Lys Pro Asn Thr Asn Met Lys Leu Ser Ser Lys Lys
1 5 10 15
Ile Leu Ala Ile Ile Ala Leu Leu Thr Met Gly His Ala Val Gln Ala
20 25 30
Gln Phe Val Pro Ala Pro Thr Thr Gly Ile Arg Met Ser Val Thr Thr
35 40 45
Thr Lys Ala Val Gly Glu Lys Ile Glu Leu Leu Val His Ser Ile Glu
50 55 60
Lys Lys Gly Ile Trp Ile Asp Leu Asn Gly Asp Ala Thr Tyr Gln Gln
65 70 75 80
Gly Glu Glu Ile Thr Val Phe Asp Glu Ala Tyr His Glu Tyr Thr Ile
85 90 95
Gly Thr Gln Thr Leu Thr Ile Tyr Gly Asn Thr Thr Arg Leu Gly Cys
100 105 110
Arg Ser Thr Gly Ala Thr Ala Val Asp Val Thr Lys Asn Pro Asn Leu
115 120 125
Thr Tyr Leu Ala Cys Pro Lys Asn Asn Leu Lys Ser Leu Asp Leu Thr
130 135 140
Gln Asn Pro Lys Leu Leu Arg Val Trp Cys Asp Ser Asn Glu Ile Glu
145 150 155 160
Ser Leu Asp Leu Ser Gly Asn Pro Ala Leu Ile Ile Leu Gly Cys Asp
165 170 175
Arg Asn Lys Leu Thr Glu Leu Lys Thr Asp Asn Asn Pro Lys Leu Ala
180 185 190
Ser Leu Trp Cys Ser Asp Asn Asn Leu Thr Glu Leu Glu Leu Ser Ala
195 200 205
Asn Pro Arg Leu Asn Asp Leu Trp Cys Phe Gly Asn Arg Ile Thr Lys
210 215 220
Leu Asp Leu Ser Ala Asn Pro Leu Leu Val Thr Leu Trp Cys Ser Asp
225 230 235 240
Asn Glu Leu Ser Thr Leu Asp Leu Ser Lys Asn Ser Asp Val Ala Tyr
245 250 255
Leu Trp Cys Ser Ser Asn Lys Leu Thr Ser Leu Asn Leu Ser Gly Val
260 265 270
Lys Gly Leu Ser Val Leu Val Cys His Ser Asn Gln Ile Ala Gly Glu
275 280 285
Glu Met Thr Lys Val Val Asn Ala Leu Pro Thr Leu Ser Pro Gly Ala
290 295 300
Gly Ala Gln Ser Lys Phe Val Val Val Asp Leu Lys Asp Thr Asp Glu
305 310 315 320
Lys Asn Ile Cys Thr Val Lys Asp Val Glu Lys Ala Lys Ser Lys Asn
325 330 335
Trp Arg Val Phe Asp Phe Asn Gly Asp Ser Asp Asn Met Leu Pro Tyr
340 345 350
Glu Gly Ser Pro Thr Ser Asn Leu Ala Val Asp Ala Pro Thr Val Arg
355 360 365
Ile Tyr Pro Asn Pro Val Gly Arg Tyr Ala Leu Val Glu Ile Pro Glu
370 375 380
Ser Leu Leu Gly Gln Glu Ala Ala Leu Tyr Asp Met Asn Gly Val Lys
385 390 395 400
Val Tyr Ser Phe Ala Val Glu Ser Leu Arg Gln Asn Ile Asp Leu Thr
405 410 415
His Leu Pro Asp Gly Thr Tyr Phe Phe Arg Leu Asp Asn Tyr Thr Thr
420 425 430
Lys Leu Ile Lys Gln
435

(2) INFORMACIÓN PARA SEQ ID NO: 386

5

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 451 aminoácidos

10 (B) TIPO: aminoácido

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: proteína

15

(iii) HIPOTÉTICO: SÍ

(vi) FUENTE ORIGINAL:

