

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 435 923**

51 Int. Cl.:

C12N 15/31 (2006.01)
C12N 15/63 (2006.01)
C07K 14/285 (2006.01)
C07K 19/00 (2006.01)
A61K 39/102 (2006.01)
G01N 33/569 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.10.2001 E 10177857 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.09.2013 EP 2270171**

54 Título: **Antígenos de Haemophilus influenzae y los correspondientes fragmentos de ADN**

30 Prioridad:

02.10.2000 US 236712 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
26.12.2013

73 Titular/es:

**ID BIOMEDICAL CORPORATION OF QUEBEC
(100.0%)
525 Cartier Boulevard West
Laval, QC H7V 3S8, CA**

72 Inventor/es:

**HAMEL, JOSÉE;
COUTURE, FRANCE;
BRODEUR, BERNARD R;
MARTIN, DENIS;
OUELLET, CATHERINE;
TREMBLAY, MIREILLE;
CHARBONNEAU, ANNIE;
VAYSSIER, CATHERINE;
HAMEL, JOSÉE;
COUTURE, FRANCE;
BRODEUR, BERNARD R;
MARTIN, DENIS;
OUELLET, CATHERINE;
TREMBLAY, MIREILLE;
CHARBONNEAU, ANNIE y
VAYSSIER, CATHERINE**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 435 923 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

Antígenos de *Haemophilus influenzae* y los correspondientes fragmentos de ADN

Campo de la invención

- 5 La presente invención se refiere a polipéptidos de *Haemophilus influenzae* y a los correspondientes fragmentos de ADN, que pueden ser útiles para prevenir, diagnosticar y/o tratar infecciones por *Haemophilus influenzae* en individuos tales como seres humanos.

Antecedentes de la invención

- 10 *Haemophilus influenzae* es un bacilo gramnegativo que se encuentra en la naturaleza solo como patógeno humano. Los aislamientos de *H. influenzae* pueden subdividirse en formas encapsuladas y no encapsuladas. Las cepas encapsuladas expresan 1 de 6 polisacáridos capsulares estructural y antigénicamente distintos que se designan tipos "a" a "f". Las cepas no encapsuladas se definen por su incapacidad de aglutinarse con antiseros contra polisacáridos capsulares reconocidos de *H. influenzae* y se hacen referencia como no tipables.

- 15 Las cepas de *H. influenzae* no tipables colonizan comúnmente el tracto respiratorio superior, incluyendo la nasofaringe y la orofaringe posterior. Una serie de exámenes de individuos sanos indican índices de colonización de entre 40 y 80% tanto entre niños como adultos (Spinola S.M., Peacock J., Denny F.W., Smith D.L. y Cannon J.G. (1986) "Epidemiology of colonisation by nontypeable *Haemophilus influenzae* in children : a longitudinal study". *J. Infect. Dis.* 154: 100-109; Trotter S., Stenberg K. y Svanborg-Eden C. (1989) "Turn over of nontypeable *Haemophilus influenzae* in the nasopharynxes of healthy children". *J. Clin. Microbiol.* 27: 2175-2179). La colonización con una cepa particular puede persistir durante semanas o meses, permaneciendo asintomáticos la mayoría de individuos a lo largo de este periodo. La patogénesis de la enfermedad debida a *H. influenzae* no tipable implica la difusión contigua en el tracto respiratorio. La difusión a zonas adyacentes es habitualmente una consecuencia de anomalías en las defensas del hospedador no específicas o específicas. Así, la *H. influenzae* no tipable causa una variedad de infecciones del tracto respiratorio en niños y adultos incluyendo otitis, sinusitis, bronquitis y neumonía. Estas infecciones pueden volverse crónicas o recurrentes en pacientes con bronquitis u otitis. De hecho, 25 en lactantes y niños, la *H. influenzae* no tipable es una causa frecuente de otitis media aguda y está comúnmente implicada en otitis media recurrente (Harabuchi Y., Fadden H., Yamanaka N., Duffy L., Wolf J., Krystofik D. y Tonawanda/Williamsville Pediatrics. (1994) "Nasopharyngeal colonisation with nontypeable *Haemophilus influenzae* and recurrent otitis media". *J. Infect. Dis.* 170: 862-866). En lactantes, la *H. influenzae* no tipable es responsable de entre un 27% y un 37% de los primeros episodios de otitis media a la edad de 1 año (Smith-Vaughan H.C., Sriprakash K.S., Mathews J.D. y Kemp D.J. (1997) "Nonencapsulated *Haemophilus influenzae* in aboriginal infants with otitis media: prolonged carriage of P2 porin variants and evidence for horizontal P2 gene transfer". *Infect. Immun.* 65: 1468-1474; Teele D.W., Klein J.O., Rosner B. y Greater Boston Otitis Media study Group. (1989) "Epidemiology of otitis media during the first seven years of life in children in Greater Boston : a prospective, cohort study". *J. Infect. Dis.* 160: 83-94). La meningitis está causada a veces por *H. influenzae* no tipable y da cuenta de 1-3% de todos los casos. Pero la *H. influenzae* no tipable es particularmente prevalente en hospedadores con una enfermedad subyacente que afecta al sistema inmunitario mucoso innato, tal como enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y fibrosis quística (Murphy T.F. y Sethi S. (1992) "Bacterial infection in chronic obstructive pulmonary disease". *Am. Rev. Respir. Dis.* 146:1067-1083; St. Geme J.W. III. (1993) "Nontypeable *Haemophilus influenzae* disease: epidemiology, pathogenesis and prospects for prevention". *Infect. Agents Dis.* 2: 1-16). Las cepas de *H. influenzae* no tipables se encuentran predominantemente durante agravamientos cuando el esputo se vuelve mucopurulento. Los agravamientos infecciosos agudos de la bronquitis crónica desempeñan un papel importante en la morbilidad y mortalidad de pacientes con enfermedades pulmonares crónicas.

- 45 Las etiologías de la neumonía intrahospitalaria parecen haber cambiado en la última década. Aunque *Streptococcus pneumoniae* sigue siendo el patógeno predominante, ha aumentado la proporción de casos que implican otros organismos. *H. influenzae* se reseña ahora a menudo por ser la segunda causa más común de neumonía. Un 10% de los casos de neumonía por *H. influenzae* evolucionan a bacteremia. En los países desarrollados, la neumonía causada por *H. influenzae* no tipable es aparentemente una causa importante de morbilidad y mortalidad en niños.

El documento WO 96/33276 da a conocer el genoma completo de *Haemophilus influenzae* Rd y los posibles usos clínicos del mismo y de los polipéptidos codificados por el mismo.

- 50 Aunque se han desarrollado varias vacunas conjugadas polisacáridas de tipo *H. influenzae*, estas vacunas son ineficaces contra la enfermedad causada por otras cepas de *H. influenzae* (Scheifele D.W., Jadavji T.P., Law B.J., Gold R., Macdonald N.E., Lebel M.H., Mills E.L., Dery P., Halperin S.A., Morris R.F., Marchessault V. y Duclos P.J. (1996) "Recent trends in pediatric *Haemophilus influenzae* type b infections in Canada". *Can. Med. Assoc. J.* 154: 1041-1047; Schulte E.E., Birkhead G.S., Kondracki S.F. y Morse D.L. (1994) "Patterns of *Haemophilus influenzae* type b invasive disease in New York State, 1987-1991 : the role of vaccination requirements for day-care attendance". *Pediatrics* 94: 1014-1016). La identificación de los antígenos protectores cruzados conservados es crítica para el desarrollo de una vacuna universal contra la infección y enfermedad por *H. influenzae*. Se han identificado proteínas de la membrana externa tales como P1, P2, P4, P6, PCP, OMP26 y D-15 o se están

explorando actualmente como antígenos de vacuna potenciales (Foxwell A.R., Kyd J.M. y Cripps A.W. (1998) "Nontypeable *Haemophilus influenzae*: Pathogenesis and Prevention". *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 62: 294-308). La proteína D-15 es el único inmunógeno conservado que se ha descrito en la bibliografía científica por ser capaz de conferir protección contra múltiples serotipos y cepas no tipables.

- 5 Por lo tanto, continúa habiendo una necesidad insatisfecha de polipéptidos de *H. influenzae* que puedan ser útiles para prevenir, diagnosticar y/o tratar infecciones por *Haemophilus influenzae* en individuos tales como seres humanos.

Sumario de la invención

- 10 Según un aspecto, la presente invención proporciona un polinucleótido aislado que codifica un polipéptido que tiene al menos un 70% de identidad con un segundo polipéptido que comprende una secuencia elegida de las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 y 24 o fragmentos o análogos del mismo.

Según un aspecto, la presente invención se refiere a polipéptidos que comprenden una secuencia aminoacídica seleccionada de las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 y 24 o fragmentos o análogos de los mismos.

- 15 En otros aspectos, se proporcionan polipéptidos codificados por polinucleótidos de la invención, composiciones farmacéuticas y vectores que comprenden polinucleótidos de la invención ligados operativamente con una región de control de la expresión, así como células hospedadoras transfectadas con dichos vectores y procesos de producción de polipéptidos que comprenden cultivar dichas células hospedadoras en condiciones adecuadas para la expresión.

Breve descripción de los dibujos

- 20 La Figura 1 representa la secuencia de ADN del gen BVH-NTHI1 de la cepa 12085 de *H. influenzae* no tipable; SEQ ID NO: 1.

La Figura 2 representa la secuencia aminoacídica deducida de BVH-NTHI1 completo de la cepa 12085 de *H. influenzae* no tipable; SEQ ID NO: 2.

La Figura 3 representa la secuencia de ADN del gen BVH-NTHI2 de la cepa 12085 de *H. influenzae* no tipable; SEQ ID NO: 3.

- 25 La Figura 4 representa la secuencia aminoacídica deducida de BVH-NTHI2 completo de la cepa 12085 de *H. influenzae* no tipable; SEQ ID NO: 4.

La Figura 5 representa la secuencia de ADN del gen BVH-NTHI3 de la cepa 12085 de *H. influenzae* no tipable; SEQ ID NO: 5.

- 30 La Figura 6 representa la secuencia aminoacídica deducida de BVH-NTHI3 completo de la cepa 12085 de *H. influenzae* no tipable; SEQ ID NO: 6.

La Figura 7 representa la secuencia de ADN del gen BVH-NTHI4 de la cepa 12085 de *H. influenzae* no tipable; SEQ ID NO: 7.

La Figura 8 representa la secuencia aminoacídica deducida de BVH-NTHI4 completo de la cepa 12085 de *H. influenzae* no tipable; SEQ ID NO: 8.

- 35 La Figura 9 representa la secuencia de ADN del gen BVH-NTHI5 de la cepa 12085 de *H. influenzae* no tipable; SEQ ID NO: 9.

La Figura 10 representa la secuencia aminoacídica deducida de BVH-NTHI5 completo de la cepa 12085 de *H. influenzae* no tipable; SEQ ID NO: 10.

- 40 La Figura 11 representa la secuencia de ADN del gen BVH-NTHI6 de la cepa 12085 de *H. influenzae* no tipable; SEQ ID NO: 11.

La Figura 12 representa la secuencia aminoacídica deducida de BVH-NTHI6 completo de la cepa 12085 de *H. influenzae* no tipable; SEQ ID NO: 12.

La Figura 13 representa la secuencia de ADN del gen BVH-NTHI7 de la cepa 12085 de *H. influenzae* no tipable; SEQ ID NO: 13.

- 45 La Figura 14 representa la secuencia aminoacídica deducida de BVH-NTHI7 completo de la cepa 12085 de *H. influenzae* no tipable; SEQ ID NO: 14.

La Figura 15 representa la secuencia de ADN del gen BVH-NTHI8 de la cepa 12085 de *H. influenzae* no tipable; SEQ ID NO: 15.

La Figura 16 representa la secuencia aminoacídica deducida de BVH-NTHI8 completo de la cepa 12085 de *H. influenzae* no tipable; SEQ ID NO: 16.

La Figura 17 representa la secuencia de ADN del gen BVH-NTHI9 de la cepa 12085 de *H. influenzae* no tipable; SEQ ID NO: 17.

- 5 La Figura 18 representa la secuencia aminoacídica deducida de BVH-NTHI9 completo de la cepa 12085 de *H. influenzae* no tipable; SEQ ID NO: 18.

La Figura 19 representa la secuencia de ADN del gen BVH-NTHI10 de la cepa 12085 de *H. influenzae* no tipable; SEQ ID NO: 19.

- 10 La Figura 20 representa la secuencia aminoacídica deducida de BVH-NTHI10 completo de la cepa 12085 de *H. influenzae* no tipable; SEQ ID NO: 20.

La Figura 21 representa la secuencia de ADN del gen BVH-NTHI11 de la cepa 12085 de *H. influenzae* no tipable; SEQ ID NO: 21.

La Figura 22 representa la secuencia aminoacídica deducida de BVH-NTHI11 completo de la cepa 12085 de *H. influenzae* no tipable; SEQ ID NO: 22.

- 15 La Figura 23 representa la secuencia de ADN del gen BVH-NTHI12 de la cepa 12085 de *H. influenzae* no tipable; SEQ ID NO: 23.

La Figura 24 representa la secuencia aminoacídica deducida de BVH-NTHI12 completo de la cepa 12085 de *H. influenzae* no tipable; SEQ ID NO: 24.

- 20 La Figura 25 reproduce la comparación de las secuencias aminoacídicas predichas de marcos de lectura abiertos de BVH-NTHI1 de 12085, 10095, A18 y A108 de *H. influenzae* usando el programa Clustal W del software de análisis de secuencia MacVector (versión 6.5). Bajo el alineamiento, hay una línea de consenso en que los caracteres (*) representan residuos aminoacídicos idénticos y (.) representan residuos aminoacídicos conservados.

Descripción detallada de la invención

- 25 La presente invención proporciona polinucleótidos purificados y aislados que codifican polipéptidos de *H. influenzae* que pueden usarse para prevenir, tratar y/o diagnosticar infección por *H. influenzae*. La presente invención proporciona 12 polinucleótidos preferidos separados, definido cada uno individual y separadamente por una de las SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21 y 23. Se proporcionan adicionalmente en la presente invención 12 polipéptidos separados, definido cada uno individual y separadamente por una de las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 y 24. Los especialistas en la materia apreciarán que la invención incluye polinucleótidos que
- 30 codifican análogos tales como mutantes, variantes, homólogos y derivados de dichos polipéptidos, como se describe en la presente memoria en la presente solicitud de patente. La invención incluye también moléculas de ARN correspondientes a las moléculas de ADN de la invención. Además de moléculas de ADN y ARN, la invención incluye los correspondientes polipéptidos y anticuerpos monoespecíficos que se unen específicamente a dichos polipéptidos.

- 35 Según un aspecto, la presente invención proporciona un polinucleótido aislado que codifica un polipéptido que tiene al menos un 70% de identidad con un segundo polipéptido que comprende una secuencia elegida de las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 y 24 o fragmentos o análogos del mismo.

- Según un aspecto, la presente invención proporciona un polinucleótido aislado que codifica un polipéptido que tiene al menos un 80% de identidad con un segundo polipéptido que comprende una secuencia elegida de las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 y 24 o fragmentos o análogos del mismo.
- 40

Según un aspecto, la presente invención proporciona un polinucleótido aislado que codifica un polipéptido que tiene al menos un 85% de identidad con un segundo polipéptido que comprende una secuencia elegida de las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 y 24 o fragmentos o análogos del mismo.

- 45 Según un aspecto, la presente invención proporciona un polinucleótido aislado que codifica un polipéptido que tiene al menos un 90% de identidad con un segundo polipéptido que comprende una secuencia elegida de las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 y 24 o fragmentos o análogos del mismo.

Según un aspecto, la presente invención proporciona un polinucleótido aislado que codifica un polipéptido que tiene al menos un 95% de identidad con un segundo polipéptido que comprende una secuencia elegida de las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 y 24 o fragmentos o análogos del mismo.

- 50 Según un aspecto, la presente invención proporciona un polinucleótido aislado que codifica un polipéptido que comprende una secuencia elegida de las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 y 24 o fragmentos o análogos del mismo.

Según un aspecto, la presente se refiere a polinucleótidos que codifican un epítipo portador de una porción de un polipéptido que tiene una secuencia elegida de las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 y 24 o fragmentos o análogos de los mismos.

5 Según un aspecto, la presente se refiere a polinucleótidos que codifican un epítipo portador de una porción de un polipéptido que tiene una secuencia elegida de las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 y 24

Según un aspecto, la presente invención se refiere a porciones portadoras de epítipo de un polipéptido que tienen una secuencia elegida de las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 y 24 o fragmentos o análogos de las mismas.

10 Según un aspecto, la presente invención se refiere a porciones portadoras de epítipo de un polipéptido que tienen una secuencia elegida de las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 y 24.

Según un aspecto, la presente invención proporciona un polinucleótido aislado que codifica un polipéptido que tiene al menos un 70% de identidad con un segundo polipéptido que comprende una secuencia elegida de las SEQ ID NO : 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 y 24.

15 Según un aspecto, la presente invención proporciona un polinucleótido aislado que codifica un polipéptido que tiene al menos un 80% de identidad con un segundo polipéptido que comprende una secuencia elegida de las SEQ ID NO : 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 y 24.

Según un aspecto, la presente invención proporciona un polinucleótido aislado que codifica un polipéptido que tiene al menos un 85% de identidad con un segundo polipéptido que comprende una secuencia elegida de las SEQ ID NO : 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 y 24.

20 Según un aspecto, la presente invención proporciona un polinucleótido aislado que codifica un polipéptido que tiene al menos un 90% de identidad con un segundo polipéptido que comprende una secuencia elegida de las SEQ ID NO : 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 y 24.

25 Según un aspecto, la presente invención proporciona un polinucleótido aislado que codifica un polipéptido que tiene al menos un 95% de identidad con un segundo polipéptido que comprende una secuencia elegida de las SEQ ID NO : 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 y 24.

Según un aspecto, la presente invención proporciona un polinucleótido aislado que codifica un polipéptido que comprende un polinucleótido aislado que codifica un polipéptido que comprende una secuencia elegida de las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 y 24.

30 Según un aspecto, la presente se refiere a polinucleótidos que codifican una porción portadora de epítipo de un polipéptido que tiene una secuencia elegida de las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 y 24.

En una realización adicional, la presente invención se refiere también a polinucleótidos que codifican un polipéptido capaz de generar anticuerpos que tienen especificidad de unión por un polipéptido que tiene una secuencia elegida de las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 y 24 o fragmentos o análogos de los mismos.

35 En una realización adicional, la presente invención se refiere también a polinucleótidos que codifican un polipéptido capaz de generar anticuerpos que tienen especificidad de unión por un polipéptido que tiene una secuencia elegida de las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 y 24.

El porcentaje de homología se define como la suma del porcentaje de identidad más el porcentaje de similitud o conservación del tipo de aminoácido.

40 Puede usarse un programa tal como el programa CLUSTAL para comparar secuencias aminoacídicas. Este programa compara secuencias aminoacídicas y encuentra el alineamiento óptimo insertando espacios en cualquier secuencia como sea apropiado. Es posible calcular la identidad o similitud aminoacídica (identidad más conservación del tipo de aminoácido) para un alineamiento óptimo. Un programa como BLASTx alineará el tramo más largo de secuencias similares y asignará un valor al ajuste. Es por tanto posible obtener una comparación en que se encuentran varias regiones de similitud, teniendo cada una una puntuación diferente. Ambos tipos de análisis de identidad están contemplados en la presente invención.

45 En una realización adicional, los polipéptidos de acuerdo con la presente invención son antigénicos.

En una realización adicional, los polipéptidos de acuerdo con la presente invención son inmunogénicos.

En una realización adicional, los polipéptidos de acuerdo con la presente invención pueden desencadenar una respuesta inmunitaria en un individuo.

En una realización adicional, la presente invención se refiere también a polipéptidos que son capaces de crear anticuerpos que tienen especificidad de unión por polipéptidos de la presente invención como se definen anteriormente.

- 5 En una realización adicional, la presente invención se refiere también a polipéptidos capaces de generar anticuerpos que tienen especificidad de unión por un polipéptido que tiene una secuencia elegida de las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 y 24 o fragmentos o análogos de los mismos.

En una realización adicional, la presente invención se refiere también a polipéptidos capaces de generar anticuerpos que tienen especificidad de unión por un polipéptido que tiene una secuencia elegida de las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 y 24.