20 (A) MICROORGANISMO: Porphyromonas gingivalis

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: característica_misc

(B) UBICACIÓN 1...451

5

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 386

```

Met Ala Lys Val Ile Lys Thr Lys Lys Gly Leu Ala Leu Asn Leu Lys
1      5      10      15
Gly Lys Pro Leu Pro Glu Met Leu Ala Glu Pro Ala Gln Ser Pro Thr
20      25      30
Tyr Ala Val Val Pro Asp Asp Phe Glu Gly Val Ile Pro Lys Val Thr
35      40      45
Ala Arg Pro Gly Asp Lys Val Arg Ala Gly Ser Ala Leu Met His His
50      55      60
Lys Ala Tyr Pro Glu Met Lys Phe Thr Ser Pro Val Ser Gly Glu Val
65      70      75      80
Ile Ala Val Asn Arg Gly Ala Lys Arg Lys Val Leu Ser Ile Glu Val
85      90      95
Lys Pro Asp Gly Leu Asn Glu Tyr Glu Ser Phe Pro Val Gly Asp Pro
100     105     110
Ser Ala Leu Ser Ala Glu Gln Ile Lys Glu Leu Leu Leu Ser Ser Gly
115     120     125
Met Trp Gly Phe Ile Lys Gln Arg Pro Tyr Asp Ile Val Ala Thr Pro
130     135     140
Asp Ile Ala Pro Arg Asp Ile Tyr Ile Thr Ala Asn Phe Thr Ala Pro
145     150     155     160
Leu Ala Pro Asp Phe Asp Phe Ile Val Arg Gly Glu Glu Arg Ala Leu
165     170     175
Gln Thr Ala Ile Asp Ala Leu Ala Lys Leu Thr Thr Gly Lys Val Tyr
180     185     190
Val Gly Leu Lys Pro Gly Ser Ser Leu Gly Leu His Asn Ala Glu Ile
195     200     205
Val Glu Val His Gly Pro His Pro Ala Gly Asn Val Gly Val Leu Ile
210     215     220
Asn His Thr Lys Pro Ile Asn Arg Gly Glu Thr Val Trp Thr Leu Lys
225     230     235     240
Ala Thr Asp Leu Ile Val Ile Gly Arg Phe Leu Leu Thr Gly Lys Ala
245     250     255
Asp Phe Thr Arg Met Ile Ala Met Thr Gly Ser Asp Ala Ala Ala His
260     265     270
Gly Tyr Val Arg Ile Met Pro Gly Cys Asn Val Phe Ala Ser Phe Pro
275     280     285
Gly Arg Leu Thr Ile Lys Glu Ser His Glu Arg Val Ile Asp Gly Asn
290     295     300
Val Leu Thr Gly Lys Lys Leu Cys Glu Lys Glu Pro Phe Leu Ser Ala
305     310     315     320
Arg Cys Asp Gln Ile Thr Val Ile Pro Glu Gly Asp Asp Val Asp Glu
325     330     335
Leu Phe Gly Trp Ala Ala Pro Arg Leu Asp Gln Tyr Ser Met Ser Arg
340     345     350
Ala Tyr Phe Ser Trp Leu Gln Gly Lys Asn Lys Glu Tyr Val Leu Asp
355     360     365
Ala Arg Ile Lys Gly Gly Glu Arg Ala Met Ile Met Ser Asn Glu Tyr
370     375     380

Arg Arg Val Phe Pro Met Asp Ile Tyr Pro Glu Tyr Leu Leu Lys Ala
385     390     400
Ile Ile Ala Phe Asp Ile Asp Lys Met Glu Asp Leu Gly Ile Tyr Glu
405     410     415
Val Ala Pro Glu Asp Phe Ala Thr Cys Glu Phe Val Asp Thr Ser Lys
420     425     430
Ile Glu Leu Gln Arg Ile Val Arg Glu Gly Leu Asp Met Leu Tyr Lys
435     440     445
Glu Met Asn
450
    
```

10

(2) INFORMACIÓN PARA SEQ ID NO: 434

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

15

(A) LONGITUD: 223 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

(D) TOPOLOGÍA: lineal

20

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: proteína

(iii) HIPOTÉTICO: SÍ

(vi) FUENTE ORIGINAL:

5

(A) MICROORGANISMO: Porphyromonas gingivalis

(ix) CARACTERÍSTICA:

10

(A) NOMBRE/CLAVE: característica_misc

(B) UBICACIÓN 1...223

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 434

15

```

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

(2) INFORMACIÓN PARA SEQ ID NO: 435

20

(i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 337 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

25

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: proteína

30

(iii) HIPOTÉTICO: SÍ

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) MICROORGANISMO: Porphyromonas gingivalis

35

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: característica_misc

40

(B) UBICACIÓN 1...337

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 435

ES 2 419 664 T3

```

Met Ser Lys Lys Ser Ile Leu Leu Leu Cys Cys Ser Leu Cys Phe Ile
1      5      10      15
Ser Ala Thr Lys Ala Val Thr Pro Val Arg Asn Val Arg Asn Ser Gln
20      25      30
Val Asn Ser Lys Ala Lys Thr Glu Arg Thr Lys Pro Ser Asp Ser Val
35      40      45
Arg Tyr Ile Ser Asn Met Ile Ala Asp Arg Leu Glu Phe Arg Asn Lys
50      55      60
Ile Ser Ser Glu Lys Glu Val Arg Lys Ala Glu Tyr Glu Asn Arg Leu
65      70      75      80
Ala Met Glu Ala Leu Asn Tyr Pro Ala Ile Asp Leu Tyr Gly Glu Asp
85      90      95
Ser Trp Ser Glu Tyr Val Asn Pro Phe Val Gly Ala Gly Thr Asp Val
100     105     110
Glu Ile Pro Asn Ser Tyr Asp Ile Asp Cys Ser Ser Phe Val Met Pro
115     120     125
Val Glu Asp Lys Gln Val Thr Ser Gln Phe Gly Tyr Arg Arg Arg Phe
130     135     140
Gly Arg Met His Tyr Gly Ile Asp Leu Ser Val Asn Arg Gly Asp Thr
145     150     155     160
Ile Arg Ala Ala Phe Asp Gly Lys Val Arg Val Arg Ser Tyr Glu Ala
165     170     175
Arg Gly Tyr Gly Tyr Tyr Ile Val Leu Arg His Pro Asn Gly Leu Glu
180     185     190
Thr Val Tyr Gly His Met Ser Arg Gln Leu Val Asp Glu Asn Gln Ile
195     200     205
Val Arg Ala Gly Gln Pro Ile Gly Leu Gly Gly Ser Thr Gly Arg Ser
210     215     220
Thr Gly Pro His Leu His Phe Glu Thr Arg Phe Met Gly Ile Pro Ile
225     230     235     240
Asn Pro Ser Thr Ile Ile Asp Phe Asp Asn Gly Val Pro Leu Arg Asp
245     250     255
Ile Tyr Thr Phe Lys Arg Gly Ser Asn Ser Arg Tyr Ala Lys Ala Ser
260     265     270
Lys Thr Ser Ser Arg Tyr Ala Lys Lys Gly Lys Lys Gly Arg Gln Ala
275     280     285
Ser Ser Pro Met Thr Tyr Arg Ile Lys Lys Gly Asp Thr Leu Glu Thr
290     295     300
Ile Ala Lys Arg His Gly Thr Ser Val Gln Lys Leu Cys Ala Thr Asn
305     310     315     320
Gly Ile Gly Lys Ser Lys Ile Leu Thr Pro Gly Lys Ala Leu Arg Ile
325     330     335
Lys

```

(2) INFORMACIÓN PARA SEQ ID NO: 493

5 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 391 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