- 10 Un anticuerpo que "tiene especificidad de unión" es un anticuerpo que reconoce y se une al polipéptido seleccionado, pero que no reconoce ni se une sustancialmente a otras moléculas de la muestra, por ejemplo, una muestra biológica. La unión específica puede medirse usando un ensayo ELISA en que el polipéptido seleccionado se usa como antígeno.

- 15 De acuerdo con la presente invención, "protección" en los estudios biológicos se define como un aumento significativo de la curva, índice o periodo de supervivencia. El análisis estadístico que usa la prueba de rangos logarítmicos para comparar curvas de supervivencia y la prueba exacta de Fisher para comparar índices de supervivencia y números de días hasta la muerte, respectivamente, podría ser útil para calcular los valores de P y determinar si la diferencia entre los dos grupos es estadísticamente significativa. Los valores de P de 0,05 se consideran no significativos.

- 20 En un aspecto adicional de la invención, se proporcionan fragmentos antigénicos/inmunogénicos de los polipéptidos de la invención, o de análogos de los mismos.

- Los fragmentos de la presente invención deberían incluir una o más de dichas regiones epitópicas o ser suficientemente similares a dichas regiones para retener sus propiedades antigénicas/inmunogénicas. Por tanto, para los fragmentos según la presente invención, el grado de identidad es quizás irrelevante, puesto que pueden ser 25 100% idénticos a una parte particular de un polipéptido o análogo del mismo como se describe en la presente memoria. La presente invención proporciona adicionalmente fragmentos que tienen al menos 10 residuos aminoácidos contiguos de las secuencias polipeptídicas de la presente invención. En una realización, al menos 15 residuos aminoácidos contiguos. En una realización, al menos 20 residuos aminoácidos contiguos.

La cuestión clave, de nuevo, es que el fragmento retenga las propiedades antigénicas/inmunogénicas.

- 30 El especialista en la materia apreciará que los fragmentos, análogos o derivados de los polipéptidos de la invención encontrarán también uso en el contexto de la presente invención, concretamente como material antigénico/inmunogénico. Por tanto, por ejemplo, los polipéptidos que incluyen una o más adiciones, deleciones, sustituciones o similares están englobados por la presente invención.

- 35 Como se usa en la presente memoria, los "fragmentos", "análogos" o "derivados" de los polipéptidos de la invención incluyen aquellos polipéptidos en que uno o más de los residuos aminoácidos están sustituidos con un residuo aminoácido conservado (preferiblemente conservado) y que pueden ser naturales o no naturales. En una realización, los derivados y análogos de polipéptidos de la invención tendrán aproximadamente un 70% de identidad con aquellas secuencias ilustradas en las figuras o fragmentos de los mismos. Ese decir, un 70% de los residuos son iguales. En una realización adicional, los polipéptidos tendrán más de un 80% de identidad. En una realización 40 adicional, los polipéptidos tendrán más de un 90% de identidad. En una realización adicional, los polipéptidos tendrán más de un 95% de identidad. En una realización adicional, los análogos de polipéptidos de la invención tendrán menos de aproximadamente 20 sustituciones, modificaciones o deleciones de residuos aminoácidos y más preferiblemente menos de 10.

- 45 En una realización, los derivados y análogos de polipéptidos de la invención tendrán aproximadamente un 70% de homología con aquellas secuencias ilustradas en las figuras o fragmentos de los mismos. En una realización adicional, los derivados y análogos de polipéptidos tendrán más de un 80% de homología. En una realización adicional, los derivados y análogos de polipéptidos tendrán más de un 90% de homología. En una realización adicional, los derivados y análogos de polipéptidos tendrán más de un 95% de homología. En una realización 50 adicional, los derivados y análogos de polipéptidos tendrán más de un 99% de homología. En una realización adicional, los derivados y análogos de polipéptidos de la invención tendrán menos de aproximadamente 20 sustituciones, modificaciones o deleciones de residuos aminoácidos y más preferiblemente menos de 10.

- Según un aspecto adicional, la invención proporciona polipéptidos que tienen al menos un 70% de identidad con un segundo polipéptido que tiene una secuencia aminoácida elegida de las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 y 24 o fragmentos o análogos de los mismos.

Según un aspecto adicional, la invención proporciona polipéptidos que tienen al menos un 80% de identidad con un segundo polipéptido que tiene una secuencia aminoacídica elegida de las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 y 24 o fragmentos o análogos de los mismos.

- 5 Según un aspecto adicional, la invención proporciona polipéptidos que tienen al menos un 85% de identidad con un segundo polipéptido que tiene una secuencia aminoacídica elegida de las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 y 24 o fragmentos o análogos de los mismos.

Según un aspecto adicional, la invención proporciona polipéptidos que tienen al menos un 90% de identidad con un segundo polipéptido que tiene una secuencia aminoacídica elegida de las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 y 24 o fragmentos o análogos de los mismos.

- 10 Según un aspecto adicional, la invención proporciona polipéptidos que tienen al menos un 95% de identidad con un segundo polipéptido que tiene una secuencia aminoacídica elegida de las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 y 24 o fragmentos o análogos de los mismos.

Según un aspecto adicional, la invención proporciona polipéptidos que comprenden una secuencia elegida de las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 y 24 o fragmentos o análogos de los mismos.

- 15 Según un aspecto adicional, la invención proporciona polipéptidos caracterizados por una secuencia elegida de las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 y 24 o fragmentos o análogos de los mismos.

Según un aspecto adicional, la invención proporciona polipéptidos que tienen al menos un 70% de identidad con un segundo polipéptido que tiene una secuencia aminoacídica elegida de las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 y 24.

- 20 Según un aspecto adicional, la invención proporciona polipéptidos que tienen al menos un 80% de identidad con un segundo polipéptido que tiene una secuencia aminoacídica elegida de las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 y 24.

Según un aspecto adicional, la invención proporciona polipéptidos que tienen al menos un 85% de identidad con un segundo polipéptido que tiene una secuencia aminoacídica elegida de las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 y 24.

- 25 Según un aspecto adicional, la invención proporciona polipéptidos que tienen al menos un 90% de identidad con un segundo polipéptido que tiene una secuencia aminoacídica elegida de las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 y 24.

Según un aspecto adicional, la invención proporciona polipéptidos que tienen al menos un 95% de identidad con un segundo polipéptido que tiene una secuencia aminoacídica elegida de las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 y 24.

- 30 Según un aspecto adicional, la invención proporciona polipéptidos que comprenden una secuencia elegida de las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 y 24.

Según un aspecto adicional, la invención proporciona polipéptidos caracterizados por una secuencia elegida de las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 y 24.

- 35 Estas sustituciones son aquellas que tienen una influencia mínima sobre la estructura secundaria y la naturaleza hidropática del polipéptido. Las sustituciones preferidas son aquellas conocidas en la materia como conservadas, concretamente, los residuos sustituidos comparten propiedades físicas o químicas tales como hidrofobicidad, tamaño, carga o grupos funcionales. Estos incluyen sustituciones tales como aquellas descritas por Dayhoff, M. en "Atlas of Protein Sequence and Structure" 5, 1978 y por Argos, P. en EMBO J. 8, 779-785, 1989. Por ejemplo, los aminoácidos, tanto naturales como no naturales, pertenecientes a uno de los siguientes grupos representan cambios conservativos:

ala, pro, gly, gln, asn, ser, thr, val;

cys, ser, tyr, thr;

- 45 val, ile, leu, met, ala, phe;

lys, arg, orn, his;

y phe, tyr, trp, his.

Las sustituciones preferidas incluyen también sustituciones de enantiómeros D por los correspondientes L-aminoácidos.

Preferiblemente un fragmento, análogo o derivado de un polipéptido de la invención comprenderá al menos una región antigénica, concretamente al menos un epítipo.

En un enfoque alternativo, los análogos podrían ser polipéptidos de fusión que incorporen restos que facilitan la purificación, por ejemplo, marcando eficazmente el polipéptido deseado. Puede ser necesario retirar el "marcage" o puede ser el caso de que el polipéptido de fusión mismo retenga suficiente antigenicidad para ser útil.

Por tanto, lo importante para análogos, derivados y fragmentos es que posean al menos un grado de antigenicidad/inmunogenicidad de la proteína o péptido del que derivan.

Se incluyen también polipéptidos que tienen fusionados con los mismos otros compuestos que alteran las propiedades biológicas o farmacológicas del polipéptido, concretamente, polietilenglicol (PEG) para aumentar la semivida, secuencias aminoácidas líder o secretoras para facilitar la purificación, preprosecuencias y prosecuencias y (poli)sacáridos.

Además, en aquellas situaciones en que las regiones aminoácidas se encuentra que son polimórficas, puede ser deseable variar uno o más aminoácidos particulares para imitar más eficazmente los diferentes epítipos de las diferentes cepas de *H. influenzae*.

Además, los polipéptidos de la presente invención pueden modificarse mediante acilación del NH₂ terminal (por ejemplo, mediante acetilación o amidación de ácido tioglicólico, amidación del carboxilo terminal, por ejemplo con amoniaco o metilamina), proporcionando estabilidad, hidrofobicidad aumentada para ligamiento o unión con un soporte u otra molécula.

Se contemplan también multímeros heteropeptídicos y homopolipeptídicos de los fragmentos y análogos polipeptídicos. Estas formas poliméricas incluyen, por ejemplo, uno o más polipéptidos que se han reticulado con reticulantes tales como avidina/biotina, glutaraldehído o dimetilsuperimidato. Dichas formas poliméricas incluyen también polipéptidos que contienen dos o más secuencias contiguas en serie o invertidas, producidas a partir de ARNm multicistrónico generado por tecnología de ADN recombinante.

En una realización adicional, la presente invención se refiere también a polipéptidos quiméricos que comprenden uno o más polipéptidos o fragmentos o análogos o derivados de los mismos como se definen en las figuras de la presente solicitud.

En una realización adicional, la presente invención se refiere también a polipéptidos quiméricos que comprenden dos o más polipéptidos que tienen una secuencia elegida de las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 y 24 o fragmentos o análogos de los mismos; a condición de que los polipéptidos estén ligados formando un polipéptido quimérico.

En una realización adicional, la presente invención se refiere también a polipéptidos quiméricos que comprenden dos o más polipéptidos que tienen una secuencia elegida de las SEQ ID NO : 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 y 24; a condición de que los polipéptidos estén ligados formando un polipéptido quimérico.

Para conseguir la formación de polímeros antigénicos (concretamente, multímeros sintéticos), pueden utilizarse polipéptidos que tienen grupos bishalogenoacetilo, haluros de nitroarilo o similares, en que los reactivos son específicos de grupos tio. Por lo tanto, la conexión entre dos grupos mercapto de los diferentes péptidos puede ser un enlace sencillo o un puede estar compuesta por un grupo ligante de al menos 2, típicamente al menos 4 y no más de 16, pero habitualmente no más de aproximadamente 14 átomos de carbono.

En una realización particular, los fragmentos o análogos polipeptídicos de la invención no contienen un residuo de inicio de metionina (Met). Preferiblemente, los polipéptidos no incorporarán una secuencia líder ni secretora (secuencia señal). La porción de señal de un polipéptido de la invención puede determinarse según técnicas de biología molecular establecidas. En general, el polipéptido de interés puede aislarse de cultivo de *Haemophilus* y secuenciarse posteriormente para determinar el residuo inicial de la proteína madura y por lo tanto la secuencia del polipéptido maduro.

La siguiente tabla A describe las secuencias señal de los polipéptidos de la invención como se describen en las figuras.

Polipéptido	SEQ ID NO	Señal de secreción
BVH-NTHI1	2	MPVIRQVVFYDSLGTGEQTKMKKFAGLITASFVA
BVH-NTHI2	4	MKKLLKISAVSAALLSAPMMA
BVH-NTHI3	6	MLMKLKATLTAAATLVLA
BVH-NTHI4	8	MMNRRHFIQIGATSILALSANRFAMA

BVH-NTHI5	10	MKKIILTSLGLLTAWSAQI
BVH-NTHI6	12	Sin señal de secreción
BVH-NTHI7	14	MKKFLIAILLILILAGAA
BVH-NTHI8	16	MKMKKFILKSFLLATLGCVAFASMAQA
BVH-NTHI9	18	MTMFKKISVLFFTLILAGCSSWS
BVH-NTHI10	20	MSILLQGERFKRLMPILLSMALAGCSNLLG
BVH-NTHI11	22	MIRKLMKTPPFFTALFASAIFTLSVSQGVLG
BVH-NTHI12	24	MKLKQLFAITAIA

Según otro aspecto de la invención, se proporciona también (i) una composición de material que contiene un polipéptido de la invención, junto con un portador, diluyente o coadyuvante; (ii) una composición farmacéutica que comprende un polipéptido de la invención y un portador, diluyente o coadyuvante; (iii) una vacuna que comprende un polipéptido de la invención y un portador, diluyente o coadyuvante; (iv) un procedimiento para inducir una respuesta inmunitaria contra *Haemophilus*, en un individuo, mediante la administración al individuo de una cantidad inmunogénicamente eficaz de un polipéptido de la invención para desencadenar una respuesta inmunitaria, por ejemplo, una respuesta inmunitaria protectora contra *Haemophilus*; y particularmente (v) un procedimiento para prevenir y/o tratar una infección por *Haemophilus* mediante la administración de una cantidad profiláctica o terapéutica de un polipéptido de la invención a un individuo necesitado.

Antes de la inmunización, los polipéptidos de la invención pueden acoplarse o conjugarse también con proteínas portadoras tales como toxina del tétanos, toxina de la difteria, antígeno de superficie del virus de la hepatitis B, antígeno VP1 del virus de poliomielitis o cualquier otra toxina o antígeno vírico o bacteriano o cualquier proteína adecuada para estimular el desarrollo de una respuesta inmunitaria más fuerte. Este acoplamiento o conjugación puede realizarse química o genéticamente. Está disponible una descripción más detallada de la conjugación de péptido-portador en Van Regenmortel, M.H.V., Briand J.P., Muller S., Plaué S., "Synthetic Polypeptides as antigens" en "Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology", vol. 19 (ed.) Burdou, R.H. & Van Knippenberg P.H. (1988), Elsevier Nueva York.

Según otro aspecto, se proporcionan también composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más polipéptidos de *Haemophilus* de la invención en una mezcla con un portador, diluyente o coadyuvante farmacéuticamente aceptable. Los coadyuvantes adecuados incluyen (1) formulaciones de aceite en agua tales como MF59TM, SAFTM, RibiTM; (2) coadyuvante de Freund completo o incompleto; (3) sales, concretamente, AlK(SO₄)₂, AlNa(SO₄)₂, AlNH₄(SO₄)₂, Al(OH)₃, AlPO₄, sílice, caolín; (4) derivados de saponina tales como StimulonTM o partículas generadas a partir de los mismos tales como ISCOM (complejos inmunoestimulantes); (5) citocinas tales como interleucinas, interferones, factor estimulante de colonia de macrófagos (M-CSF), factor de necrosis tumoral (TNF); (6) otras sustancias tales como polinucleótidos carbonados, concretamente, poli IC y poli AU, toxina del cólera destoxificada (CTB) y toxina termolábil de *E.coli* para inducción de inmunidad mucosa. Está disponible una descripción más detallada de los coadyuvantes en una revisión de M.Z.I Khan *et al.* en "Pharmaceutical Research", vol. 11, n° 1 (1994) pág. 2-11, y también en otra revisión de Gupta *et al.*, en "Vaccine", vol. 13, n° 14, pág. 1263-1276 (1995) y en el documento WO 99/24578. Los coadyuvantes preferidos incluyen QuilATM, QS21TM, AlhydrogelTM y AdjuphosTM.

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden administrarse por vía parenteral mediante inyección, infusión rápida, absorción nasofaríngea, dermoabsorción o por vía bucal u oral.

Las composiciones farmacéuticas de la invención se usan para el tratamiento o la profilaxis de infección y/o enfermedades por *Haemophilus* y síntomas mediados por infección por *Haemophilus* como se describen en P.R. Murray (redactor jefe), E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover y R.H. Yolken. "Manual of Clinical Microbiology", ASM Press, Washington, D.C. 7ª edición, 1999, pág. 1481-1482, que se incorpora a la presente memoria como referencia. En una realización, las composiciones farmacéuticas de la presente invención se usan para el tratamiento o la profilaxis de otitis media (aguda o recurrente), sinusitis, bronquitis, neumonía, meningitis y bacteremia. En una realización, las composiciones farmacéuticas de la invención se usan para el tratamiento o la profilaxis de infección y/o enfermedades por *Haemophilus* y síntomas mediados por infección por *Haemophilus*. En una realización adicional, la infección por *Haemophilus* es por *Haemophilus influenzae*. En una realización adicional, la infección por *Haemophilus* es por *Haemophilus influenzae* no tipable. En una realización adicional, la infección por *Haemophilus* es por *Haemophilus influenzae* tipable.

Como se usa en la presente solicitud, el término "individuo" incluye mamíferos. En una realización adicional, el mamífero es humano.

En una realización particular, las composiciones farmacéuticas se administran a aquellos individuos con riesgo de infección por *H. influenzae* tales como lactantes, ancianos e individuos inmunodeficientes.

5 Las composiciones farmacéuticas están preferiblemente en forma de dosificación unitaria de aproximadamente 0,001 a 100 µg/kg (antígeno/peso corporal) y más preferiblemente de 0,01 a 10 µg/kg y lo más preferiblemente de 0,1 a 1 µg/kg de 1 a 3 veces, con un intervalo de aproximadamente 1 a 6 semanas entre inmunizaciones.

Las composiciones farmacéuticas están preferiblemente en forma de dosificación unitaria de aproximadamente 0,1 µg a 10 mg, y más preferiblemente de 1 µg a 1 mg y lo más preferiblemente de 10 a 100 µg de 1 a 3 veces con un intervalo de aproximadamente 1 a 6 semanas entre inmunizaciones.

10 En una realización, los polinucleótidos son aquellos ilustrados en las SEQ ID N°: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21 y 23, que pueden incluir los marcos abiertos de lectura (ORF) que codifican los polipéptidos de la invención.

En una realización adicional, los polinucleótidos son aquellos ilustrados en las SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23 que codifican polipéptidos de la invención.

15 Se apreciará que las secuencias polinucleotídicas ilustradas en las figuras pueden alterarse con codones degenerados pero seguir codificando el polipéptido de la invención. Por consiguiente, la presente invención proporciona adicionalmente polinucleótidos descritos anteriormente en la presente memoria (o la secuencia complementaria de los mismos) que tienen un 50% de identidad entre secuencias. En una realización, al menos un 70% de identidad entre secuencias. En una realización, al menos un 75% de identidad entre secuencias. En una realización, al menos un 80% de identidad entre secuencias. En una realización, al menos un 85% de identidad entre secuencias. En una realización, al menos un 90% de identidad entre secuencias. En una realización adicional, los polinucleótidos son hibridables en condiciones rigurosas, concretamente que tienen al menos un 95% de identidad. En una realización adicional, más de un 97% de identidad.

25 Las condiciones rigurosas adecuadas para hibridación pueden determinarse fácilmente por un especialista en la materia (véanse, por ejemplo, Sambrook *et al.*, (1989) "Molecular cloning : A Laboratory Manual", 2ª ed., Cold Spring Harbor, N.Y.; "Current Protocols in Molecular Biology", (1999) editado por Ausubel F.M. *et al.*, John Wiley & Sons, Inc., N.Y.).

En una realización adicional, la presente invención proporciona polinucleótidos que hibridan en condiciones rigurosas con

- (a) una secuencia de ADN que codifica un polipéptido o
- (b) el complemento de la secuencia de ADN que codifica un polipéptido, en la que dicho polipéptido comprende las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24 o fragmentos o análogos del mismo.

En una realización adicional, la presente invención proporciona polinucleótidos que hibridan en condiciones rigurosas con

- (a) una secuencia de ADN que codifica un polipéptido o
- (b) el complemento de la secuencia de ADN que codifica un polipéptido, en la que dicho polipéptido comprende al menos 10 residuos aminoácidos contiguos de un polipéptido que comprende las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24 o fragmentos o análogos de los mismos.

En una realización adicional, la presente invención proporciona polinucleótidos que hibridan en condiciones rigurosas con

- (a) una secuencia de ADN que codifica un polipéptido o
- (b) el complemento de la secuencia de ADN que codifica un polipéptido, en la que dicho polipéptido comprende las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24.

En una realización adicional, la presente invención proporciona polinucleótidos que hibridan en condiciones rigurosas con

- (a) una secuencia de ADN que codifica un polipéptido o
- (b) el complemento de la secuencia de ADN que codifica un polipéptido, en la que dicho polipéptido comprende al menos 10 residuos aminoácidos contiguos de un polipéptido que comprende las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24.

Como se apreciará fácilmente por el especialista en la materia, los polinucleótidos incluyen tanto ADN como ARN.

50 La presente invención incluye también polinucleótidos complementarios del polinucleótido descrito en la presente solicitud.

En un aspecto adicional, los polinucleótidos que codifican polipéptidos de la invención, o fragmentos o análogos de los mismos, pueden usarse en un procedimiento de inmunización de ADN. Es decir, pueden incorporarse a un vector que es replicable y expresable tras inyección, produciendo así el polipéptido antigénico *in vivo*. Por ejemplo, los polinucleótidos pueden incorporarse a un vector de plásmido bajo el control del promotor de CMV, que es funcional en células eucarióticas. Preferiblemente, el vector se inyecta por vía intramuscular.

Según otro aspecto, se proporciona un proceso o procedimiento de fabricación para la producción de polipéptidos de la invención mediante técnicas recombinantes expresando un polinucleótido que codifica dicho polipéptido en una célula hospedadora y recuperando el producto polipeptídico expresado. Como alternativa, los polipéptidos pueden producirse según técnicas químicas sintéticas establecidas, concretamente, síntesis en fase de solución o fase sólida de oligopéptidos, que se ligan produciendo el polipéptido completo (ligamiento de bloques).

Se describen procedimientos generales para la obtención y evaluación de polinucleótidos y polipéptidos en las siguientes referencias: Sambrook *et al.*, (1989) "Molecular cloning : A Laboratory Manual", 2ª ed, Cold Spring Harbor, N.Y.; Current Protocols in Molecular Biology, (1999) editado por Ausubel F.M. *et al.*, John Wiley & Sons, Inc., N.Y.; "PCR Cloning Protocols, from Molecular Cloning to Genetic Engineering", (1997) editado por White B.A., Humana Press, Totowa, Nueva Jersey, 490 páginas; "Protein Purification, Principles and Practices", (1993) Scopes R.K., Springer-Verlag, N.Y., 3ª edición, 380 páginas; "Current Protocols in Immunology", (1999) editado por Coligan J.E. *et al.*, John Wiley & Sons Inc., N.Y., que se incorporan a la presente memoria como referencia.

Para producción recombinante, se transfectan células hospedadoras con vectores que codifican los polipéptidos de la invención, y se cultivan entonces en medios nutrientes modificados como sea apropiado para activar promotores, seleccionar transformantes o amplificar genes. Los vectores adecuados son aquellos que son viables y replicables en el hospedador elegido, e incluyen secuencias de ADN cromosómico, no cromosómico y sintético, por ejemplo, plásmidos bacterianos, ADN de fago, baculovirus, plásmidos de levadura, vectores derivados de combinaciones de plásmidos y ADN de fago. La secuencia polipeptídica puede incorporarse al vector en el sitio apropiado usando enzimas de restricción de tal modo que se ligue operativamente con una región de control de la expresión que comprenda un promotor, un sitio de unión a ribosoma (región de consenso o secuencia de Shine-Dalgarno) y, opcionalmente, un operador (elemento de control). Pueden seleccionarse componentes individuales de la región de control de la expresión que sean apropiados para un hospedador y vector dados según los principios de biología molecular establecidos (Sambrook *et al.*, (1989) "Molecular Cloning: A Laboratory manual", 2ª ed., Cold Spring Harbor, N.Y.; "Current Protocols in Molecular Biology", (1999) editado por Ausubel F.M. *et al.*, John Wiley & Sons, Inc., N.Y., incorporados a la presente memoria como referencia). Los promotores adecuados incluyen, pero sin limitación, el promotor LTR o SV40, los promotores, lac, tac o trp de *E. coli* y el promotor P_L del fago lambda. Los vectores incorporarán preferiblemente un origen de replicación así como marcadores de selección, concretamente gen de resistencia a ampicilina. Los vectores bacterianos adecuados incluyen pET, pQE70, pQE60, pQE-9, pD10 phagescript, psiX174, pbluescript SK, pbsks, pH8A, pNH16a, pNH18A, pNH46A, ptrc99a, pKK223-3, pKK233-3, pDR540, pRIT5 y los vectores eucarióticos pBlueBacIII, pWLNEO, pSV2CAT, pOG44, pXT1, pSG, pSVK3, pBPV, pMSG y pSVL. Las células hospedadoras pueden ser bacterianas, concretamente, *E. coli*, *Bacillus subtilis*, *Streptomyces*; fúngicas, concretamente *Aspergillus niger*, *Aspergillus nidulans*; de levadura, concretamente *Saccharomyces* o eucarióticas, concretamente CHO, COS.

Tras la expresión del polipéptido en cultivo, se recogen típicamente las células por centrifugación y después se desestabilizan por medios físicos o químicos (si el polipéptido expresado no se secreta a los medios) y se retiene el extracto bruto resultante para aislar el polipéptido de interés. La purificación del polipéptido de los medios de cultivo o lisado puede conseguirse mediante técnicas establecidas dependiendo de las propiedades de los polipéptidos, concretamente usando precipitación con sulfato de amonio o etanol, extracción ácida, cromatografía de intercambio aniónico o catiónico, cromatografía con fosfocelulosa, cromatografía por interacción hidrofoba, cromatografía con hidroxipatito y cromatografía con lectina. La purificación final puede conseguirse usando HPLC.

El polipéptido puede expresarse con o sin una secuencia líder o de secreción. En el primer caso, la líder puede retirarse usando procesamiento postraducciona (véanse los documentos US. 4.431.739, US 4.425.437 y US 4.338.397 incorporados a la presente como referencia) o retirarse químicamente después de purificar el polipéptido expresado.

Según un aspecto adicional, los polipéptidos de *Haemophilus* de la invención pueden usarse en un ensayo de diagnóstico para infección por *H. influenzae*, en particular para infección por *H. influenzae*. Son posibles varios procedimientos de diagnóstico, por ejemplo, para detectar el organismo *Haemophilus* en una muestra biológica, puede seguirse el siguiente procedimiento:

a. obtener una muestra biológica de un individuo;

b. incubar un anticuerpo o fragmento del mismo reactivo con un polipéptido de *Haemophilus* de la invención con la muestra biológica, formando una mezcla, y

c. detectar el anticuerpo o fragmento unido específicamente en la mezcla, que indica la presencia de *Haemophilus*.

Como alternativa, puede efectuarse un procedimiento para la detección de un anticuerpo específico de un antígeno de *H. influenzae* en una muestra biológica que contiene o se sospecha que contiene dicho anticuerpo, como sigue:

- a. obteniendo una muestra biológica de un individuo;
- b. incubando uno o más polipéptidos de *H. influenzae* de la invención o fragmentos de los mismos con la muestra biológica, formando una mezcla y
- c. detectando el antígeno o fragmento unidos específicamente en la mezcla, que indica la presencia de anticuerpo específico de *H. influenzae*.

Un especialista en la materia reconocerá que este ensayo de diagnóstico puede tomar varias formas, incluyendo un ensayo inmunológico tal como un ensayo de inmunosorción ligado a enzima (ELISA), un radioinmunoensayo o un ensayo de aglutinación con látex, esencialmente para determinar si están presentes en un organismo anticuerpos específicos de los polipéptidos.

Según un aspecto adicional, la invención se refiere a un procedimiento para el tratamiento profiláctico o terapéutico de otitis media, sinusitis, bronquitis, neumonía y meningitis y bacteremia, que comprende administrar a un individuo una cantidad terapéutica o profiláctica de una composición de la invención.

Según un aspecto adicional, la invención se refiere a un procedimiento para el tratamiento profiláctico o terapéutico de una infección bacteriana por *Haemophilus influenzae* en un individuo susceptible de infección por *Haemophilus influenzae*, que comprende administrar a dicho individuo una cantidad terapéutica o profiláctica de una composición de la invención. En una realización adicional, *Haemophilus influenzae* es *Haemophilus influenzae* no tipable. En una realización adicional, *Haemophilus influenzae* es *Haemophilus influenzae* tipable.

Según un aspecto adicional, la invención se refiere a un procedimiento para el diagnóstico de otitis media, sinusitis, bronquitis, neumonía y meningitis y bacteremia, que comprende administrar a un individuo una cantidad terapéutica o profiláctica de una composición de la invención.

Según un aspecto adicional, la invención se refiere a un procedimiento para el diagnóstico de una infección bacteriana por *Haemophilus influenzae* en un individuo susceptible de infección por *Haemophilus influenzae*, que comprende administrar a dicho individuo una cantidad terapéutica o profiláctica de una composición de la invención. En una realización adicional, *Haemophilus influenzae* es *Haemophilus influenzae* no tipable. En una realización adicional, *Haemophilus influenzae* es *Haemophilus influenzae* tipable.

Según un aspecto adicional, la invención se refiere al uso de una composición farmacéutica de la invención para el tratamiento profiláctico o terapéutico de infección por *Haemophilus*, que comprende administrar a dicho individuo una cantidad profiláctica o terapéutica de la composición.

Según un aspecto adicional, los polipéptidos de *Haemophilus* de la invención pueden usarse en un kit que comprende los polipéptidos de la invención para la detección del diagnóstico de infección por *Hameophilus*.

Las secuencias de ADN que codifican polipéptidos de la invención pueden usarse también para diseñar sondas de ADN para uso en la detección de la presencia de *H. influenzae* en una muestra biológica sospechosa de contener dichas bacterias. El procedimiento de detección de esta invención comprende:

- a. obtener la muestra biológica de un individuo;
- b. incubar una o más sondas de ADN que tienen una secuencia de ADN que codifica un polipéptido de la invención o fragmentos de los mismos con la muestra biológica, formando una mezcla; y
- c. detectar una sonda de ADN unida específicamente en la mezcla, que indica la presencia de bacterias *H. influenzae*.

Las sondas de ADN de esta invención pueden usarse también para detectar la *H. influenzae* en circulación (concretamente, ácidos nucleicos de *H. influenzae*) en una muestra, por ejemplo usando una reacción en cadena de la polimerasa, como procedimiento de diagnóstico de infecciones por *H. influenzae*. La sonda puede sintetizarse usando técnicas convencionales y puede inmovilizarse sobre una fase sólida o puede marcarse con un marcaje detectable. Es una sonda de ADN preferida para esta aplicación un oligómero que tenga una secuencia complementaria de al menos aproximadamente 6 nucleótidos contiguos de los polipéptidos de *H. influenzae* de la invención.

Otro procedimiento de diagnóstico para la detección de *H. influenzae* en un individuo comprende:

- a. marcar un anticuerpo reactivo con un polipéptido de la invención o fragmento del mismo con un marcaje detectable;
- b. administrar el anticuerpo marcado o fragmento marcado al individuo; y

- c. detectar el anticuerpo marcado unido específicamente o fragmento marcado en el individuo, que indica la presencia de *H. influenzae*.

Un aspecto adicional de la invención es el uso de polipéptidos de *Haemophilus* de la invención como inmunógenos para la producción de anticuerpos específicos para el diagnóstico, y en particular, el tratamiento de infección por *H. influenzae*. Los anticuerpos adecuados pueden determinarse usando procedimientos de cribado apropiados, por ejemplo midiendo la capacidad de un anticuerpo particular de proteger pasivamente frente a infección por *H. influenzae* en un modelo de ensayo. Es un ejemplo de modelo animal el modelo de ratón descrito en el ejemplo de la presente memoria. El anticuerpo puede ser un anticuerpo entero o un fragmento de unión a antígeno del mismo, y puede pertenecer a cualquier clase de inmunoglobulina. El anticuerpo o fragmento puede ser de origen animal, específicamente de origen mamífero, y más específicamente de origen de murina, rata o humano. Puede ser un anticuerpo natural o un fragmento del mismo, o si se desea, un anticuerpo recombinante o fragmento de anticuerpo. El término anticuerpo o fragmento de anticuerpo recombinante significa anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se ha producido usando técnicas de biología molecular. El anticuerpo o fragmento de anticuerpo puede ser policlonal o preferiblemente monoclonal. Puede ser específico de una serie de epítopos asociados a polipéptidos de *H. influenzae*, pero es preferiblemente específico de uno.

Es un aspecto adicional de la invención el uso de una composición farmacéutica de la invención para el tratamiento profiláctico o terapéutico de infección por *Haemophilus*, que comprende administrar a dicho individuo una cantidad profiláctica o terapéutica de la composición.

A menos que se definan de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente memoria tienen el mismo significado que se entiende comúnmente por un especialista en la materia a la que pertenece esta invención.

AISLAMIENTO DE POLIPÉPTIDOS DE *H. INFLUENZAE* NO TIPABLE (NTHI) E IDENTIFICACIÓN DE GENES QUE CODIFICAN ESTOS POLIPÉPTIDOS

AISLAMIENTO DE POLIPÉPTIDOS DE NTHI EXPUESTOS EN SUPERFICIE

Cepas bacterianas

Se proporcionaron los aislamientos clínicos de *H. influenzae* no tipable 12085 y 10095 por D.M. Granoff (St-Louis, Missouri) y B-20, A18, A108, C-98, C-26 y B-31 por el Centre de Recherche en Infectiologie du Centre Hospitalier de l'Université Laval. Se aisló *H. influenzae* no tipable 12085 de la sangre de un niño con infección del tracto respiratorio inferior en Pakistán.

Se usó DH5 α de *Escherichia coli* (GIBCO BRL, Burlington, Ontario) como cepa hospedadora para el ADN recombinante. Se usó XL1-Blue MRF' de *E. coli* (Stratagene, LaJolla, California) como cepa hospedadora para infección con el vector de fago lambda ZAP Express. Se usó XL0LR de *E. coli* (Stratagene) como cepa hospedadora para infección con fago lambda filamentoso Zap Express escindido *in vivo*.

Antisueros

Se produjeron antisueros de ratón después de periodos de tres semanas de inmunización subcutánea con proteínas de membrana externa en presencia de coadyuvante de Freund completo o incompleto (Cedarlane Laboratories Ltd, Hornby, Canadá). Se recogieron los sueros 21 días después de la inmunización terciaria.

Se seleccionaron 4 antisueros humanos basándose en su reactividad por ELISA y transferencia Western sobre 12085 de *H. influenzae* no tipable termoinactivada.

Construcción y cribado de una colección de *H. influenzae*

Se extrajo ADN de 12085 de *H. influenzae* no tipable usando un kit de extracción genómica (QIAgen). Se digirió parcialmente el ADN con Tsp509I y se ligó con brazos del fago lambda ZAP-Express digeridos con EcoRI (Stratagene). Se empaquetó el ligamiento *in vitro* con extractos Gigapack según las recomendaciones del fabricante (Stratagene). Se sembró el fago recombinante en XL1-Blue MRF' de *E. coli* a una densidad de $2,5 \times 10^4$ UFP/placa de 150 mm (de diámetro). Después de 8 horas de incubación, se recubrieron las placas con discos de nitrocelulosa y se procesaron las transferencias resultantes para inmunotransferencia con sueros humano y de ratón. Se escogieron los clones positivos y se purificaron en placa. Se recuperaron plásmidos pBK-CMV recombinantes que codifican genes de interés de *Haemophilus* del bacteriófago purificado usando el facto filamentoso auxiliar ExAssist y la cepa de *E. coli* resistente a lambda XL0LR mediante escisión *in vivo*.

Identificación de antígenos

La PAGE-SDS y el análisis de inmunotransferencia de lisados de estas *E. coli* recombinantes mostraron que cada clon expresaba uno o más polipéptidos que reaccionaban con antisueros humanos o de ratón.

Secuenciación de ADN y análisis de secuencia

Se secuenciaron los clones genómicos con el kit Taq DyeDeoxy Terminator Cycle Sequencing (Applied Biosystem, Foster City, California). Se diseñaron varios cebadores internos para secuenciar adicionalmente en los insertos clonados. Se efectuó el ensamblado de secuencia usando software Sequencher (Gene Codes Corporation, Ann Arbor, Michigan) y se efectuó el análisis de secuencia con software McVector (Oxford Molecular Ltd., Campbell, California).

Ejemplo 1

Este ejemplo ilustra la clonación de genes de *H. influenzae* no tipables en un vector de expresión.

Se amplificaron las regiones de codificación de los genes de *H. influenzae* no tipable BVH-NTH11 a BVH-NTH12 (SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21 y 23) mediante PCR (sistema de PCR DNA Thermal Cycler GeneAmp 2400, Perkin Elmer, San José, CA) a partir de ADN genómico de la cepa 12085 de *H. influenzae* no tipable usando los siguientes cebadores oligonucleotídicos que contenían extensiones de bases para la adición de los sitios de restricción *Nco*I (CCATGG), *Nde*I (CATATG), *Sal*I (GTCGAC) o *Xho*I (CTCGAG) (Tabla 1). Se purificaron los productos de PCR con geles de agarosa usando un kit de extracción en gel QIAquick de QIAgen siguiendo las instrucciones del fabricante (Chatsworth, CA), y se digirieron con endonucleasas de restricción apropiadas (Pharmacia Canada Inc, Baie d'Urfé, Canadá). Se digirieron igualmente los vectores pET (Novagen, Madison, Wisconsin) y se purificaron con geles de agarosa usando un kit de extracción en gel QIAquick de QIAgen (Chatsworth, California). Se ligaron los productos de PCR digeridos con el vector de expresión pET restringido con enzimas. Se transformaron los productos ligados en la cepa DH5 α de *E. coli* [ϕ 80d*lacZ* Δ M15 Δ (*lacZYA-argF*) U169 *endA1 recA1 hsdR17* ($r_K-m_K^+$) *deoR thi-1 supE44* λ -*gyrA96 relA1*] (Gibco BRL, Gaithersburg, Maryland) según el procedimiento de Simanis (Hanahan D. (1985) en: "DNA Cloning". D.M. Glover, ed., IRL Press, Washington D.C. vol. 1, pág. 109-135). Se purificaron los plásmidos que contenían genes recombinantes (rpET) usando un kit QIAgen (Chatsworth, California) y se secuenciaron los insertos de ADN (kit Taq Dye Deoxy Terminator Cycle Sequencing, ABI, Foster City, California).

Tabla 1. Lista de cebadores oligonucleotídicos para la clonación de ADN

Conjunto de cebadores de PCR	SEQ. ID	Secuencia 5'-3'	Posición nucleotídica*	Sitios de restricción	Cepa del vector de clonación
HAMJ342-	25	CAAGGCGTTTTCATATG	1-1137	<i>Nde</i> I	pET21-b+
HAMJ343	26	CCTGTCATTCGGCAGG CTAATTGACCTCGAGTT TTGCTGCTTTTAATTCT TGATAATATTG		<i>Xho</i> I	Tuner (DE3)
HAMJ345-	27	GTAAGGAAACATACATA TGAAAAAACTTTTAAAA ATTAGTG	1-1005	<i>Nde</i> I	pET21-b+
HAMJ344	28	TTAGAGACTCGAGTTTA GCTAAACATTCTATGTA GCTATC		<i>Xho</i> I	BL21 (DE3)
HAMJ348-	29	CCTAACATTGACATATG CTTATGAACTAAAAGC AACA	1-1647	<i>Nde</i> I	pET21-b+
HAMJ349	30	TCAATATCTCGAGTTTA CCATCAACACTCACACC		<i>Xho</i> I	AD494 (DE3)
HAMJ346-	31	CTAATAAGGAAAACCAT ATGATGAACAGACGTCA TTTTATTG	1-1971	<i>Nde</i> I	pET21-b+

ES 2 435 923 T3

HAMJ399	32	GACCTAGCTCGAGTTTA GATAAATCAATTTGATA CACTG		<i>XhoI</i>	Tuner(DE3)
HAMJ376-	33	CATAAGGAGTAACATAT GAAAAAAATTATTTTAA CATTATC	1-480	<i>NdeI</i>	pET21-b+
HAMJ377	34	GTGCAGATTCTCGAGTT TTTTATCAACTGAA		<i>XhoI</i>	Tuner (DE3)
HAMJ460-	35	CTGGACAGACCATATGC CTTCTGATTTAGTCGC	2-936	<i>NdeI</i>	pET21-b+
HAMJ461	36	CTAAATTGAGCTCGAGA TTAGTTTTTAATTTACT CC		<i>XhoI</i>	Tuner (DE3)

HAMJ458-	37	CTTTCTTATAGCATATG AAGAAATTTTAAATTGC GATT	1-1041	<i>NdeI</i>	pET21-b+
HAMJ459	38	CTTCCGCACTCGAGTTT GGCATTTTTTC		<i>XhoI</i>	Tuner (DE3) pLysS
HAMJ477-	39	GGAAGGAGCTAGCATGA AAATGAAAAAATTTATT C	1-939	<i>NheI</i>	pET21-b+
HAMJ478	40	TTGATACTCTCGAGTTT ATTAAATACTG		<i>XhoI</i>	Tuner (DE3)
HAMJ481-	41	CTTTAATCACATATGAC TATGTTTAAAAAATCT CTG	1-534	<i>NdeI</i>	pET21-b+
HAMJ482	42	CACCAATCTCGAGTTTA GATGTACAGGCTT		<i>XhoI</i>	
HAMJ78-	43	ACCCGCATGGCTGTTCA AATCTACTTGGTAG	75-1728	<i>NcoI</i>	pET32-c+
HAMJ79	44	ACTCGTCGACTTAGTTT GCAACTGGTACAAT		<i>Sall</i>	AD494 (DE3)
HAMJ414-	45	GATTAGGGAAAACATAT GATTAGGAACTTATGA A	1-3336	<i>NdeI</i>	pET21-b+

HAMJ415	46	CCATAATTTGCTCGAGT TTTTTTACATCAAC		XhoI	
HAMJ450-	47	GGAAGGAGCTAGCATGA AATTAAAACAACCTTTTT G	1-816	NheI	pET21-b+
HAMJ411	48	GTGCGGTAGCTCGAGCC AACCTTTTAC		XhoI	Tuner (DE3)
* Posición nucleotídica indica el resultado de la clonación, concretamente la longitud y posición en la Figura 1 de los productos de PCR.					