10 (D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: proteína

15 (iii) HIPOTÉTICO: SÍ

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) MICROORGANISMO: Porphyromonas gingivalis

20 (ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: característica_misc

25 (B) UBICACIÓN 1...391

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 493

Met Ile Ile Lys Lys Met Leu Lys Asn Lys Leu Ala Pro Leu Ala Ile
 1 5 10 15
 Leu Phe Leu Phe Ala Pro Lys Ala Met Lys Ala Gln Glu Gln Leu Asn
 20 25 30
 Val Val His Thr Ser Val Pro Ser Leu Asn Ile Ser Pro Asp Ala Arg
 35 40 45
 Ala Ala Gly Met Gly Asp Ile Gly Val Ala Thr Thr Pro Asp Ala Tyr
 50 55 60
 Ser Gln Tyr Trp Asn Pro Ser Lys Tyr Ala Phe Met Asp Thr Lys Ala
 65 70 75 80
 Gly Ile Ser Phe Ser Tyr Thr Pro Trp Leu Ser Lys Leu Val Asn Asp
 85 90 95
 Ile Ala Leu Met Gln Met Thr Gly Phe Tyr Lys Leu Gly Thr Asp Glu
 100 105 110
 Asn Gln Ala Ile Ser Ala Ser Leu Arg Tyr Phe Thr Leu Gly Lys Leu
 115 120 125
 Glu Thr Phe Asp Glu Leu Gly Glu Ser Met Gly Glu Ala His Pro Asn
 130 135 140
 Glu Phe Ala Val Asp Leu Gly Tyr Ser Arg Gln Leu Ser Glu Asn Phe
 145 150 155 160
 Ser Met Ala Val Ala Leu Arg Tyr Ile Arg Ser Asp Gln Ser Thr His
 165 170 175
 Asn Thr Gly Glu Asn Gln Ala Gly Asn Ala Phe Ala Ala Asp Ile Ala
 180 185 190
 Gly Tyr Leu Gln Lys Tyr Val Leu Leu Gly Asn Ala Glu Ser Leu Trp
 195 200 205
 Ser Leu Gly Phe Asn Val Lys Asn Ile Gly Thr Lys Ile Ser Tyr Asp
 210 215 220
 Gly Gly Val Thr Ser Phe Phe Ile Pro Thr Ser Leu Asn Leu Gly Thr
 225 230 235 240
 Gly Leu Leu Tyr Pro Ile Asp Asp Tyr Asn Ser Ile Asn Phe Asn Leu
 245 250 255
 Glu Leu Ser Lys Leu Leu Val Pro Thr Pro Pro Ile Met Asp Gln Asn
 260 265 270
 Asp Gln Ala Gly Tyr Glu Ala Ala Leu Lys Lys Tyr Gln Glu Thr Ser
 275 280 285
 Ser Ile Ser Gly Ile Phe Ser Ser Phe Gly Asp Ala Pro Gly Gly Leu
 290 295 300
 Lys Glu Glu Phe Arg Glu Ile Thr Trp Gly Leu Gly Ala Glu Tyr Ser
 305 310 315 320
 Tyr Asp Asp Lys Phe Phe Val Arg Ala Gly Tyr Ser Tyr Leu His Pro
 325 330 335
 Thr Lys Gly Asn Leu Gln Tyr Phe Thr Ala Gly Ala Gly Phe Lys Met
 340 345 350
 Asn Ile Phe Arg Ile Asp Ala Ser Tyr Leu Leu Ser Thr Ile Gln Ser
 355 360 365
 Asn Pro Leu Asp Gln Thr Leu Arg Phe Thr Leu Ala Phe Asp Met Asp
 370 375 380
 Gly Leu Arg Asn Leu Phe His
 385 390

(2) INFORMACIÓN PARA SEQ ID NO: 525

5 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

(A) LONGITUD: 556 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

10

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: proteína

15

(iii) HIPOTÉTICO: SÍ

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) MICROORGANISMO: Porphyromonas gingivalis

20

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: característica_misc

(B) UBICACIÓN 1...556

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 525

5