Ejemplo 2

Este ejemplo describe la amplificación y secuenciación por PCR del gen BVH-NTHI1 a partir de otras cepas de *H. influenzae* no tipables y la evaluación del nivel de conservación molecular de este gen.

- 5 Se amplificaron las regiones de codificación respectivas del gen BVH-NTHI1 de *H. influenzae* no tipable mediante PCR (sistema de PCR DNA Thermal Cycler GeneAmp 2400, Perkin Elmer, San José, CA) a partir de ADN genómico usando los siguientes oligonucleótidos: HAMJ342 (5'-CAAGGCGTTTTCATATGCCTGTCATTCGGCAGG-3'); HAMJ343 (5'-CTAATTGACCTCGAGTTTGTGCTGCTTTTAATTCTTGATAATATTG-3'). Se purificaron los productos de PCR con geles de agarosa usando un kit de extracción en gel QIAquick de QIAGEN siguiendo las instrucciones del fabricante (Chatsworth, CA) y se secuenciaron los insertos de ADN (kit Taq Dye Deoxy Terminator Cycle Sequencing, ABI, Foster City, CA). La longitud de los fragmentos de PCR generados por estas ocho cepas era idéntica. Las comparaciones pareadas de secuencias nucleotídicas y aminoácidas predichas de cuatro de estas cepas (12085, 10095, A18 y A108) revelaron un 99% de identidad como se muestra en la Figura 25.

Ejemplo 3

- 15 Este ejemplo ilustra la producción y purificación de polipéptido recombinante BVH-NTHI1 de *H. influenzae* no tipable.

Se usó el plásmido pET21-b+ recombinante con el gen BVH-NTHI1 correspondiente a la SEQ ID NO: 1 para electrotransformación (aparato Gene Pulser II, BIO- RAD Labs, Mississauga, Canadá), cepa *E. coli* Tuner (DE3) [F⁻ ompT, hsdS (r_b, m_b), gal, dcn, lacYI (DE3)] (Novagen, Madison, Wisconsin). En esta cepa de *E. coli*, el promotor T7 que controla la expresión del polipéptido recombinante se reconoce específicamente por la ARN polimerasa T7 (presente en el profago λDE3) cuyo gen está bajo el control del promotor lac, que es inducible por isopropil-β-D-tiogalactopiranosido (IPTG). Se cultivó Tuner (DE3)/rpET21 transformante a 37°C con agitación a 250 rpm en caldo LB (peptona 10 g/l, extracto de levadura 5 g/l, NaCl 10 g/l) que contenía carbenicilina 100 µg/ml (Sigma-Aldrich Canada Ltd., Oakville, Canadá), hasta que la A₆₀₀ alcanzó un valor de 0,5. Para inducir la producción de polipéptido recombinante BVH-NTHI1-His-Tag de *H. influenzae* no tipable, se incubaron las células durante 3 horas adicionales a 30°C en presencia de IPTG a una concentración final 1 mM. Se sedimentaron mediante centrifugación las células inducidas en un cultivo de 500 ml y se congelaron a -70°C.

Se realizó la purificación de los polipéptidos recombinantes de la fracción citoplasmática de Tuner (DE3)/rpET21 inducidos por IPTG mediante cromatografía de afinidad basándose en las propiedades de la secuencia His-Tag (6 residuos de histidina consecutivos) de unirse a cationes divalentes (Ni²⁺) inmovilizados sobre resina de quelación metálica His-Bind. Brevemente, se resuspendieron células sedimentadas obtenidas a partir de un cultivo de 500 ml inducido por IPTG en tampón de lisis (Tris 20 mM, NaCl 500 mM, imidazol 5 mM, pH 7,9) que contenía fluoruro de fenilmetilsulfonilo 1 mM (PMSF; Sigma), se sometieron a sonicación y se centrifugaron a 16.000 x g durante 30 minutos para eliminar desechos. Se depositó el sobrenadante sobre una columna de agarosa Ni-NTA (QIAGEN, Mississauga, Ontario, Canadá). Se eluyó el polipéptido recombinante BVH-NTHI1-His-Tag de *H. influenzae* no tipable con imidazol 250 mM-NaCl 500 mM-Tris 20 mM, pH 7,9. Se efectuó la retirada de la sal e imidazol de la muestra mediante diálisis frente a PBS a 4°C. Se estimó la cantidad de polipéptido recombinante obtenida de la fracción soluble de *E. coli* mediante MicroBCA (Pierce, Rockford, Illinois).

Ejemplo 4

- 40 Este ejemplo ilustra el análisis de la inmunogenicidad y capacidad protectora de ratones frente a infección por *H. influenzae* no tipable después de inmunización con BVH-NTHI1.

Se inmunizaron por vía intranasal grupos de 5 ratones BALB/c hembra (Charles River, Ontario, Canadá) tres veces a intervalos de 2 semanas con 25 µg de polipéptido recombinante BVH-NTHI1-His-Tag purificado por afinidad en presencia del coadyuvante toxina termolábil de *E. coli* (LT; 1 µg; Cedarlane Laboratories Ltd, Hornby, Canadá) o, como control, con coadyuvante solo en PBS. Se recogieron muestras de sangre del seno orbital el día antes de cada

inmunización y 14 días después de la tercera inyección (día 42). Se determinaron los títulos de anticuerpo por ELISA en vesículas de membrana externa y termoinactivadas de la cepa 12085 de *H. influenzae* no tipable. El anticuerpo secundario usado fue un IgG+IgM (H+L) (específico de Fc) de cabra anti-ratón conjugado con fosfatasa alcalina (Jackson ImmunoResearch Labs, Mississauga, Ontario). Se definió el título reactivo de un anticuerpo como la inversa de la dilución que muestra un aumento de absorbancia doble con respecto al obtenido con la muestra de suero preinmunitario. Para investigar si las respuestas inmunitarias desencadenadas por BVHNTH11 eran funcionalmente significativas, se evaluó la eficacia protectora *in vivo* 14 días después en ratones con infección aplicada por vía intrapulmonar con aproximadamente 2×10^5 UFC de la cepa 12085 de *H. influenzae* no tipable. Se sembraron muestras del inóculo de aplicación de infección por *H. influenzae* no tipable en placas de agar achocolatado para verificar la dosis de infección. Para medida la eficacia de la vacunación para limitar el crecimiento *in vivo* de *H. influenzae* no tipable, se sacrificaron los ratones mediante una inyección intraperitoneal de pentobarbital de sodio (Euthanyl™) 5 h después de la inyección. Se valoró en los lavados broncoalveolares el aclaramiento bacteriano sembrando diluciones en serie para la determinación del recuento bacteriano. Se usaron ratones inyectados solo con coadyuvante como controles negativos.

Los resultados del estudio de inmunogenicidad (Tabla 2) mostraron que el nivel de anticuerpos específicos en el suero de animales inmunizados crecía aproximadamente 1000 veces respecto al suero de control. El título medido en OMP y muestras termoinactivadas divergía en solo una dilución, confirmando que el polipéptido BVH-NTH11 representa verdaderamente un antígeno expuesto a superficie.

Tabla 2. Efecto de la inmunización sistémica sobre los niveles de anticuerpo dirigido a NTHI en suero^a

NTHI 12085	Título de ELISA	
	Control	Inmune
Polipéptidos de membrana externa	200	184 320
Termoinactivados	360	368 640
a) Se recogieron muestras de suero de ratones inmunes y de control el día 42 del régimen de inmunización		

Los resultados del estudio de protección (Tabla 3) mostraron que la cepa 12085 se multiplicaba fácilmente en los pulmones de animales de control, de tal modo que a las 5 horas después de la aplicación de la infección, el número de células de *H. influenzae* no tipable viables había aumentado un 200%. En contraposición, era claramente evidente un aclaramiento pulmonar sustancial de la cepa 12085 por los ratones inmunizados con BVH-NTH11, mientras que solo se recuperaba un 35% del número original de organismos depositados en los pulmones de los animales inmunes a las 5 h después de la aplicación de la infección.

Tabla 3. Efecto de la inmunización sistémica sobre el aclaramiento pulmonar de 12085 de *H. influenzae* no tipable^a

Ratones Balb/c	UFC de 12085 de <i>H. influenzae</i> no tipable ($\times 10^4$)	
	0 h	5 h
Control	4,6	9,2
Inmunizados	Nd	3,2 ^b
a) Cada valor representa una media de 5 animales cada vez.		
b) **P < 0,0098 calculado según la prueba de t no pareada con corrección de Welch y comparado con el control.		

Ejemplo 5

Este ejemplo ilustra el reconocimiento de polipéptidos recombinantes de la cepa 12085 de *H. influenzae* no tipable por sueros humanos y por antisueros de ratones protegidos.

Se usó una técnica de transferencia Western estándar para investigar si los polipéptidos recombinantes purificados se reconocían por sueros humanos. Además, se ensayaron antisueros de ratones inmunizados con preparaciones de proteínas de membrana externa frente a polipéptidos recombinantes purificados. Los ratones inmunizados con estas preparaciones demostraron un aclaramiento pulmonar aumentado después de la aplicación de la infección con cepa 12085 de *H. influenzae* no tipable. Para la preparación de antígenos, se trataron polipéptidos recombinantes purificados con tampón de muestra que contenía SDS y 2-mercaptoetanol durante 5 min a 100°C. Se resolvieron los péptidos por PAGE-SDS según el procedimiento de Laemmli, U.K. (1970) "Cleavage of structural proteins during the

assembly of the head of the bacteriophage T4". *Nature*, 227: 680-685. Después de la PAGE-SDS, se transfirieron los polipéptidos electroforéticamente del gel al papel de nitrocelulosa por el procedimiento (Towbin, H., Staehelin, T. y Gordon, J. (1979) "Electrophoretic transfer of protein from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets : procedure and some applications". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 76: 4350-4354) y se sondearon con antisueros humanos o de ratón. La detección de antígenos reactivos con los anticuerpos se efectuó mediante inmunoensayo enzimático indirecto usando inmunoglobulinas conjugadas anti-ratón o anti-humanas y un sustrato coloreado. Los resultados de la Tabla 4 muestran que la mayoría de polipéptidos se han observado ya por el sistema inmunitario humano. Como candidatos a vacuna, estos polipéptidos tienen por tanto el potencial de inducir una fuerte respuesta inmunitaria en seres humanos. Además, la mayoría de polipéptidos se reconocieron por sueros de ratones protegidos. Las reactividades séricas se correlacionan con el aclaramiento pulmonar aumentado en el modelo de infección en ratón.

Tabla 4. Reactividades de sueros y antisueros humanos normales de ratones protegidos con polipéptidos recombinantes de 12085 de *H. influenzae* no tipable

SEQ. ID	Polipéptidos	Reactividad sérica ^a		Aclaramiento pulmonar (%) ^b
		Humano	Ratón	
2	BVH-NTHI1	++	+++	65
4	BVH-NTHI2	+	+++	36
6	BVH-NTHI3	+	+++	56
8	BVH-NTHI4	++	+++	98
10	BVH-NTHI5	-	++	nr ^c
16	BVH-NTHI8	-	+	nr
18	BVH-NTHI9	++	++	nr
20	BVH-NTHI10	+++	+++	44
24	BVH-NTHI12	++++	-	20

a) El número de "+" indica la intensidad de la reacción. El signo "-" indica sin reacción

b) Los ratones se inmunizaron con los polipéptidos recombinantes respectivos y el aclaramiento pulmonar se midió como en el ejemplo 4

c) nr, no realizado

LISTA DE SECUENCIAS

<110> SHIRE BIOCHEM INC.

HAMEL, Josee

COUTURE, France

BRODEUR, Bernard R.

MARTIN, Denis

<120> ANTÍGENOS DE HAEMOPHILUS INFLUENZAE Y FRAGMENTOS DE ADN CORRESPONDIENTES

<130> 484112.440EP1

<150> PCT/CA01/01402

<151> 02-10-2001

<150> 60/236.712

<151> 02-10-2000

<160> 51

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1
 <211> 1140
 <212> ADN
 <213> *Haemophilus influenzae*

5 <400> 1

atgcctgtca	ttcggcaggt	ggtttttttac	gactcttttaa	caggagaaca	aacaaaaatg	60
aaaaaatttg	cagggtttaat	tactgccagc	ttcgtagctg	caactttaac	cgcttgcaac	120
gataaagatg	ctaagcaaga	aactgcaaaa	gctacggctg	ctgctaata	caactgtgtat	180
ctctacactt	ggacagaata	tgtaccagat	ggctcttttag	atgagtttac	taaagaaact	240
ggcatcaaag	ttatcggttc	aagcctagaa	tcaaacgaaa	caatgtacgc	aaaactcaaa	300
actcaaggcg	agtctggtgg	ctatgatgtt	atcgcacctt	ctaactactt	cgtttctaaa	360
atggcacgcg	aaggaatgtt	aaaagaactt	gatcacagca	aattacctgt	tcttaaagaa	420
ttagatcctg	attggctcaa	taaaccttat	gataaaggta	acaaatactc	tcttcgcgaa	480
cttttaggtg	cgccgggtat	cgcatccaat	accaacactt	acaaaggcga	acaattcact	540
tcttgggcag	acttatggaa	acctgaattt	gcaaacaaag	ttcagttatt	agacgatgcg	600
cgcgaaagtat	tcaacatcgc	tttattgaaa	attgggtcaag	atccaaatac	tcaagatcca	660
gccattatca	aacaagccta	tgaagaatta	ttgaaattac	gtccaaatgt	actttctttc	720
aattccgata	acccagctaa	ctcgttcac	tcaggcgaag	tggaagtggg	tcaattatgg	780
aatggttcgg	tacgtattgc	taaaaaagaa	aaagcacctt	taaatatggg	attcccaaaa	840
gagggtcctg	tactttgggt	tgatacactt	gcaattcctg	taacagctaa	aatccctgaa	900
ggcgcacaca	agctgattaa	ctacatgtta	gggaaaaaaa	cagctgaaaa	attaacctta	960
gctatcggtt	acccaacctc	aaatattgaa	gcgaaaaaag	cattaccaa	agaaatcact	1020
gaagatccag	cgatttatcc	gtcagctgat	atattaaaaa	atagtcactg	gcaagatgac	1080
gttggcgatg	caattcaatt	ctatgaacaa	tattatcaag	aattaaaagc	agcaaaaataa	1140

<210> 2
 <211> 379
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*
 <220>
 <221> SEÑAL
 <222> (1)..(33)
 <400> 2

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

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

<210> 3

<211> 1008

<212> ADN

5 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 3

atgaaaaaac	ttttaaaaat	tagtgccggt	tctgccgcac	ttttaagtgc	gccaatgatg	60
gcgaatgccg	atgtattagc	atcagtaaaa	cctttaggct	ttattgtttc	atctattgca	120
gatggcgtaa	ctggtacaca	agtccttggt	cctgctggcg	cctctccgca	tgattacaat	180
ttgaaattat	ctgatattca	aaaagtaaaa	tctgcagatt	tagttgtatg	gattggtgaa	240
gacattgatt	catctttaga	caaaccaatt	agccaaattg	aacgtaaaaa	agtgattacc	300
attgccgatc	ttgcggatgt	aaaaccttta	ttaagtaaaag	ctcaccacga	gcatttccat	360
gaagatggcg	atcatgatca	tgaccataag	cacgaacaca	aacatgatca	taaacatgac	420
catgaccatg	atcataaaca	cgagcataaa	cacgatcacg	aacatcatga	tcacgatcat	480
cacgagggtt	taacaacaaa	ctggcacggt	tggtattctc	cagctatcag	caaaattggt	540
gcacaaaaag	tagcggataa	attaactgca	caattcccag	ataaaaaagc	gttaattgca	600
caaaatcttt	cagattttta	ccgcactttg	gcagaacaaa	gtgaaaaaat	tacggcacaa	660
cttgcaaattg	ttaaagataa	aggttttctac	gtttttccacg	atgcttatgg	ttatttcaac	720
gatgcttatg	ggttaaaaca	aacagggttac	tttaccatca	atccattagt	agcaccgggt	780
gcaaaaactt	tagcgcacat	taaagaagaa	attgatgaac	ataaagtaaa	ttgcttattc	840
gcagagcctc	aatttacgcc	aaaagtgatt	gagtccttag	cgaaaaatac	taaagtcaat	900
gtaggacagc	tcgacccaat	tggcgataaa	gttacttttag	gtaaaaattc	ttatgcaaca	960
ttcttgcaat	ctactgcaga	tagctacata	gaatgttttag	ctaaataa		1008

<210> 4

<211> 335

10 <212> PRT

<213> *Haemophilus influenzae*

<220>

<221> SEÑAL

<222> (1)..(21)

<400> 4

```

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

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

```

<210> 5

5 <211> 1650

<212> ADN

<213> *Haemophilus influenzae*

<400> 5

```

atgcttatga aactaaaagc aacattaact ctccgctgctg caactcttgt tttggcagct 60
tgtgatcaat ctagctcggc aaataaatct accgctcaaa ctgaagcaaa atcctcgtca 120
aataatactt tcgtttattg cacagcgaaa gctccattgg gatttagccc tgcgttaata 180
attgaaggta cttcttataa tgcaagctca caacaagtgt ataaccgctt agttgaattt 240
aaaaaaggct caacggatat tgaaccagct ttagctgaaa gctgggaaat tagcgatgat 300
ggcttaagtt atacttttca tttgagaaaa ggggttaaat tccacacaac aaaagaattt 360
accccgacac gtgattttta tgcagatgat gttgtatttt cattccaacg tcagttagat 420
ccaaatcatc catatcacia tgtatctaag gggacttatc catattttta agcaatgaaa 480
ttccctgaat tgttgaaatc agtggagaaa gtagacgata acacaattcg tattaccta 540
aacaagacag atgcgacttt cttggctagt cttggtaggg attttatttc tatttattct 600
gcagaatatg ctgattcaat gctgaaagcg ggtaaaccag aaacgcttga tagtcgcca 660
gtggggacag gcccttttgt ttttgtggat tataaaacag atcaagccat acaatatgtt 720
gcgcatgaaa attattggaa aggtagaaca ctttagatc gtttagtcat tagcattgtg 780
cctgatgcaa caacacgtta tgcaaaatta caggcgggta cttgcgattt aattttattc 840
ccaaatgtag cggatttagc caaaatgaaa accgatccaa aagtacaact tttggaacaa 900
aaaggtttga acgtagcgta tatcgcatc aataccgaaa aagcaccgtt tgataatgtc 960
aaagtgcgcc aagcgttgaa ttacgcagt gataaaaaag cgattattga agcggtttat 1020
caaggcgcag gaacatcagc taaaaaccca cttcctccaa caatttgag ttataatgat 1080
gaaatccaag attatccgta cgatccagaa aaagcaaaac aacttttagc agaagcgggt 1140
tatccaaatg gttttgaaac tgatttctgg attcaaccta ttattcgtgc ttctaattcca 1200
aatccaaaac gtatggctga attaatattg gcggattggg cgaaaattgg tgtaaaaact 1260
aaccagtgat cttatgaatg ggctgattat agaaaacgag caaaagaggg agaattaact 1320
gcgggtatct ttggttggtc tggcgacaat ggcgatcctg ataatttctt atccccatta 1380
ttaggtagct caaatatagg taattctaata atggcacgtt tcaataattc agaatttgat 1440
gctttactca atgaggctat tggattaacc aataaggaag aacgtgcgaa actttataaa 1500
caagctcaag ttattgtcca taatcaagca ccttggattc cagttgcca ctctgttggt 1560
tttgcgccac ttagtcctcg tgtaaaagggt tatgtacaaa gccatttgg ctatgacgct 1620
ttttatggtg tgagtgttga tggtaaaataa 1650

```

<210> 6

<211> 549

<212> PRT

5 <213> *Haemophilus influenzae*

<220>

<221> SEÑAL

<222> (1) .. (20)

<400> 6

```

Met Leu Met Lys Leu Lys Ala Thr Leu Thr Leu Ala Ala Ala Thr Leu
1      5      10      15
Val Leu Ala Ala Cys Asp Gln Ser Ser Ser Ala Asn Lys Ser Thr Ala
20      25      30

```

10

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

<210> 7

<211> 1974

<212> ADN

5 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 7

atgatgaaca	gacgtcattt	tattcaaatt	ggtgcgacca	gtattcttgc	attaagtgca	60
aaccgttttg	cgatggcaaa	aggaaagagc	gatgttgatt	tacgcattgt	ggcaacaaca	120
gatgttcata	gtttcttgac	cgattttgac	tattataaag	atgcaccaac	cgataaattc	180
ggttttactc	gtgchggaag	ccttattcgt	caagcacgtg	ctaaagtaaa	aaatagcgta	240
ttggtagata	atgggggattt	aattcaagggt	aatccaattg	cagactatca	agccgcacaa	300
ggctataaag	agggtaaatc	taaccctgcg	gtcgattgtt	taaatgcgat	gaattatgaa	360
gtgggtacat	taggtaacca	cgaattttaac	tatggctctca	attatcttgc	agatgccatc	420
aaacaagcta	aattcccaat	tgtgaatgct	aacgtagtaa	aagcggggac	agaagaacct	480
tatttcacac	cttatgtcat	tcaagaaaaa	tctgtggtgg	ataataatgg	caaaacacat	540
aaattaaaaa	ttggttacat	cggtttttgtg	ccaccgcaaa	ttatggtttg	ggataaagca	600
aaccttcaag	gcaaagtga	aaccctgtgat	attgtaaaaa	cagcgcaaaa	atatgtacct	660
gaaatgaaga	aaaaaggggc	tgatattgtc	gttgcatag	ctcacactgg	tccatctgat	720
gaaccttatc	aagaagggtgc	tgaaaactca	gcattctatc	tagcggatgt	tccacacatt	780
gatgcggtta	tttttggtca	ctcacaccgt	ttattcccaa	ataaagaatt	cgcaaaatca	840
ccaaatgcag	acatcgtaaa	tggtaccgta	aaaggcgtag	cagaaagtat	ggctggttac	900
tgggcaaata	atatcagcgt	ggtggattta	ggcttaacag	aacacaaggg	taaatggatc	960
gtgacttctg	gcaaagctgt	gcttcgtcca	atttatgatg	tagaaaccaa	aaaagcactt	1020
gcaaaaaatg	accagaaaat	taccgcactt	ttaaaaccag	ttcacgaagc	aacacgtaaa	1080
tatgtttctc	aacctatcgg	caaagccaca	gacaatatgt	atagttacct	tgcattaata	1140
caagatgata	caaccattca	aattgtaaac	caagcacaaa	aagcgtatgt	agagaaagtt	1200
gcaccaagtg	ttgcagcaat	ggctggctta	cctattttta	gtgcagggtg	tccattttaa	1260
gcgggtgggtc	gtaaaaaatga	cccaacgggc	tataccgaag	taaataaagg	tgaattaact	1320
ttccgtaatg	cagcagactt	atacctttat	ccaaatacgc	tagtgggtgt	taaagcgaca	1380
ggcgaacaat	taaaagaatg	gtagaatgt	agtgtgtggt	tgtttaaaaca	aattgacctt	1440
acaagtgata	aaccacaatc	attaatcgac	tgggaagggt	tccgcactta	taactttgat	1500
gtgattgatg	gtgtcaatta	tgaatacgat	ctaaccaaac	cagctcggtt	cgatggcgaa	1560
tgtaaagttaa	tcaaccaga	atcgcatcgt	gtagtgaatc	tcacttatca	aggtaaacca	1620
gttgatccaa	aagcagaatt	tttgattgca	acgaataact	atcgtgctta	cggcaataaa	1680
ttcccaggta	ctggcgatca	acatattgtt	tacgcatcac	cagatgaaag	ccgtcaaatt	1740
ttggctgatt	atattaaagc	aaccagttag	aaagagggtt	cagtcaatcc	aaatgcggat	1800
aaaaactggc	gtttttgtgcc	tatcacagggt	aacgataaat	tagatgtccg	ttttgaaaca	1860
tcgccaagcg	aacaagcggc	gaaatttatc	gcagaaaaag	cacaataccc	aatgaaacaa	1920
gtgggtactg	acgaaatcgg	ttttgcagtg	tatcaaattg	atttatctaa	ataa	1974

<210> 8

5 <211> 657

<212> PRT

<213> *Haemophilus influenzae*

<220>

<221> SEÑAL

10 <222> (1)..(26)

<400> 8

Met 1	Met	Asn	Arg	Arg	His	Phe	Ile	Gln	Ile	Gly	Ala	Thr	Ser	Ile	Leu
Ala	Leu	Ser	Ala	Asn	Arg	Phe	Ala	Met	Ala	Lys	Gly	Lys	Ser	Asp	Val
Asp	Leu	Arg	Ile	Val	Ala	Thr	Thr	Asp	Val	His	Ser	Phe	Leu	Thr	Asp
Phe	Asp	Tyr	Tyr	Lys	Asp	Ala	Pro	Thr	Asp	Lys	Phe	Gly	Phe	Thr	Arg
Ala	Ala	Ser	Leu	Ile	Arg	Gln	Ala	Arg	Ala	Lys	Val	Lys	Asn	Ser	Val
Leu	Val	Asp	Asn	Gly	Asp	Leu	Ile	Gln	Gly	Asn	Pro	Ile	Ala	Asp	Tyr
Gln	Ala	Ala	Gln	Gly	Tyr	Lys	Glu	Gly	Lys	Ser	Asn	Pro	Ala	Val	Asp
Cys	Leu	Asn	Ala	Met	Asn	Tyr	Glu	Val	Gly	Thr	Leu	Gly	Asn	His	Glu
Phe	Asn	Tyr	Gly	Leu	Asn	Tyr	Leu	Ala	Asp	Ala	Ile	Lys	Gln	Ala	Lys
Phe	Pro	Ile	Val	Asn	Ala	Asn	Val	Val	Lys	Ala	Gly	Thr	Glu	Glu	Pro
Tyr	Phe	Thr	Pro	Tyr	Val	Ile	Gln	Glu	Lys	Ser	Val	Val	Asp	Asn	Asn
Gly	Lys	Thr	His	Lys	Leu	Lys	Ile	Gly	Tyr	Ile	Gly	Phe	Val	Pro	Pro
Gln	Ile	Met	Val	Trp	Asp	Lys	Ala	Asn	Leu	Gln	Gly	Lys	Val	Glu	Thr
Arg	Asp	Ile	Val	Lys	Thr	Ala	Gln	Lys	Tyr	Val	Pro	Glu	Met	Lys	Lys
Lys	Gly	Ala	Asp	Ile	Val	Val	Ala	Leu	Ala	His	Thr	Gly	Pro	Ser	Asp
Glu	Pro	Tyr	Gln	Glu	Gly	Ala	Glu	Asn	Ser	Ala	Phe	Tyr	Leu	Ala	Asp
Val	Pro	His	Ile	Asp	Ala	Val	Ile	Phe	Gly	His	Ser	His	Arg	Leu	Phe
Pro	Asn	Lys	Glu	Phe	Ala	Lys	Ser	Pro	Asn	Ala	Asp	Ile	Val	Asn	Gly
Thr	Val	Lys	Gly	Val	Pro	Glu	Ser	Met	Ala	Gly	Tyr	Trp	Ala	Asn	Asn

290 295 300
 Ile Ser Val Val Asp Leu Gly Leu Thr Glu His Lys Gly Lys Trp Ile
 305 Val Thr Ser Gly Lys 310 Val Leu Arg Pro 315 Ile Tyr Asp Val Glu Thr
 Lys Lys Ala Leu 325 Ala Lys Asn Asp Pro 330 Glu Ile Thr Ala Leu 335 Lys
 Pro Val His 340 Glu Ala Thr Arg Lys 345 Tyr Val Ser Gln Pro 350 Ile Gly Lys
 Ala Thr 355 Asp Asn Met Tyr Ser 360 Tyr Leu Ala Leu 365 Ile Gln Asp Asp Pro
 Thr 370 Ile Gln Ile Val Asn 375 Gln Ala Gln Lys Ala 380 Tyr Val Glu Lys Val
 385 Ala Pro Ser Val Ala 390 Met Ala Gly Leu 395 Pro Ile Leu Ser Ala 400 Gly
 Ala Pro Phe Lys 405 Ala Gly Gly Arg Lys Asn Asp Pro Thr Gly Tyr Thr
 Glu Val Asn 420 Lys Gly Glu Leu Thr 425 Phe Arg Asn Ala 430 Asp Leu Tyr
 Leu Tyr Pro Asn Thr Leu Val 440 Val Val Lys Ala Thr Gly Glu Gln Leu
 450 Lys Glu Trp Leu Glu Cys 455 Ser Ala Gly Met Phe 460 Lys Gln Ile Asp Pro
 465 Thr Ser Asp Lys Pro Gln Ser Leu Ile Asp Trp Glu Gly Phe Arg Thr
 Tyr Asn Phe Asp 485 Val Ile Asp Gly Val 490 Asn Tyr Glu Tyr Asp Leu Thr
 Lys Pro Ala Arg Tyr Asp Gly Glu 505 Cys Lys Leu Ile Asn Pro Glu Ser
 His Arg Val Val Asn Leu Thr 520 Gln Gly Lys Pro Val Asp Pro Lys
 530 Ala Glu Phe Leu Ile Ala Thr Asn Asn Tyr Arg Ala Tyr Gly Asn Lys
 545 Phe Pro Gly Thr Gly Asp Gln His Ile Val 555 Tyr Ala Ser Pro Asp Glu
 Ser Arg Gln Ile Leu Ala Asp Tyr Ile Lys Ala Thr Ser Glu Lys Glu
 Gly Ser Val 580 Asn Pro Asn Ala Asp 585 Lys Asn Trp Arg Phe Val Pro Ile
 Thr Gly Asn Asp Lys Leu Asp Val Arg Phe Glu Thr Ser Pro Ser Glu
 610 Gln Ala Ala Lys Phe Ile 615 Glu Lys Ala Gln Tyr Pro Met Lys Gln
 625 Val Gly Thr Asp Glu Ile Gly Phe Ala Val Tyr Gln Ile Asp Leu Ser
 645 650 655
 Lys

<210> 9

<211> 483

<212> ADN

5 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 9

atgaaaaaaa	ttattttaac	attatcactt	gggttactta	ccgcttggtc	tgctcaaatac	60
caaaaggctg	aacaaaatga	tgtgaagctg	gcaccgccga	ctgatgtacg	aagcggatat	120
atacgtttgg	taaagaatgt	gaattattac	atcgatagtg	aatcgatctg	ggtggataac	180
caagagccac	aaattgtaca	ttttgataca	gtggtgaatt	tagataaggg	attgtatggt	240
tatcctgagc	ctaaacgtta	tgcacgttct	gttcgtcagt	ataagatttt	gaattgtgca	300
aattatcatt	taactcaagt	acgaactgat	ttctatgatg	aattttgggg	acagggtttg	360
cgggcagcac	ctaaaaagca	aaagaaacat	acgttaagtt	taacacctga	tacaacgctt	420
tataatgctg	ctcagattat	ttgtgcaaat	tatggtaaag	catttttcagt	tgataaaaaa	480
ttaa						483

<210> 10

<211> 160

10 <212> PRT

<213> *Haemophilus influenzae*

<220>

<221> SEÑAL

<222> (1)..(20)

5 <400> 10

```

Met Lys Lys Ile Ile Leu Thr Leu Ser Leu Gly Leu Leu Thr Ala Trp
 1      5      10      15
Ser Ala Gln Ile Gln Lys Ala Glu Gln Asn Asp Val Lys Leu Ala Pro
 20      25      30

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

```

<210> 11

<211> 939

<212> ADN

10 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 11

```

gtgccttctg atttagtcgc acagttctct aaagaaactg gcatcgaggt aatttattct 60
acctttgaaa gcaacgaaga aatgtatgcg aaacttaaac ttactcagaa tacgggttct 120
ggctatgatt tgggtgttcc atcaagttac tacgtaaata aaatgattaa ggaaaagatg 180
cttcaaccga ttgatcaaag taaattgacc aatattcatc aaatccctaa acatttatta 240
aataaagaat tgcaccaga aaataaatat tcattacctt acgtttacgg cttactggt 300
attgaagtta atgcggatga gattgatcct aaaaccatta ccagctgggc agatttatgg 360
aaacctgaat ttaaaggcaa agttctcatg accagtgatg cgcgtgaagt gttccacgta 420
gcattattac tggatggtaa atcgccaaat accaccaatg aagaagacat caaaacagct 480
tatgagcgtt tagaaaaact gttaccaa atgtagcact ttaactctga ttctcctgaa 540
gtcccttacg tacaaggcga agttgcaatt ggtatgattt ggaatggttc agcttattta 600
gcgcagaaag aaaatcaatc tcttcaattt gtgtatccaa aagaaggtgc aattttctgg 660
atggataact atgcgattcc gactacagca aaaaatggtg aagggtgcaca taagttcatt 720
gacttcttac ttcgccctga aaatgcaaaa attgttatcg aacgcatggg cttttctatg 780
ccaaataatg gggcgaaaac attgctaagc gcggaagttg ctaatgatcc aaaattattt 840
ccaccagcgg aagaagtgga aaaaggaatt atgcaaggcg atgtaggaga agcggtcgat 900
atztatgaaa aatattggag taaattaaaa actaattag 939

```

<210> 12

<211> 312

15 <212> PRT

<213> *Haemophilus influenzae*

<400> 12

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

Gly Phe Ser Met 245 Pro Asn Asn Gly Ala 250 Lys Thr Leu Leu Ser 255
260 265 270
Val Ala Asn Asp Pro Lys Leu Phe Pro Pro Ala Glu Glu Val Glu Lys
275 280 285
Gly Ile Met Gln Gly Asp Val Gly Glu Ala Val Asp 300 Ile Tyr Glu Lys
290 295
Tyr Trp Ser Lys Leu Lys Thr Asn
305 310

<210> 13

<211> 1041

5 <212> ADN

<213> *Haemophilus influenzae*

<400> 13

atgaagaaat	ttttaattgc	gatttttactt	ttaatttttga	tttttagcggg	cgcggcgagt	60
tttgcttatt	acaaaatgac	tgaattttgta	aaaacaccag	taaatgtgca	ggcagatcaa	120
cttttaacta	ttgaacgtgg	cacaacaggt	tcaaaattag	ccgcactttt	tgagcaagaa	180
aagttaattg	ctgatgggaa	attattacct	tatttgctga	agttgaaatc	tgagctaaat	240
aaaataaaaag	cagggactta	ttctcttgag	aatgttaaaa	ctgtgcaaga	tttactggat	300
ttgcttaatt	caggttaagga	agtgcagttt	aatgtaaaaat	ggattgaagg	aaaaactttc	360
aaggattggc	gaaaagatct	tgaaaatgca	ccgcacttgg	tgcaaacctt	gaaagataag	420
cgtaacgaag	acatttttcac	attacttgac	ttgccagatg	tcggtcaaaa	tcttgaacta	480
aaaaatgtgg	aagggttggt	ttatcctgat	acttataatt	atacgccata	atccacagac	540
ttagagctac	ttaagcgatc	ggctgagcaa	atgaaaaagg	cggttaataa	ggcttggaac	600
gagcgtgacg	atgattttacc	tttagcgaat	ccttatgaaa	tgttgatttt	ggcttctatc	660
gtagaaaaag	aaacgggtat	tgctaattgag	agagcaaaaag	tggcctctgt	atttatcaac	720
cgtttaaaaag	caaaaatgaa	attacagacg	gatccaacgg	taatttatgg	tatgggcgaa	780
aattacaatg	ggaatattcg	caaaaaagat	ttagaaaacc	taacgcctta	taatacgtat	840
gtgattgatg	gattaccgcc	aacacctatt	gcgatgccaa	gcgaaagttc	gttacaagct	900
gttgcaaaac	ctgaaaaaac	agatttttat	tattttgtgg	cagatgggtc	tggtgggcat	960
aaattttacc	gaaatttgaa	tgaacataat	aaagcgggtg	aagaatattt	acgttggtat	1020
cgcagtcaga	aaaatgccaa	a				1041

<210> 14
 <211> 347
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

5 <220>
 <221> SEÑAL
 <222> (1)..(19)
 <400> 14

```

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

Gly Met Gly Glu Asn Tyr Asn Gly Asn Ile Arg Lys Lys Asp Leu Glu
260 265 270
Thr Leu Thr Pro Tyr Asn Thr Tyr Val Ile Asp Gly Leu Pro Pro Thr
275 280 285
Pro Ile Ala Met Pro Ser Glu Ser Ser Leu Gln Ala Val Ala Lys Pro
290 295 300
Glu Lys Thr Asp Phe Tyr Tyr Phe Val Ala Asp Gly Ser Gly Gly His
305 310 315 320
Lys Phe Thr Arg Asn Leu Asn Glu His Asn Lys Ala Val Gln Glu Tyr
325 330 335
Leu Arg Trp Tyr Arg Ser Gln Lys Asn Ala Lys
340 345

```

10 <210> 15
 <211> 942
 <212> ADN
 <213> *Haemophilus influenzae*

15 <400> 15

```

atgaaaatga aaaaatttat tctaaaatct tttttattgg ctactttggg atgtgtcgct 60
ttcgcttcta tggcacaagc ggaggaacgt gtcgtagcga cagtggatgg tattcctggt 120
ttagaaagcc aagtgcgtgc caatatgggt aaaaaagggt atcgccaaag tgcgattgat 180
aaaattattg atgatatattt ggtgcaaaaa gcagttcaag aatcgggagt caaaattgat 240
cctcgtgaaa ttgatcatat tgtggaagac actgcggcaa gaaatggcct aacttatggt 300
caatTTTTTg atgCGttaga ttaccaaggc atttcattaa atgcatttcg tcagcaaatt 360
gccaatcaaa tggTgatggg ggctgtacgc aacaaagcta ttcaagaaag cattgatgta 420
acgcgtgaag aagttgtcgc actcgggtcaa aaaatgttag aagaagcgaa agaaaagggt 480
acggcgcaga aagttatggg gaaagagtat gaagtTCGCC atattttggt aaaacttaat 540
ccattgttaa atgatgctca agcaaaaaaa caattagcta aaattcgttc tgatattatt 600
gcaggtaaaa caacttttgc tgatgccgca ttaaaatatt ctaaagatta tttatcgggt 660
gcgaatggcg gtagtttagg ttatgcgttc ccagaaactt atgcaccaca gtttgcgcaa 720
accgtcgtga aaagtaaaaca aggtgtgatt tctgcaccat ttaaaactga gtttgggtgg 780
catatttttg aagtaactgg cgtacgtgat ggcgatctta cagcagaagc ctacacacaa 840
aaagcatatg aacgttttagt aaataactcaa ttacaagatg cgacgaacga ttgggttaaa 900
gcattgcgta aaagagcgaa tattcagtat ttttaataaat aa 942

```

<210> 16

<211> 313

<212> PRT

5 <213> *Haemophilus influenzae*

<220>

<221> SEÑAL

<222> (1)..(27)