```

Met Lys Lys Leu Leu Gln Ala Lys Ala Leu Ile Leu Ala Leu Gly Leu
1 5 10 15
Phe Gln Leu Pro Ala Ile Ala Gln Thr Gln Met Gln Ala Asp Arg Thr
20 25 30
Asn Gly Gln Phe Ala Thr Glu Glu Met Gln Arg Ala Phe Gln Glu Thr
35 40 45
Asn Pro Pro Ala Gly Pro Val Arg Ala Ile Ala Glu Tyr Glu Arg Ser
50 55 60
Ala Ala Val Leu Val Arg Tyr Pro Phe Gly Ile Pro Met Glu Leu Ile
65 70 75 80
Lys Glu Leu Ala Lys Asn Asp Lys Val Ile Thr Ile Val Ala Ser Glu
85 90 95
Ser Gln Lys Asn Thr Val Ile Thr Gln Tyr Thr Gln Ser Gly Val Asn
100 105 110
Leu Ser Asn Cys Asp Phe Ile Ile Ala Lys Thr Asp Ser Tyr Trp Thr
115 120 125
Arg Asp Tyr Thr Gly Trp Phe Ala Met Tyr Asp Thr Asn Lys Val Gly
130 135 140
Leu Val Asp Phe Ile Tyr Asn Arg Pro Arg Pro Asn Asp Asp Glu Phe
145 150 155 160
Pro Lys Tyr Glu Ala Gln Tyr Leu Gly Ile Glu Met Phe Gly Met Lys
165 170 175
Leu Lys Gln Thr Gly Gly Asn Tyr Met Thr Asp Gly Tyr Gly Ser Ala
180 185 190
Val Gln Ser His Ile Ala Tyr Thr Glu Asn Ser Ser Leu Ser Gln Ala
195 200 205
Gln Val Asn Gln Lys Met Lys Asp Tyr Leu Gly Ile Thr His His Asp
210 215 220
Val Val Gln Asp Pro Asn Gly Glu Tyr Ile Asn His Val Asp Cys Trp
225 230 235 240
Gly Lys Tyr Leu Ala Pro Asn Lys Ile Leu Ile Arg Lys Val Pro Asp
245 250 255
Asn His Pro Gln His Gln Ala Leu Glu Asp Met Ala Ala Tyr Phe Ala
260 265 270
Ala Gln Thr Cys Ala Trp Gly Thr Lys Tyr Glu Val Tyr Arg Ala Leu
275 280 285
Ala Thr Asn Glu Gln Pro Tyr Thr Asn Ser Leu Ile Leu Asn Asn Arg
290 295 300
Val Phe Val Pro Val Asn Gly Pro Ala Ser Val Asp Asn Asp Ala Leu
305 310 315 320
Asn Val Tyr Lys Thr Ala Met Pro Gly Tyr Glu Ile Ile Gly Val Lys
325 330 335
Gly Ala Ser Gly Thr Pro Trp Leu Gly Thr Asp Ala Leu His Cys Arg
340 345 350
Thr His Glu Val Ala Asp Lys Gly Tyr Leu Tyr Ile Lys His Tyr Pro
355 360 365
Ile Leu Gly Glu Gln Ala Gly Pro Asp Tyr Lys Ile Glu Ala Asp Val
370 375 380
Val Ser Cys Ala Asn Ala Thr Ile Ser Pro Val Gln Cys Tyr Tyr Arg
385 390 395 400
Ile Asn Gly Ser Gly Ser Phe Lys Ala Ala Asp Met Thr Met Glu Ser
405 410 415
Thr Gly His Tyr Thr Tyr Ser Phe Thr Gly Leu Asn Lys Asn Asp Lys
420 425 430
Val Glu Tyr Tyr Ile Ser Ala Ala Asp Asn Ser Gly Arg Lys Glu Thr
435 440 445
Tyr Pro Phe Ile Gly Glu Pro Asp Pro Phe Lys Phe Thr Cys Met Asn
450 455 460
Glu Thr Asn Thr Cys Thr Val Thr Gly Ala Ala Lys Ala Leu Arg Ala
465 470 475 480
Trp Phe Asn Ala Gly Arg Ser Glu Leu Ala Val Ser Val Ser Leu Asn
485 490 495
Ile Ala Gly Thr Tyr Arg Ile Lys Leu Tyr Asn Thr Ala Gly Glu Glu
500 505 510
Val Ala Ala Met Thr Lys Glu Leu Val Ala Gly Thr Ser Val Phe Ser
515 520 525
Met Asp Val Tyr Ser Gln Ala Pro Gly Thr Tyr Val Leu Val Val Glu
530 535 540
Gly Asn Gly Ile Arg Glu Thr Met Lys Ile Leu Lys
545 550 555

```

(2) INFORMACIÓN PARA SEQ ID NO: 526

10 (i) CARACTERÍSTICAS DE LA SECUENCIA:

ES 2 419 664 T3

(A) LONGITUD: 428 aminoácidos

(B) TIPO: aminoácido

5

(D) TOPOLOGÍA: lineal

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: proteína

10

(iii) HIPOTÉTICO: SÍ

(vi) FUENTE ORIGINAL:

(A) MICROORGANISMO: Porphyromonas gingivalis

15

(ix) CARACTERÍSTICA:

(A) NOMBRE/CLAVE: característica_misc

20

(B) UBICACIÓN 1...428

(xi) DESCRIPCIÓN DE LA SECUENCIA: SEQ ID NO: 526

```

Met Lys Leu Ser Ser Lys Lys Ile Leu Ala Ile Ile Ala Leu Leu Thr
1 5 10 15
Met Gly His Ala Val Gln Ala Gln Phe Val Pro Ala Pro Thr Thr Gly
20 25 30
Ile Arg Met Ser Val Thr Thr Thr Lys Ala Val Gly Glu Lys Ile Glu
35 40 45
Leu Leu Val His Ser Ile Glu Lys Lys Gly Ile Trp Ile Asp Leu Asn
50 55 60
Gly Asp Ala Thr Tyr Gln Gln Gly Glu Glu Ile Thr Val Phe Asp Glu
65 70 75 80
Ala Tyr His Glu Tyr Thr Ile Gly Thr Gln Thr Leu Thr Ile Tyr Gly
95 100 105 110
Asn Thr Thr Arg Leu Gly Cys Arg Ser Thr Gly Ala Thr Ala Val Asp
115 120 125
Val Thr Lys Asn Pro Asn Leu Thr Tyr Leu Ala Cys Pro Lys Asn Asn
130 135 140
Leu Lys Ser Leu Asp Leu Thr Gln Asn Pro Lys Leu Leu Arg Val Trp
145 150 155
Cys Asp Ser Asn Glu Ile Glu Ser Leu Asp Leu Ser Gly Asn Pro Ala
160 165 170 175
Leu Ile Ile Leu Gly Cys Asp Arg Asn Lys Leu Thr Glu Leu Lys Thr
180 185 190
Asp Asn Asn Pro Lys Leu Ala Ser Leu Trp Cys Ser Asp Asn Asn Leu
195 200 205
Thr Glu Leu Glu Leu Ser Ala Asn Pro Arg Leu Asn Asp Leu Trp Cys
210 215 220
Phe Gly Asn Arg Ile Thr Lys Leu Asp Leu Ser Ala Asn Pro Leu Leu
225 230 235
Val Thr Leu Trp Cys Ser Asp Asn Glu Leu Ser Thr Leu Asp Leu Ser
240 245 250 255
Lys Asn Ser Asp Val Ala Tyr Leu Trp Cys Ser Ser Asn Lys Leu Thr
260 265 270
Ser Leu Asn Leu Ser Gly Val Lys Gly Leu Ser Val Leu Val Cys His
275 280 285
Ser Asn Gln Ile Ala Gly Glu Glu Met Thr Lys Val Val Asn Ala Leu
290 295 300
Pro Thr Leu Ser Pro Gly Ala Gly Ala Gln Ser Lys Phe Val Val Val
305 310 315
Asp Leu Lys Asp Thr Asp Glu Lys Asn Ile Cys Thr Val Lys Asp Val
320 325 330 335
Glu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Trp Arg Val Phe Asp Phe Asn Gly Asp
340 345 350 355
Ser Asp Asn Met Leu Pro Tyr Glu Gly Ser Pro Thr Ser Asn Leu Ala
360 365 370
Val Asp Ala Pro Thr Val Arg Ile Tyr Pro Asn Pro Val Gly Arg Tyr