<400> 16

```

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

```

10

Glu Phe Gly Trp His Ile Leu Glu Val Thr Gly Val Arg Asp Gly Asp
 245 250 255
 Leu Thr Ala Glu Ala Tyr Thr Gln Lys Ala Tyr Glu Arg Leu Val Asn
 260 265 270
 Thr Gln Leu Gln Asp Ala Thr Asn Asp Trp Val Lys Ala Leu Arg Lys
 275 280 285
 Arg Ala Asn Ile Gln Tyr Phe Asn Lys
 290 295 300
 305 310

<210> 17

<211> 487

<212> ADN

5 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 17

atgactatgt	ttaaaaaaat	ctctgtttta	ttttttacgt	taatattggc	aggttgttct	60
tcttggtcat	cggttactaa	ctatatccca	tttatgggga	acgataaaaa	agtgattgat	120
ttagataaag	ataaaaatcga	tcaaaaatcc	tatgcagcgg	cttatgaagc	gactgtggcg	180
acataataag	gtcgcgtgaa	tgaaaatttc	ttttagata	attttgcaag	tggtgcgaat	240
gactggtatt	taggtcgtat	tttagttcct	gtgaaacaaa	ttcaggataa	actttataca	300
ggcggtcatt	attctgatat	atatgcttat	tatagcggcg	tggtacatgc	ggaagcattg	360
caagctaacc	ttaaaccgttt	aagtgtgaagc	tggtgggaaa	aagtagattc	gcaaagtatg	420
gctcaaggta	tttatgatgc	gatgcgtgat	tagtgaagcg	ctgctgaaag	cctgtacatc	480
taaataa						487

<210> 18

<211> 178

10 <212> PRT

<213> *Haemophilus influenzae*

<220>

<221> SEÑAL

<222> (1)..(23)

15 <400> 18

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

<210> 19

<211> 1728

<212> ADN

<213> *Haemophilus influenzae*

<400> 19

5

atgtctattc	tattacaagg	cgaacgtttt	aaaaaacgtt	taatgccaat	tttattgtca	60
atggcttttag	ctggctgttc	aaatctactt	ggtagcaatt	tcacgcaaac	cttacaaaaa	120
gatgcaaatg	caagttctga	attttatata	aacaaattag	ggcaaacgca	agaacttgaa	180
gatcaacaaa	cctataaatt	gctcgcggct	cgagtgttaa	tccgtgaaaa	taagggttgaa	240
caatcggcag	cgttattgag	ggaattaggc	gaattaaatg	atgcgcaaaa	attagatcgt	300
gcattaattg	aagcgagaat	ttctgccgca	aaaaatgcca	atgaagtcgc	acaaaatcaa	360
ttacgtgcat	tggatttaaa	taaactaagc	ccgtcacaaa	aatctcgtta	ttacgaaacc	420
ttagctattg	ttgccgaaaa	ccgtaaagac	atgattgaag	cggtaaaagc	gcggatagaa	480
atggataaga	atttaacaga	tgtacaacgt	cgtaagata	atattgataa	aacttgggct	540
ttattgcggt	cagcgaatac	tggcggtatt	aataatgcct	ctgatgaagg	taatgcagct	600
ttaggcgggt	ggctaacatt	aatcaaagcc	tacaacgatt	atattcgtca	gcctgtacaa	660

ttaagccaag	ccttacaaag	ttggaaaaat	gcttatccaa	atcatgcagc	cgcaacgttg	720
ttcccaaaag	aattgcttac	attgcttaat	ttccaacaaa	cgaatgtgtc	acaaattggt	780
ttactcttgc	cattaagtgg	agatggacaa	attcttggtg	caaccattca	atcgggtttt	840
aacgacgcga	aaggtaactc	aaccattcca	gtgcaagtgt	ttgatacctc	aatgaattct	900
gtccaagata	tcattgcgca	agcaaaaacaa	gcgggggatta	aaaccttagt	cggcccatta	960
ctaaaacaaa	atcttgatgt	gatttttagcg	gatcctgctc	aaattcaagg	tatggatgtg	1020
cttgcattaa	atgccacacc	acattctcgt	gcgattcctc	aactttgtta	ttacggactt	1080
tctccagaag	atgaagctga	atctgccgcc	aataaaaatgt	ggaacgatgg	cgtgcgtaat	1140
ccacttgctg	caatgccgca	aaatgattta	ggacaacgcg	taggcaatgc	ctttaatgta	1200
cgttggcagc	aattagcagg	tactgatgcg	aatatccgtt	actacaattt	gcctgcggat	1260
gtgacctatt	tcgttcaaga	aaataactca	aatacaaccg	cactttatgc	cgtagcaagt	1320
ccaactgaac	tggcagaaat	gaaagggtat	ttaacaaata	tcgtacctaa	tttagcgatt	1380
tatgccagtt	ctcgagcaag	cgcaagtgcg	acaaacacta	ataccgactt	catcgcacag	1440
atgaacggtg	tacagttag	tgatattcca	ttttttaaag	ataccaattc	tccacaatat	1500
cagaagttag	caaaatccac	gggggggtgaa	tatcaattga	tgcgtttata	tgcaatgggt	1560
gcagatgcgt	ggttgctcat	taatcaattt	aatgaattac	gccaagtgcc	aggctatcgc	1620
ttgagtggct	taacagggat	tttaagtgc	gataccaact	gtaatgttga	acgcgatatg	1680
acttggtatc	aatatcaaga	tggtgcaatt	gtaccagttg	caaactaa		1728

<210> 20

<211> 575

<212> PRT

10 <213> *Haemophilus influenzae*

<220>

<221> SEÑAL

<222> (1)..(31)

<400> 20

Met Ser Ile Leu Leu Gln Gly Glu Arg Phe Lys Lys Arg Leu Met Pro
 1 Ile Leu Leu Ser Met Ala Leu Ala Gly Cys Ser Asn Leu Leu Gly Ser
 20 Asn Phe Thr Gln Thr Leu Gln Lys Asp Ala Asn Ala Ser Ser Glu Phe
 35 Tyr Ile Asn Lys Leu Gly Gln Thr Gln Glu Leu Glu Asp Gln Gln Thr
 50 Tyr Lys Leu Leu Ala Ala Arg Val Leu Ile Arg Glu Asn Lys Val Glu
 65 Gln Ser Ala Ala Leu Leu Arg Glu Leu Gly Glu Leu Asn Asp Ala Gln
 85 Lys Leu Asp Arg Ala Leu Ile Glu Ala Arg Ile Ser Ala Ala Lys Asn
 100 Ala Asn Glu Val Ala Gln Asn Gln Leu Arg Ala Leu Asp Leu Asn Lys
 115 Leu Ser Pro Ser Gln Lys Ser Arg Tyr Tyr Glu Thr Leu Ala Ile Val
 130 Ala Glu Asn Arg Lys Asp Met Ile Glu Ala Val Lys Ala Arg Ile Glu
 145 Met Asp Lys Asn Leu Thr Asp Val Gln Arg Arg Gln Asp Asn Ile Asp
 165 Lys Thr Trp Ala Leu Leu Arg Ser Ala Asn Thr Gly Val Ile Asn Asn
 180 Ala Ser Asp Glu Gly Asn Ala Ala Leu Gly Gly Trp Leu Thr Leu Ile
 195 Lys Ala Tyr Asn Asp Tyr Ile Arg Gln Pro Val Gln Leu Ser Gln Ala
 210 Leu Gln Ser Trp Lys Asn Ala Tyr Pro Asn His Ala Ala Ala Thr Leu
 225 Phe Pro Lys Glu Leu Leu Thr Leu Leu Asn Phe Gln Gln Thr Asn Val
 245 Ser Gln Ile Gly Leu Leu Leu Pro Leu Ser Gly Asp Gly Gln Ile Leu
 260 Gly Thr Thr Ile Gln Ser Gly Phe Asn Asp Ala Lys Gly Asn Ser Thr
 275 Ile Pro Val Gln Val Phe Asp Thr Ser Met Asn Ser Val Gln Asp Ile
 290 Ile Ala Gln Ala Lys Gln Ala Gly Ile Lys Thr Leu Val Gly Pro Leu
 305 Leu Lys Gln Asn Leu Asp Val Ile Leu Ala Asp Pro Ala Gln Ile Gln
 325 Gly Met Asp Val Leu Ala Leu Asn Ala Thr Pro His Ser Arg Ala Ile
 340 Pro Gln Leu Cys Tyr Tyr Gly Leu Ser Pro Glu Asp Glu Ala Glu Ser
 355 Ala Ala Asn Lys Met Trp Asn Asp Gly Val Arg Asn Pro Leu Val Ala
 370 375 380

Met Pro Gln Asn Asp Leu Gly Gln Arg Val Gly Asn Ala Phe Asn Val
 385 Arg Trp Gln Gln Leu Ala Gly Thr Asp Ala Asn Ile Arg Tyr Tyr Asn
 405 Leu Pro Ala Asp Val Thr Tyr Phe Val Gln Glu Asn Asn Ser Asn Thr
 420 Thr Ala Leu Tyr Ala Val Ala Ser Pro Thr Glu Leu Ala Glu Met Lys
 435 Gly Tyr Leu Thr Asn Ile Val Pro Asn Leu Ala Ile Tyr Ala Ser Ser
 450 Arg Ala Ser Ala Ser Ala Thr Asn Thr Asn Thr Asp Phe Ile Ala Gln
 465 Met Asn Gly Val Gln Phe Ser Asp Ile Pro Phe Phe Lys Asp Thr Asn
 485 Ser Pro Gln Tyr Gln Lys Leu Ala Lys Ser Thr Gly Gly Glu Tyr Gln
 500 Leu Met Arg Leu Tyr Ala Met Gly Ala Asp Ala Trp Leu Leu Ile Asn
 515 Gln Phe Asn Glu Leu Arg Gln Val Pro Gly Tyr Arg Leu Ser Gly Leu
 530 Thr Gly Ile Leu Ser Ala Asp Thr Asn Cys Asn Val Glu Arg Asp Met
 545 Thr Trp Tyr Gln Tyr Gln Asp Gly Ala Ile Val Pro Val Ala Asn
 565 570 575

<210> 21
 <211> 3336
 <212> ADN
 <213> *Haemophilus influenzae*

5 <400> 21

atgattagga	aacttatgaa	aacacctcca	ttttttaccg	cactttttgc	ctcggcaata	60
ttcaccctta	gtgtttcaca	aggggtatta	ggggcaaatt	caacaaatgt	attaccaacg	120
gagcaatcgc	ttaaagccga	tttggctaac	gctcaaaaaa	tgagtgaggg	ggaagcaaaa	180
aagaggttgt	tagcagaatt	acaacatca	attgatttat	tgcagcaaatt	tcaagctcaa	240
caaaaaatca	atgatgcatt	gcaacaaca	ttaagccatt	cagagagtga	aattagaaaag	300
aataatgcag	aaattcaagc	attaaaaaaa	caacaagaaa	cagcaacaag	tactgattat	360
aatgcacagt	cacaggacga	tttacaaaat	agtctcgcta	agttaaata	tcaattacaa	420
gatacgcaaa	acgcattagg	cgcggaat	gcacaattgg	cagggcaaaa	ttctatttct	480
gaacgagctc	aagcggcatt	aacggaaaat	gtgtgacgca	ctcagcaaatt	taatcaacaa	540
ttggccaata	atgatattgg	tagcgcat	cgaaaacaat	atcagattga	attacaactg	600
attgatttaa	agaatagtta	taatcaaaa	ttattaaaaa	ataatgatca	gctttcttta	660
ctttatcaaa	gtcgttacga	cctattgaat	ttacgtttgc	aggtgcaaca	acaaaatatt	720
attgcgattc	aagaagtcac	taatcaaaaa	agtccttcagc	aatcacaaaa	tcaactagaa	780
caagctcagc	agcaacagca	aaaaactgtg	caaaatgatt	acattcaaaa	agaacttgat	840
cgcaatgcac	agcttggtca	gtatctatta	caacaacag	aaaaagcgaa	ttcattaact	900
caagatgagt	taagaatgcg	gaatatttta	gatagcctca	ctcaaactca	acatactatt	960
gatgaacaaa	ttagtgcatt	acaaggcacg	ttagttcttt	cacgtattat	ccagcaacaa	1020
aaacaaaaat	taccgactaa	cttaaatatt	caaggtttat	caaaacaaat	tgccgatttg	1080
cgtgtgcata	tttttgacat	tactcaaaaa	cgcaatgaac	tttatgatct	agataactat	1140
attaataaag	ttgaaagtga	agatggaaaa	caatttactg	aggcagaaaag	aacgcaagtt	1200
aaaacgctat	taactgagcg	tcggaaaatg	acatctgatc	tgattaaatc	cttaataaat	1260
caattaaatc	tcgcgatttc	tttggaaatta	acacagcagc	aaattacaca	aatcagtgat	1320
caaattcaat	ctaaattaga	gcagcaaagt	ttttgggtga	aaagtaataa	tcccattaat	1380
ttagattgga	taaaaatgct	tccaagagct	ttaattgaac	agtttaatgg	tatgttgaaa	1440
aaattaggtt	ttccaactaa	ttatgacaat	ttaccttatt	tacttatgta	tttcttaggg	1500
ttattttattg	taggcggtgc	aattttttaa	tttaaaaatc	gtattaaaca	acaattaaac	1560
aaaattaatc	gtgaaataca	tcgcttagat	acagatagtc	agtggagtac	gccacttgcc	1620
ctgtttattaa	ctgcgttttt	aacgctttct	agtacacttt	ggttttttagc	agttttgcaa	1680
atgatcggct	tctttttctt	caaaaatcca	gaagaatttt	ggcattggct	atttagtatg	1740
gcgagttatt	ggtgggttctt	tacatttttg	atttcattgt	tccgtccaaa	tggtattttt	1800
gttaatcatt	ttgaatcttc	aaaagagaat	gcacaacgtt	ttcgtggtgt	tatccagcgt	1860
attattattg	cgatagtatt	actcttgaat	acatctgttt	ttagtaatgt	aacagacagt	1920
ggcttagcca	atgatgtcct	aggggaaatt	aatactatta	cggcgttaat	tttctgcacg	1980
gcgattattg	ctcctcgttt	taatcgagta	cttcgctctt	atgaacctga	aacaaataaa	2040
catcattggt	taataaaaaat	tgtacaaaat	ggtttgagat	taattcctgt	gggattaatc	2100
gtactttattg	ttttaggcta	ttactacacc	gctttaaatt	taattgagca	ttttattcat	2160
tcttatattg	cttgggtgtgt	atggtggtta	gtacgtaata	cgatttaccg	tggtattacg	2220
gtttcttctc	gtcgttttagc	acatcgccgt	ttagcagaaa	aacgtcgtca	aaaagcactt	2280
gaaaataaatt	atgaaaatat	ttcctctgat	gatgtggttg	cagtgggaga	gccagaggaa	2340
ggttttagcgt	taaatgatgt	gcgtagccaa	ttattacgtt	ttgtagatct	ctttattttg	2400
acagcattat	tggggatttt	ctactatgta	tggtcagatt	tagtcacagt	agttagctat	2460
ttacgtgaaa	ttacactttg	gcaacaaacc	acgacaaccg	atgctggcac	tgtaattggaa	2520
agcattactt	tatttaaatct	tcttggtgct	ttggttatcc	taggaattac	ttatgtgttg	2580
gttcgtaata	tttcagggtat	tttggaagta	tttaattttct	ctcgcgtgaa	tctttcacaa	2640
ggtacgcctt	atacagattac	gacattgctc	acttatattt	ttatcgccat	tggtggtgctg	2700
tgggcatttg	caaccttagg	aatgtcttgg	tcaaaattgc	aatggttatt	tgccgcactt	2760

ES 2 435 923 T3

tccgttgggc	ttggttttgg	tatgcaagaa	atTTTTgcaa	actttgtgtc	gggcattatt	2820
ttgctatttg	aacgccaat	ccgagttggc	gatgtcgtaa	ccattaatgg	agtgagcggg	2880
actgtagcga	aaattcgat	tcgtgcaatt	acattaattg	atTTtgatcg	caaagaaatt	2940
attgtgccaa	ataaatcttt	tgtgacaggt	caagtaacca	attgggcatt	atctagcacg	3000
atgacacgtt	tagtgattag	cgTTgggtgtt	gcttatgggt	ctgatttaac	actcgttcgt	3060
caattattac	ttcaagcagc	tgatgaacag	ccgactgttt	tacgcgatcc	taaaccatct	3120
gcttattttt	taacttttgg	tgcaagtact	ttggatcacg	aattacgtgt	ttatgtagaa	3180
caagttggag	atcgtaccag	tactacagat	gctattaatc	gccgtattaa	tgaattattt	3240
gcagaacata	atattgatat	tgCctttaat	caattagatg	tatttatcaa	aaataatgac	3300
actggcgaag	aaattccttt	tgTTgatgta	aaaaaa			3336

<210> 22

<211> 1112

<212> PRT

5 <213> *Haemophilus influenzae*

<220>

<221> SEÑAL

<222> (1)..(31)

<400> 22

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

Gln Ser Phe Trp Val Lys Ser Asn Asn Pro Ile Asn Leu Asp Trp Ile
 450 455 460
 Lys Met Leu Pro Arg Ala Leu Ile Glu Gln Phe Asn Gly Met Leu Lys
 465 470 475
 Lys Leu Gly Phe Pro Thr Asn Tyr Asp Asn Leu Pro Tyr Leu Leu Met
 485 490 495
 Tyr Phe Leu Gly Leu Phe Ile Val Gly Gly Ala Ile Phe Lys Phe Lys
 500 505
 Asn Arg Ile Lys Gln Gln Leu Asn Lys Ile Asn Arg Glu Ile His Arg
 515 520 525
 Leu Asp Thr Asp Ser Gln Trp Ser Thr Pro Leu Ala Leu Leu Thr
 530 535 540
 Ala Phe Leu Thr Leu Ser Ser Thr Leu Trp Phe Leu Ala Val Cys Gln
 545 550 555
 Met Ile Gly Phe Phe Phe Lys Asn Pro Glu Glu Phe Trp His Trp
 565 570 575
 Ser Phe Ser Met Ala Ser Tyr Trp Trp Phe Phe Thr Phe Trp Ile Ser
 580 585 590
 Leu Phe Arg Pro Asn Gly Ile Phe Val Asn His Phe Glu Ser Ser Lys
 595 600 605
 Glu Asn Ala Gln Arg Phe Arg Gly Val Ile Gln Arg Ile Ile Ile Ala
 610 615 620
 Ile Val Leu Leu Leu Asn Thr Ser Val Phe Ser Asn Val Thr Asp Ser
 625 630 635
 Gly Leu Ala Asn Asp Val Leu Gly Glu Ile Asn Thr Ile Thr Ala Leu
 645 650 655
 Ile Phe Cys Thr Ala Ile Ile Ala Pro Arg Phe Asn Arg Val Leu Arg
 660 665 670
 Ser Tyr Glu Pro Glu Thr Asn Lys His His Trp Leu Ile Lys Ile Val
 675 680 685
 Gln Ile Gly Leu Arg Leu Ile Pro Val Gly Leu Ile Val Leu Ile Val
 690 695 700
 Leu Gly Tyr Tyr Tyr Thr Ala Leu Asn Leu Ile Glu His Phe Ile His
 705 710 715 720
 Ser Tyr Ile Ala Trp Cys Val Trp Trp Leu Val Arg Asn Thr Ile Tyr
 725 730 735
 Arg Gly Ile Thr Val Ser Ser Arg Arg Leu Ala His Arg Arg Leu Ala
 740 745 750
 Glu Lys Arg Arg Gln Lys Ala Leu Glu Asn Asn Tyr Glu Asn Ile Ser
 755 760 765
 Ser Asp Asp Val Val Ala Val Gly Glu Pro Glu Glu Gly Leu Ala Leu
 770 775 780
 Asn Asp Val Arg Ser Gln Leu Leu Arg Phe Val Asp Leu Phe Ile Trp
 785 790 795 800
 Thr Ala Leu Leu Gly Ile Phe Tyr Tyr Val Trp Ser Asp Leu Val Thr
 805 810 815
 Val Val Ser Tyr Leu Arg Glu Ile Thr Leu Trp Gln Gln Thr Thr Thr
 820 825 830
 Thr Asp Ala Gly Thr Val Met Glu Ser Ile Thr Leu Phe Asn Leu Leu
 835 840 845
 Val Ala Leu Val Ile Leu Gly Ile Thr Tyr Val Leu Val Arg Asn Ile
 850 855 860
 Ser Gly Ile Leu Glu Val Leu Ile Phe Ser Arg Val Asn Leu Ser Gln
 865 870 875 880
 Gly Thr Pro Tyr Thr Ile Thr Thr Leu Leu Thr Tyr Ile Phe Ile Ala
 885 890 895
 Ile Gly Gly Ala Trp Ala Phe Ala Thr Leu Gly Met Ser Trp Ser Lys
 900 905 910
 Leu Gln Trp Leu Phe Ala Ala Leu Ser Val Gly Leu Gly Phe Gly Met
 915 920 925
 Gln Glu Ile Phe Ala Asn Phe Val Ser Gly Ile Ile Leu Leu Phe Glu
 930 935 940
 Arg Pro Ile Arg Val Gly Asp Val Val Thr Ile Asn Gly Val Ser Gly
 945 950 955 960
 Thr Val Ala Lys Ile Arg Ile Arg Ala Ile Thr Leu Ile Asp Phe Asp
 965 970 975
 Arg Lys Glu Ile Ile Val Pro Asn Lys Ser Phe Val Thr Gly Gln Val
 980 985 990
 Thr Asn Trp Ala Leu Ser Ser Thr Met Thr Arg Leu Val Ile Ser Val
 995 1000 1005
 Gly Val Ala Tyr Gly Ser Asp Leu Thr Leu Val Arg Gln Leu Leu
 1010 1015 1020
 Leu Gln Ala Ala Asp Glu Gln Pro Thr Val Leu Arg Asp Pro Lys
 1025 1030 1035
 Pro Ser Ala Tyr Phe Leu Thr Phe Gly Ala Ser Thr Leu Asp His
 1040 1045 1050
 Glu Leu Arg Val Tyr Val Glu Gln Val Gly Asp Arg Thr Ser Thr