375 380
Ala Leu Val Glu Ile Pro Glu Ser Leu Leu Gly Gln Glu Ala Ala Leu
385 390 395 400
Tyr Asp Met Asn Gly Val Lys Val Tyr Ser Phe Ala Val Glu Ser Leu
405 410 415
Arg Gln Asn Ile Asp Leu Thr His Leu Pro Asp Gly Thr Tyr Phe Phe
420 425
Arg Leu Asp Asn Tyr Thr Thr Lys Leu Ile Lys Gln

```

REIVINDICACIONES

1. Un polipéptido antigénico de *Porphyromonas gingivalis* aislado que puede provocar una respuesta inmunitaria contra *P. gingivalis*, polipéptido que comprende:
- 5 una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO. 526 o SEQ ID NO. 383; o
- una secuencia de aminoácidos al menos un 85 % o al menos un 95 % idéntica a la SEQ ID NO. 526 o la SEQ ID NO. 383; o
- 10 al menos 40 aminoácidos que tengan una secuencia contigua de al menos 40 aminoácidos idéntica a una secuencia contigua de aminoácidos de SEQ ID NO. 526 o SEQ ID NO. 383.
2. Una molécula de ADN aislada, molécula de ADN que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido como se reivindica en la reivindicación 1.
- 15 3. Una molécula de ADN aislada como se reivindica en la reivindicación 2 que comprende una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO. 119 o SEQ ID NO. 262.
- 20 4. Un vector de expresión recombinante que comprende la molécula de ADN como se reivindica en la reivindicación 2 o 3, enlazada de forma funcional a un elemento regulador de la transcripción.
5. Una célula aislada que comprende el vector de expresión recombinante como se reivindica en la reivindicación 4.
- 25 6. Un método para producir un polipéptido de *P. gingivalis* que comprende cultivar la célula como se reivindica en la reivindicación 5 en condiciones que permitan la expresión del polipéptido.
7. Una composición para su uso en la obtención de una respuesta inmunitaria dirigida contra *P. gingivalis* en un sujeto, composición que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y una cantidad eficaz de al menos un polipéptido como se reivindica en la reivindicación 1 y/o al menos una molécula de ADN como se reivindica en la reivindicación 3 o la reivindicación 4.
- 30 8. Una composición como se reivindica en la reivindicación 7 para su uso en el tratamiento de infecciones por *P. gingivalis*.
- 35 9. Una composición como se reivindica en la reivindicación 8, en la que el tratamiento es un tratamiento profiláctico.
10. Un anticuerpo obtenido contra un polipéptido como se reivindica en la reivindicación 1.
- 40 11. Una composición que comprende al menos un anticuerpo como se reivindica en la reivindicación 10.
12. Un método para detectar la presencia de una molécula de ADN como se reivindica en la reivindicación 2 o la reivindicación 3 en una muestra, que comprende:
- 45 poner en contacto una muestra con una sonda nucleotídica que comprende al menos 18 nucleótidos y que tiene una secuencia contigua de al menos 18 nucleótidos idéntica a una secuencia contigua de nucleótidos de SEQ ID NO. 37 en condiciones en las que se pueda formar un híbrido entre la sonda y la molécula de ADN como se define en la reivindicación 2 o la reivindicación 3 en la muestra; y
- 50 detectar el híbrido formado en la etapa (a), en el que la detección de un híbrido indica la presencia de una molécula de ADN como se define en la reivindicación 2 o la reivindicación 3 en la muestra.
13. Un método como se reivindica en la reivindicación 12, en el que la sonda comprende además una marca detectable.

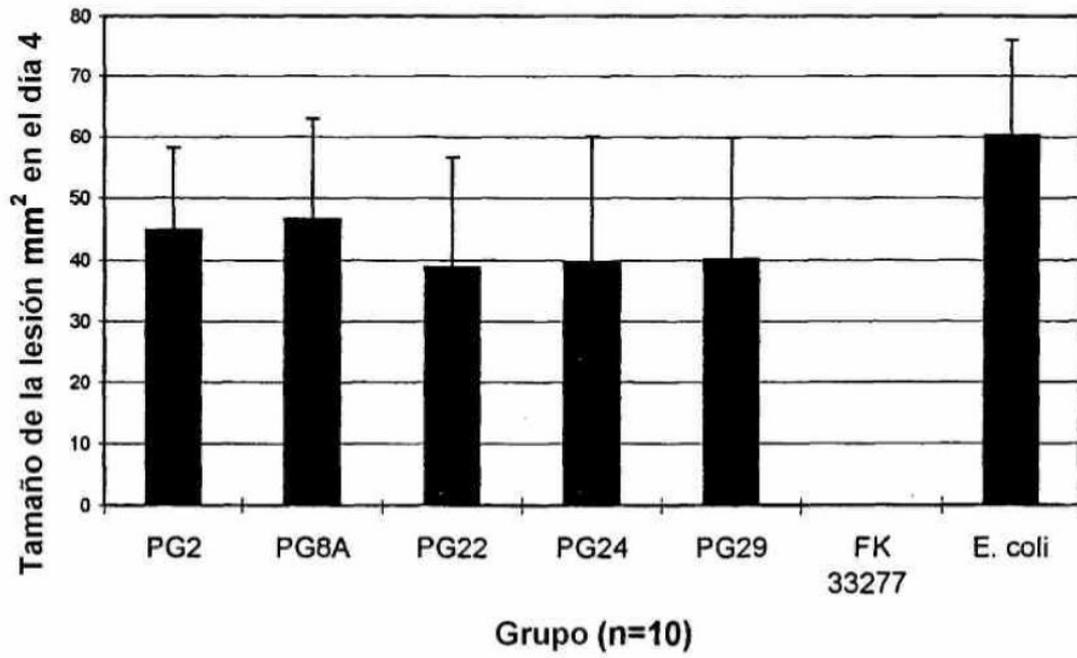


Figura 1

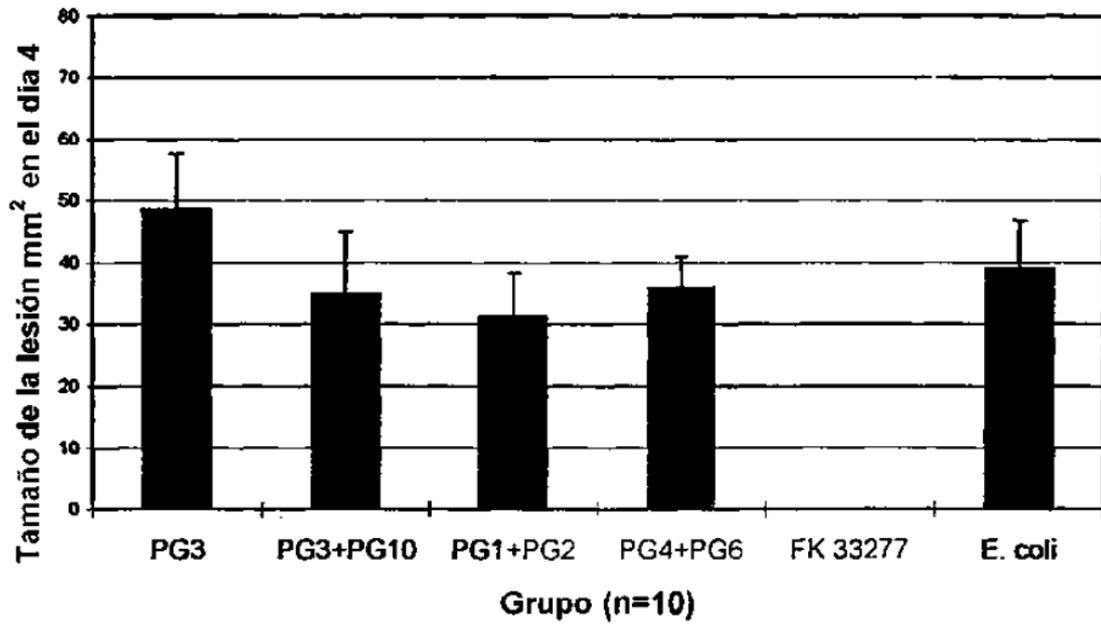


Figura 2