1055	1060	1065
Thr Asp Ala Ile Asn Arg	Arg Ile Asn Glu Leu	Phe Ala Glu His
1070	1075	1080
Asn Ile Asp Ile Ala Phe	Asn Gln Leu Asp Val	Phe Ile Lys Asn
1085	1090	1095
Asn Asp Thr Gly Glu Glu	Ile Pro Phe Val Asp	Val Lys Lys
1100	1105	1110

<210> 23

<211> 816

<212> ADN

5 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 23

atgaaattaa	aacaactttt	tgcaatcact	gcaatcgc	cagctctcgt	tttaacaggc	60
tgtaaagaag	acaaaaaacc	tgaagcagca	gcaccgctta	aaatcaaagt	aggcgtgatg	120
tctggccctg	agcatcaagt	tcagaaaatt	gcagcaaaag	tcgctaaaga	aaaatatggt	180
ttagacgttc	aattcgttga	attcaatgac	tacgcattac	caaatagaagc	tgtagctaaa	240
ggtgatttag	atgcaaacgc	aatgcaacat	aaaccttatt	tagatgaaga	tgcaaaagcg	300
aaaaatttaa	ataacttagt	tatcgtgggt	aatactttcg	tctatccatt	agcgggttat	360
tctaaaaaaa	tcaaaaatgt	gaatgaatta	caagacgggtg	ctaaagtgtg	tggttcctaac	420
gatccaacaa	accgtgggtcg	tgcatthaatt	cttcttgaaa	aacaagggtt	aatcaaatta	480
aaagatgcaa	ataaccttct	ttcaactgta	ttagatattg	ttgaaaatcc	gaaaaaatta	540
aacatcactg	aagtagatac	ttctgttgcg	gcacgcgc	tagacgacgt	tgatttagct	600
gtagtaaaca	atacttatgc	gggtcaagta	ggcttaaatg	ctcaagatga	cggtgtat	660
gtagaagata	aagattctcc	atatgtgaac	attatcggtt	ctcgtaccga	taacaaagac	720
agcaaagctg	ttcaagattt	cgtaaaatct	taccaaacag	aagaagttaa	ccaagaagct	780
caaaaacact	ttaaagatgg	cggttgtaaaa	ggttgg			816

<210> 24

<211> 272

10 <212> PRT

<213> *Haemophilus influenzae*

<220>

<221> SEÑAL

<222> (1)..(13)

15 <400> 24

Met Lys Leu Lys Gln Leu Phe Ala Ile Thr Ala Ile Ala Ser Ala Leu
1 Val Leu Thr Gly Cys Lys Glu Asp Lys Lys Pro Glu Ala Ala Ala Pro
20 Leu Lys Ile Lys Val Gly Val Met Ser Gly Pro Glu His Gln Val Ala
35 Glu Ile Ala Ala Lys Val Ala Lys Glu Lys Tyr Gly Leu Asp Val Gln
50 Phe Val Glu Phe Asn Asp Tyr Ala Leu Pro Asn Glu Ala Val Ala Lys
65 Gly Asp Leu Asp Ala Asn Ala Met Gln His Lys Pro Tyr Leu Asp Glu
80 Asp Ala Lys Ala Lys Asn Leu Asn Asn Leu Val Ile Val Gly Asn Thr
100 Phe Val Tyr Pro Leu Ala Gly Tyr Ser Lys Lys Ile Lys Asn Val Asn
115 Glu Leu Gln Asp Gly Ala Lys Val Val Val Pro Asn Asp Pro Thr Asn
130 Arg Gly Arg Ala Leu Ile Leu Leu Glu Lys Gln Gly Leu Ile Lys Leu
145 Lys Asp Ala Asn Asn Leu Leu Ser Thr Val Leu Asp Ile Val Glu Asn
160 Pro Lys Lys Leu Asn Ile Thr Glu Val Asp Thr Ser Val Ala Ala Arg
175 Ala Leu Asp Asp Val Asp Leu Ala Val Val Asn Asn Thr Tyr Ala Gly
190 Gln Val Gly Leu Asn Ala Gln Asp Asp Gly Val Phe Val Glu Asp Lys
205 Asp Ser Pro Tyr Val Asn Ile Ile Val Ser Arg Thr Asp Asn Lys Asp
220 Ser Lys Ala Val Gln Asp Phe Val Lys Ser Tyr Gln Thr Glu Glu Val
235 Tyr Gln Glu Ala Gln Lys His Phe Lys Asp Gly Val Val Lys Gly Trp
260 265 270

<210> 25

<211> 33

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Cebador AMJ342

<400> 25 caaggcggtt tcatatgcct gtcattcggc agg 33

<210> 26

10 <211> 45

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Cebador HAMJ343

15 <400> 26 ctaattgacc tcgagttttg ctgccttttaa ttcttgataa tattg 45

<210> 27

<211> 41

<212> ADN

20 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Cebador HAMJ345
 <400> **27 gtaaggaaac atacatatga aaaaactttt aaaaattagt g** 41
 <210> 28
 5 <211> 40
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador HAMJ344
 10 <400> **28 ttagagactc gagtttagct aaacattcta ttagctatc** 40
 <210> 29
 <211> 38
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 15 <220>
 <223> Cebador HAM3348
 <400> **29 cctaacattg acatatgctt atgaaactaa aagcaaca** 38
 <210> 30
 <211> 34
 20 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador HAMJ349
 <400> **30 tcaatatctc gagtttacca tcaacactca cacc** 34
 25 <210> 31
 <211> 42
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 30 <223> Cebador HAMJ346
 <400> **31 ctaataagga aaaccatatg atgaacagac gtcattttat tc** 42
 <210> 32
 <211> 39
 <212> ADN

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador HAMJ399
 <400> **32** gacctagctc gagtttagat aaatcaattt gatacactg **39**
 5 <210> 33
 <211> 41
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 10 <223> Cebador HAMJ376
 <400> **33** cataaggagt aacatatgaa aaaaattatt ttaacattat c **41**
 <210> 34
 <211> 31
 <212> ADN
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador HAMJ377
 <400> **34** gtgcagattc tcgagttttt tatcaactga a **31**
 <210> 35
 20 <211> 33
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador HAMJ460
 25 <400> **35** ctggacagac catatgcctt ctgatttagt cgc **33**
 <210> 36
 <211> 36
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Cebador HAMJ461
 <400> **36** ctaaattgag ctgcagatta gttttaatt tactcc **36**
 <210> 37
 <211> 38
 35 <212> ADN

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador HAMJ458
 <400> 37 ctttcttata gcatatgaag aaatttttaa ttgcgatt 38
 5 <210> 38
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 10 <223> Cebador HAMJ459
 <400> 38 ctccgcact cgagttggc attttc 27
 <210> 39
 <211> 35
 <212> ADN
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador HAMJ477
 <400> 39 ggaaggagct agcatgaaaa tgaaaaaatt tattc 35
 <210> 40
 20 <211> 29
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador HAMJ478
 25 <400> 40 ttgatactct cgagtttatt aaaatactg 29
 <210> 41
 <211> 37
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Cebador HAMJ481
 <400> 41 cttaatcac atatgactat gtttaaaaaa atctctg 37
 <210> 42
 <211> 30
 35 <212> ADN

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador HAMJ482
 <400> **42** caccaatctc gagtttagat gtacaggctt 30
 5 <210> 43
 <211> 31
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 10 <223> Cebador HAMJ78
 <400> **43** acccgcatgg ctgttcaaat ctacttgga g 31
 <210> 44
 <211> 31
 <212> ADN
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador HAMJ79
 <400> **44** actcgtcgac ttagtttgca actggtacaa t 31
 <210> 45
 20 <211> 35
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador HAMJ414
 25 <400> **45** gattaggggaa aacatatgat taggaaactt atgaa 35
 <210> 46
 <211> 31
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Cebador HAMJ415
 <400> **46** ccataatttg ctcgagtttt ttacatcaa c 31
 <210> 47
 <211> 35
 35 <212> ADN

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador HAMJ450
 <400> 47 ggaaggagct agcatgaaat taaaacaact ttttg 35
 5 <210> 48
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 10 <223> Cebador HAMJ411
 <400> 48 gtgcggtagc tcgagccaac cttttac 27
 <210> 49
 <211> 379
 <212> PRT
 15 <213> *Haemophilus influenzae*
 <400> 49

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

<210> 50

<211> 379

5 <212> PRT

<213> *Haemophilus influenzae*

<400> 50

```

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

```

<210> 51

<211> 379

<212> PRT

5 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 51

```

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

```

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

REIVINDICACIONES

1. Un polipéptido aislado seleccionado de:

(a) un polipéptido que tiene más de un 99% de identidad con la secuencia aminoacídica expuesta en la SEQ ID NO: 10;

5 (b) un polipéptido que comprende la secuencia aminoacídica expuesta en la SEQ ID NO: 10;

(c) el polipéptido de (a) o (b), en el que se elimina el residuo Met N-terminal; y

(d) el polipéptido de (a) o (b), en el que se elimina la secuencia aminoacídica secretora;

en el que el polipéptido aislado puede desencadenar una respuesta inmunitaria ante *Haemophilus influenzae*.

2. Una composición farmacéutica inmunogénica que comprende un polipéptido aislado seleccionado de:

10 (a) un polipéptido que tiene al menos un 70% de identidad con la secuencia aminoacídica expuesta en la SEQ ID NO:10;

(b) un polipéptido que tiene al menos un 80% de identidad con la secuencia aminoacídica expuesta en la SEQ ID NO:10;

15 (c) un polipéptido que tiene al menos un 85% de identidad con la secuencia aminoacídica expuesta en la SEQ ID NO:10;

(d) un polipéptido que tiene al menos un 90% de identidad con la secuencia aminoacídica expuesta en la SEQ ID NO:10;

(e) un polipéptido que tiene al menos un 95% de identidad con la secuencia aminoacídica expuesta en la SEQ ID NO:10;

20 (f) un polipéptido que comprende la secuencia aminoacídica expuesta en la SEQ ID NO: 10;

(g) un polipéptido que comprende un fragmento inmunogénico consistente en al menos 15 aminoácidos contiguos de la secuencia aminoacídica expuesta en la SEQ ID NO: 10, en el que el fragmento inmunogénico puede desencadenar una respuesta inmunitaria ante *Haemophilus influenzae*;

(h) el polipéptido de (a), (b), (c), (d), (e), (f) o (g), en el que se elimina el residuo Met N-terminal; y

25 (i) el polipéptido de (a), (b), (c), (d), (e), (f) o (g), en el que se elimina la secuencia aminoacídica secretora;

en la que el polipéptido aislado puede desencadenar una respuesta inmunitaria ante *Haemophilus influenzae*;

y un portador, diluyente o coadyuvante farmacéuticamente aceptable.

3. Una composición farmacéutica según la reivindicación 2, en la que el polipéptido es como se define en la reivindicación 1.

30 4. Una composición farmacéutica según la reivindicación 2 o 3 para uso en el tratamiento profiláctico o terapéutico de otitis media, sinusitis, bronquitis, neumonía y meningitis o bacteremia mediada por infección bacteriana por *Haemophilus influenzae*.

35 5. Una composición farmacéutica según la reivindicación 2 o 3 para su uso en el tratamiento profiláctico o terapéutico de infección bacteriana por *Haemophilus influenzae* en un individuo susceptible de infección por *Haemophilus influenzae*.

6. Una composición farmacéutica según la reivindicación 2 o 3 para su uso en el tratamiento profiláctico o terapéutico de infección por *Haemophilus influenzae*.

40 7. Una composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 6, en la que (a) *Haemophilus influenzae* es *Haemophilus influenzae* no tipable o (b) *Haemophilus influenzae* es *Haemophilus influenzae* tipable.

Figura 1

```

1  ATGCCTGTCA  TTCGGCAGGT  GGTTTTTTTAC  GACTCTTTTAA  CAGGAGAACA
51  AACAAAAATG  AAAAAATTTG  CAGGTTTAAT  TACTGCCAGC  TTCGTAGCTG
101 CAACTTTAAC  CGCTTGCAAC  GATAAAGATG  CTAAGCAAGA  AACTGCAAAA
151 GCTACGGCTG  CTGCTAATGA  CACTGTGTAT  CTCTACACTT  GGACAGAATA
201 TGTACCAGAT  GGTCTTTTAG  ATGAGTTTAC  TAAAGAAACT  GGCATCAAAG
251 TTATCGTTTC  AAGCCTAGAA  TCAAACGAAA  CAATGTACGC  AAAACTCAAA
301 ACTCAAGGCG  AGTCTGGTGG  CTATGATGTT  ATCGCACCTT  CTAACACTT
351 CGTTTCTAAA  ATGGCACGCG  AAGGAATGTT  AAAAGAACTT  GATCACAGCA
401 AATTACCTGT  TCTTAAAGAA  TTAGATCCTG  ATTGGCTCAA  TAAACCTTAT
451 GATAAAGGTA  ACAAATACTC  TCTTCCGCAA  CTTTtagGTG  CGCCGGGTAT
501 CGCATTCAAT  ACCAACACTT  ACAAAGGCGA  ACAATTCACT  TCTTGGGCAG
551 ACTTATGGAA  ACCTGAATTT  GCAAACAAAG  TTCAGTTATT  AGACGATGCG
601 CGCGAAGTAT  TCAACATCGC  TTTATTGAAA  ATTGGTCAAG  ATCCAAATAC
651 TCAAGATCCA  GCCATTATCA  AACAAGCCTA  TGAAGAATTA  TTGAAATTAC
701 GTCCAAATGT  ACTTTCCTTC  AATTCCGATA  ACCCAGCTAA  CTCGTTCATC
751 TCAGGCGAAG  TGGAAGTGGG  TCAATTATGG  AATGGTTCGG  TACGTATTGC
801 TAAAAAAGAA  AAAGCACCTT  TAAATATGGT  ATTCCCAAAA  GAGGGTCCTG
851 TACTTTGGGT  TGATACACTT  GCAATTCCTG  TAACAGCTAA  AAATCCTGAA
901 GGCGCACACA  AGCTGATTAA  CTACATGTTA  GGGAAAAAAA  CAGCTGAAAA
951 ATTAACCTTA  GCTATCGGTT  ACCCAACCTC  AAATATTGAA  GCGAAAAAAG
1001 CATTACCAA  AGAAATCACT  GAAGATCCAG  CGATTTATCC  GTCAGCTGAT
1051 ATATTAAAAA  ATAGTCACTG  GCAAGATGAC  GTTGGCGATG  CAATTCAATT
1101 CTATGAACAA  TATTATCAAG  AATTAAAAGC  AGCAAAATAA  (SEQ ID NO: 1)

```

Figura 2

```

1  MPVIRQVVFY  DSLTGEQTKM  KKFAGLITAS  FVAATLTACN  DKDAKQETAK
51  ATAAANDTVY  LYTWTEYVPD  GLLDEFTKET  GIKVIVSSLE  SNETMYAKLK
101 TQGESGGYDV  IAPSNYFVSK  MAREGMLKEL  DHSKLPVLKE  LDPDWLNKPY
151 DKG NKYS LPQ  LLGAPGIAFN  TN TYKGEQFT  SWADLWKPEF  ANKVQLLDDA
201 REVFNIALLK  IGQDPNTQDP  AIIKQAYEEL  LKLRPNVLSF  NSDNPNANSFI
251 SGEVEVGQLW  NGSVRIAKKE  KAPLNMVFPK  EGPVLWVDTL  AIPVTAKNPE
301 GAHKLIN YML  GKKTAEKLT L  AIGYPTSNIE  AKKALPKEIT  EDP AIYPSAD
351 ILKN SHWQDD  VGDAIQFYEQ  YYQELKAAK  (SEQ ID NO: 2)

```

Figura 3

```

1  ATGAAAAAAC  TTTTAAAAAT  TAGTGCCGTT  TCTGCCGCAC  TTTTAAGTGC
51  GCCAATGATG  GCGAATGCCG  ATGTATTAGC  ATCAGTAAAA  CCTTTAGGCT
101 TTATTGTTTC  ATCTATTGCA  GATGGCGTAA  CTGGTACACA  AGTCCTTGTT
151 CCTGCTGGCG  CCTCTCCGCA  TGATTACAAT  TTGAAATTAT  CTGATATTCA
201 AAAAGTAAAA  TCTGCAGATT  TAGTTGTATG  GATTGGTGAA  GACATTGATT
251 CATTCTTAGA  CAAACCAATT  AGCCAAATTG  AACGTAAAAA  AGTGATTACC
301 ATTGCCGATC  TTGCGGATGT  AAAACCTTTA  TTAAGTAAAG  CTCACCACGA
351 GCATTTCCAT  GAAGATGGCG  ATCATGATCA  TGACCATAAG  CACGAACACA
401 AACATGATCA  TAAACATGAC  CATGACCATG  ATCATAAACA  CGAGCATAAA
451 CACGATCACG  AACATCATGA  TCACGATCAT  CACGAGGGTT  TAACAACAAA
501 CTGGCACGTT  TGGTATTCTC  CAGCTATCAG  CAAAATTGTT  GCACAAAAAG
551 TAGCGGATAA  ATTAAGTGCA  CAATTCCAG  ATAAAAAAGC  GTTAATTGCA
601 CAAAATCTTT  CAGATTTTAA  CCGCACTTTG  GCAGAACAAA  GTGAAAAAAT
651 TACGGCACAA  CTTGCAAATG  TTAAAGATAA  AGGTTTCTAC  GTTTTCCACG
701 ATGCTTATGG  TTATTTCAAC  GATGCTTATG  GGTAAAAACA  AACAGGTTAC

751 TTTACCATCA  ATCCATTAGT  AGCACCAGGT  GCAAAAACCT  TAGCGCACAT
801 TAAAGAAGAA  ATTGATGAAC  ATAAAGTAAA  TTGCTTATTC  GCAGAGCCTC
851 AATTTACGCC  AAAAGTGATT  GAGTCTTTAG  CGAAAAATAC  TAAAGTCAAT
901 GTAGGACAGC  TCGACCCAAT  TGGCGATAAA  GTTACTTTAG  GTAAAAATTC
951 TTATGCAACA  TTCTTGCAAT  CTACTGCAGA  TAGCTACATA  GAATGTTTAG
1001 CTAAATAA (SEQ ID NO: 3)

```

Figura 4

```

1  MKKLLKISAV  SAALLSAPMM  ANADVLA SVK  PLGFIVSSIA  DGVGTGTQVLV
51  PAGASPHDYN  LKLSDIQKVK  SADLVVWIGE  DIDSFLDKPI  SQIERKKVIT
101 IADLADV KPL  LSKAHHEHFH  EDGDHDHDK  HEHKHDHDKH  HDHDKHEHK
151 HDHEHHDHDK  HEGLTTNWHV  WYSPAISKIV  AQKVADKLTA  QFPDKKALIA
201 QNLSDFNRTL  AEQSEKITAQ  LANVKDKGFY  VFHDAYGYFN  DAYGLKQTGY
251 FTINPLVAPG  AKTLAHIKEE  IDEHKVNCLF  AEPQFTP KVI  ESLAKNTKVN
301 VGQLDPIGDK  VTLGKNSYAT  FLQSTADSYI  ECLAK* (SEQ ID NO: 4)

```

Figura 5

```

1  ATGCTTATGA  AACTAAAAGC  AACATTAAC  CTCGCCGCTG  CAACTCTTGT
51  TTTGGCAGCT  TGTGATCAAT  CTAGCTCGGC  AAATAAATCT  ACCGCTCAAA
101 CTGAAGCAAA  ATCCTCGTCA  AATAATACTT  TCGTTTATTG  CACAGCGAAA
151 GCTCCATTGG  GATTTAGCCC  TGCCTTAATA  ATTGAAGGTA  CTTCTTATAA
201 TGCAAGCTCA  CAACAAGTGT  ATAACCGCTT  AGTTGAATTT  AAAAAAGGCT
251 CAACGGATAT  TGAACCAGCT  TTAGCTGAAA  GCTGGGAAAT  TAGCGATGAT
301 GGCTTAAGTT  ATACTTTTCA  TTTGAGAAAA  GGGGTAAAT  TCCACACAAC
351 AAAAGAATTT  ACCCCGACAC  GTGATTTTAA  TGCAGATGAT  GTTGTATTTT
401 CATTCCAACG  TCAGTTAGAT  CCAAATCATC  CATATCACAA  TGTATCTAAG
451 GGGACTTATC  CATATTTTAA  AGCAATGAAA  TTCCCTGAAT  TGTGAAATC
501 AGTGGAGAAA  GTAGACGATA  ACACAATTTC  TATTACCTTA  AACAAGACAG
551 ATGCGACTTT  CTTGGCTAGT  CTTGGTATGG  ATTTTATTTT  TATTTATTCT
601 GCAGAATATG  CTGATTCAAT  GCTGAAAGCG  GGTAACCAG  AAACGCTTGA
651 TAGTCGCCCA  GTGGGGACAG  GCCCTTTTGT  TTTTGTGGAT  TATAAACAG
701 ATCAAGCCAT  ACAATATGTT  GCGCATGAAA  ATTATTGGAA  AGGTAGAACA
751 CCTTTAGATC  GTTTAGTCAT  TAGCATTGTG  CCTGATGCAA  CAACACGTTA
801 TGCAAAATTA  CAGGCGGGTA  CTTGCGATTT  AATTTTATTC  CCAAATGTAG
851 CGGATTTAGC  CAAAATGAAA  ACCGATCCAA  AAGTACAAC  TTTGGAACAA
901 AAAGGTTTGA  ACGTAGCGTA  TATCGCATTC  AATACCGAAA  AAGCACCGTT
951 TGATAATGTC  AAAGTGCGCC  AAGCGTTGAA  TTACGCAGTG  GATAAAAAAG
1001 CGATTATTGA  AGCGGTTTAT  CAAGGCGCAG  GAACATCAGC  TAAAAACCCA
1051 CTTCTCTCAA  CAATTTGGAG  TTATAATGAT  GAAATCCAAG  ATTATCCGTA
1101 CGATCCAGAA  AAAGCAAAAC  AACTTTTAGC  AGAAGCGGGT  TATCCAAATG
1151 GTTTTGAAAC  TGATTTCTGG  ATTCAACCTA  TTATTCGTGC  TTCTAATCCA
1201 AATCCAAAAC  GTATGGCTGA  ATTAATTATG  GCGGATTGGG  CGAAAATTGG
1251 TGTA AAAACT  AACCAGTGA  CTTATGAATG  GGCTGATTAT  AGAAAACGAG
1301 CAAAAGAGGG  AGAATTAAC  GCGGGTATCT  TTGGTTGGTC  TGGCGACAAT
1351 GGCGATCCTG  ATAATTTCTT  ATCCCATTA  TTAGGTAGCT  CAAATATAGG
1401 TAATTCTAAT  ATGGCACGTT  TCAATAATTC  AGAATTGAT  GCTTTACTCA
1451 ATGAGGCTAT  TGGATTAACC  AATAAGGAAG  AACGTGCGAA  ACTTTATAAA
1501 CAAGCTCAAG  TTATTGTCCA  TAATCAAGCA  CCTTGGATTC  CAGTTGCCCA
1551 CTCTGTTGGT  TTTGCGCCAC  TTAGTCCTCG  TGTA AAAGGT  TATGTACAAA
1601 GCCCATTTGG  CTATGACGCT  TTTTATGGTG  TGAGTGTTGA  TGGTAAATAA
(SEQ ID NO: 5)

```

Figura 6

```

1  MLMKLKATLT  LAAATLVLA  CDQSSSANKS  TAQTEAKSSS  NNTFVYCTAK
51  APLGFSPALI  IEGTSYNASS  QQVYNRLVEF  KKGSTDIEPA  LAESWEISDD
101 GLSYTFHLRK  GVKFHTTKEF  TPTRDFNADD  VVFSFQRQLD  PNHPYHNVSK
151 GTYPYFKAMK  FPELLKSVEK  VDDNTIRITL  NKTDATFLAS  LGMDFISIYS
201 AEYADSM LKA  GKPETLDSRP  VGTGPFVFD  YKTDQAIQYV  AHENYWKGR
251 PLDRLVISIV  PDATTRYAKL  QAGTCDLILF  PNVADLAKMK  TDPKVQLLEQ
301 KGLNVAYIAF  NTEKAPFDNV  KVRQALNYAV  DKKAIIEAVY  QGAGTSAKNP
351 LPPTIWSYND  EIQDYPYDPE  KAKQLLAEAG  YPNGFETDFW  IQPIIRASNP
401 NPKRMAELIM  ADWAKIGVKT  NPVTYEWADY  RKRAKEGELT  AGIFGWSGDN
451 GPDNFLSPL  LGSSNIGNSN  MARFNNSEFD  ALLNEAIGLT  NKEERAKLYK
501 QAQVIVHNQA  PWIPVAHSVG  FAPLSPRVKG  YVQSPFGYDA  FYGVSVDGK*
(SEQ ID NO: 6)

```

Figura 7

```

1  ATGATGAACA  GACGTCATTT  TATTCAAATT  GGTGCGACCA  GTATTCTTG
51  ATTAAGTGCA  AACCGTTTTG  CGATGGCAAA  AGGAAAGAGC  GATGTTGATT
101 TACGCATTGT  GGCAACAACA  GATGTTTATA  GTTTCCTTGAC  CGATTTTGAC
151 TATTATAAAG  ATGCACCAAC  CGATAAATTC  GGTTTTACTC  GTGCGGCAAG
201 CCTTATTCGT  CAAGCACGTG  CTAAAGTAAA  AAATAGCGTA  TTGGTAGATA
251 ATGGGGATTT  AATTCAAGGT  AATCCAATTG  CAGACTATCA  AGCCGCACAA
301 GGCTATAAAG  AGGGTAAATC  TAACCCTGCG  GTCGATTGTT  TAAATGCGAT
351 GAATTATGAA  GTGGGTACAT  TAGGTAACCA  CGAATTTAAC  TATGGTCTCA
401 ATTATCTTGC  AGATGCCATC  AAACAAGCTA  AATTCCCAAT  TGTGAATGCT
451 AACGTAGTAA  AAGCGGGGAC  AGAAGAACCT  TATTTACACAC  CTTATGTCAT
501 TCAAGAAAAA  TCTGTGGTGG  ATAATAATGG  CAAAACACAT  AAATTAAAAA
551 TTGGTTACAT  CGGTTTTGTG  CCACCGCAAA  TTATGGTTTG  GGATAAAGCA
601 AACCTTCAAG  GCAAAGTTGA  AACCCGTGAT  ATTGTAAAAA  CAGCGCAAAA
651 ATATGTACCT  GAAATGAAGA  AAAAAGGGGC  TGATATTGTC  GTTGCATTAG
701 CTCACACTGG  TCCATCTGAT  GAACCTTATC  AAGAAGGTGC  TGAAAACTCA
751 GCATTCTATC  TAGCGGATGT  TCCACACATT  GATGCGGTTA  TTTTGTGTC
801 CTCACACCGT  TTATTCCCAA  ATAAAGAATT  CGCAAAATCA  CCAAATGCAG
851 ACATCGTAAA  TGGTACCGTA  AAAGGCGTAC  CAGAAAGTAT  GGCTGGTTAC
901 TGGGCAAATA  ATATCAGCGT  GGTGGATTTA  GGCTTAACAG  AACACAAGGG
951 TAAATGGATC  GTGACTTCTG  GCAAAGCTGT  GCTTCGTCCA  ATTTATGATG
1001 TAGAAACCAA  AAAAGCACTT  GCAAAAAATG  ACCCAGAAAT  TACCGCACTT
1051 TTAAACCAAG  TTCACGAAGC  AACACGTAAA  TATGTTTCTC  AACCTATCGG
1101 CAAAGCCACA  GACAATATGT  ATAGTTACCT  TGCATTAATA  CAAGATGATC
1151 CAACCATTCA  AATTGTAAAC  CAAGCACAAA  AAGCGTATGT  AGAGAAAGTT
1201 GCACCAAGTG  TTGCAGCAAT  GGCTGGCTTA  CCTATTTTAA  GTGCAGGTGC
1251 TCCATTTAAA  GCGGGTGGTC  GTAAAAATGA  CCCAACGGGC  TATACCGAAG
1301 TAAATAAAGG  TGAATTAACT  TTCCGTAATG  CAGCAGACTT  ATACCTTTAT
1351 CCAAATACGC  TAGTGGTTGT  TAAAGCGACA  GCGGAACAAT  TAAAAGAATG
1401 GTTAGAATGT  AGTGCTGGTA  TGTTTAAACA  AATTGACCCT  ACAAGTGATA
1451 AACCACAATC  ATTAATCGAC  TGGGAAGGTT  TCCGCACTTA  TAACTTTGAT
1501 GTGATTGATG  GTGTCAATTA  TGAATACGAT  CTAACCAAAC  CAGCTCGTTA
1551 CGATGGCGAA  TGTAAGTTAA  TCAACCCAGA  ATCGCATCGT  GTAGTGAATC
1601 TCACTTATCA  AGGTAAACCA  GTTGATCCAA  AAGCAGAATT  TTTGATTGCA
1651 ACGAATAACT  ATCGTGCTTA  CGGCAATAAA  TTCCAGGTA  CTGGCGATCA
1701 ACATATTGTT  TACGCATCAC  CAGATGAAAG  CCGTCAAATT  TTGGCTGATT

1751 ATATTAAAGC  AACCAGTGAG  AAAGAGGGTT  CAGTCAATCC  AAATGCGGAT
1801 AAAAAGTGGC  GTTTTGTGCC  TATCACAGGT  AACGATAAAT  TAGATGTCCG
1851 TTTTGAAACA  TCGCCAAGCG  AACAAAGCGC  GAAATTTATC  GCAGAAAAAG
1901 CACAATACCC  AATGAAACAA  GTGGGTACTG  ACGAAATCGG  TTTTGCAGTG
1951 TATCAAATTG  ATTTATCTAA  ATAA (SEQ ID NO: 7)

```

Figura 8

```

1 MMNRRHFIQI GATSILALSA NRFAMAKGKS DVDLRIVATT DVHSFLTDFD
51 YYKDAPTDKF GFTRAASLIR QARAKVKNSV LVDNGDLIQG NPIADYQAAQ
101 GYKEGKSNPA VDCLNAMNYE VGT LGNHEFN YGLNYLADAI KQAKFPIVNA
151 NVVKAGTEEP YFTPYVIEK SVVDNNGKTH KLGIGYIGFV PPQIMVWDKA
201 NLQGVETRD IVKTAQKYVP EMKKKGADIV VALAHTGPSD EPYQEGAENS
251 AFYLADVPHI DAVIFGHSHR LFPNKEFAKS PNADIVNGTV KGVPESMAGY
301 WANNISVVDL GLTEHKGKWI VTSGKAVLRP IYDVETKKAL AKNDPEITAL
351 LKPVHEATRK YVSQPIGKAT DNMYSYLALI QDDPTIQIVN QAQKAYVEKV
401 APSVAAMAGL PILSAGAPFK AGGRKNDPTG YTEVNKGELT FRNAADLYLY
451 PNTLVVVKAT GEQLKEWLEC SAGMFKQIDP TSDKPQSLID WEGFRTYNFD
501 VIDGVNYEYD LTKPARYDGE CKLINPESHR VVNLT YQGKP VDPKAEFLIA
551 TNNYRAYGNK FPGTGDQHIV YASPDESROI LADYIKATSE KEGSVNPNAD
601 KNWRFVPITG NDKLDVRFET SPSEQAAKFI AEKAQYPMKQ VGTDEIGFAV
651 YQIDLSK* (SEQ ID NO: 8)

```

Figura 9

```

1 ATGAAAAAAA TTATTTTAAC ATTATCACTT GGGTTACTTA CCGCTTGGTC
51 TGCTCAAATC CAAAAGGCTG AACAAAATGA TGTGAAGCTG GCACCGCCGA
101 CTGATGTACG AAGCGGATAT ATACGTTTGG TAAAGAATGT GAATTATTAC
151 ATCGATAGTG AATCGATCTG GGTGGATAAC CAAGAGCCAC AAATTGTACA
201 TTTTGATACA GTGGTGAATT TAGATAAGGG ATTGTATGTT TATCCTGAGC
251 CTAAACGTTA TGCACGTTCT GTTCGTCAGT ATAAGATTTT GAATTGTGCA
301 AATTATCATT TAACTCAAGT ACGAACTGAT TTCTATGATG AATTTTGGGG
351 ACAGGGTTTG CGGGCAGCAC CTAAAAAGCA AAAGAAACAT ACGTTAAGTT
401 TAACACCTGA TACAACGCTT TATAATGCTG CTCAGATTAT TTGTGCAAAT
451 TATGGTAAAG CATTTTCAGT TGATAAAAAA TAA (SEQ ID NO: 9)

```

Figura 10

```

1 MKKIILTLSL GLLTAWSAQI QKAEQNDVKL APPTDVRSY IRLVKNVNY
51 IDSESIWVDN QEPQIVHFDV VVNLDKGLYV YPEPKRYARS VRQYKILNCA
101 NYHLTQVRTD FYDEFWQOGL RAAPKKQKKH TSLTLPDTTL YNAAQIICAN
151 YGKAFSVDKK * (SEQ ID NO: 10)

```

Figura 11

```

1 GTGCCTTCTG ATTTAGTCGC ACAGTTCTCT AAAGAAACTG GCATCGAGGT
51 AATTTATTCT ACCTTTGAAA GCAACGAAGA AATGTATGCG AAACCTAAAC
101 TTAATCAGAA TACGGGTTCT GGCTATGATT TGGTGTTTCC ATCAAGTTAC
151 TACGTAAATA AAATGATTAA GGAAAAGATG CTTCAACCGA TTGATCAAAG
201 TAAATTGACC AATATTCATC AAATCCCTAA ACATTTATTA AATAAAGAAT

```

```

251 TCGACCCAGA AAATAAATAT TCATTACCTT ACGTTTACGG CTTAACTGGT
301 ATTGAAGTTA ATGCGGATGA GATTGATCCT AAAACCATTA CCAGCTGGGC
351 AGATTTATGG AAACCTGAAT TTAAAGGCAA AGTTCTCATG ACCAGTGATG
401 CGCGTGAAGT GTTCCACGTA GCATTATTAC TGGATGGTAA ATCGCCAAAT
451 ACCACCAATG AAGAAGACAT CAAAACAGCT TATGAGCGTT TAGAAAAACT
501 GTTACCAAAT GTAGCGACTT TTAACCTCTGA TTCTCCTGAA GTCCCTTACG
551 TACAAGGCGA AGTTGCAATT GGTATGATTT GGAATGGTTC AGCTTATTTA
601 GCGCAGAAAG AAAATCAATC TCCTCAATTT GTGTATCCAA AAGAAGGTGC
651 AATTTTCTGG ATGGATAACT ATGCGATTCC GACTACAGCA AAAAATGTTG
701 AAGGTGCACA TAAGTTCATT GACTTCTTAC TTCGCCCTGA AAATGCAAAA
751 ATTGTTATCG AACGCATGGG CTTTTCTATG CCAAATAATG GGGCGAAAAC
801 ATTGCTAAGC GCGGAAGTTG CTAATGATCC AAAATTATTT CCACCAGCGG
851 AAGAAGTGGA AAAAGGAATT ATGCAAGGCG ATGTAGGAGA AGCGGTCGAT
901 ATTTATGAAA AATATTGGAG TAAATTAAAA ACTAATTAG (SEQ ID NO: 11)

```

Figura 12

```

1 MPSDLVAQFS KETGIEVIYS TFESNEEMYA KLKLTQNTGS GYDLVFPSSY
51 YVNKMIKEKM LQPIDQSKLT NIHQIPKHLN NKEFDPENKY SLPYVYGLTG
101 IEVNADEIDP KTITSWADLW KPEFKGKVLN TSDAREVFHV ALLLDGKSPN
151 TTNEEDIKTA YERLEKLLPN VATFNSDSPE VPYVQGEVAI GMIWNGSAYL
201 AQKENQSLQF VYPKEGAIFW MDNYAIPTTA KNVEGAHKFI DFLLRPENAK
251 IVIERMGFSM PNNGAKTLLS AEVANDPKLF PPAEEVEKGI MQGDVGEAVD
301 IYEKYWSKLL TN* (SEQ ID NO: 12)

```

Figura 13

```

1 ATGAAGAAAT TTTTAATTGC GATTTTACTT TTAATTTTGA TTTTAGCGGG
51 CGCGGCGAGT TTTGCTTATT ACAAATGAC TGAATTTGTA AAAACACCAG
101 TAAATGTGCA GGCAGATCAA CTTTTAACTA TTGAACGTGG CACAACAGGT
151 TCAAATTAG CCGCACTTTT TGAGCAAGAA AAGTTAATTG CTGATGGGAA
201 ATTATTACCT TATTTGCTGA AGTTGAAATC TGAGCTAAAT AAAATAAAAG
251 CAGGGACTTA TTCTCTTGAG AATGTTAAAA CTGTGCAAGA TTTACTGGAT
301 TTGCTTAATT CAGGTAAGGA AGTGCAGTTT AATGTAAAT GGATTGAAGG
351 AAAAATTTT AAGGATTGGC GAAAAGATCT TGAAAATGCA CCGCACTTGG
401 TGCAAACCTT GAAAGATAAG CGTAACGAAG ACATTTTTCAC ATTACTTGAC
451 TTGCCAGATG TCGGTCAAAA TCTTGAAC TAATAATGTGG AAGGTTGGCT
501 TTATCCTGAT ACTTATAATT ATACGCCTAA ATCCACAGAC TTAGAGCTAC
551 TTAAGCGATC GGCTGAGCAA ATGAAAAAGG CGTTAAATAA GGCTTGGAAC
601 GAGCGTGACG ATGATTTACC TTAGCGAAT CCTTATGAAA TGTTGATTTT
651 GGCTTCTATC GTAGAAAAAG AAACGGGTAT TGCTAATGAG AGAGCAAAAG
701 TGGCCTCTGT ATTTATCAAC CGTTTAAAG CAAAATGAA ATTACAGACG
751 GATCCAACGG TAATTTATGG TATGGGCGAA AATTACAATG GGAATATTCG
801 CAAAAAAGAT TTAGAAACCC TAACGCCTTA TAATACGTAT GTGATTGATG
851 GATTACCGCC AACACCTATT GCGATGCCAA GCGAAAGTTC GTTACAAGCT
901 GTTGCAAAAC CTGAAAAAAC AGATTTTAT TATTTTGTGG CAGATGGTTC
951 TGGTGGGCAT AAATTTACCC GAAATTTGAA TGAACATAAT AAAGCGGTGC
1001 AAGAATATTT ACGTTGGTAT CGCAGTCAGA AAAATGCCAA A (SEQ ID NO: 13)

```

Figura 14

```

1 MKKFLIAILL LILILAGAAS FAYYKMTEFV KTPVNVQADQ LLTIERGTTG
51 SKLAALFEQE KLIADGKLLP YLLKLKSELN KIKAGTYSLE NVKTVQDLLD
101 LLNSGKEVQF NVKWIEGKTF KDWRKDLNA PHLVQTLKDK RNEDIFTLLD
151 LPDVGQNLLEL KNVEGWLYPD TYNYPKSTD LELLKRSAEQ MKKALNKAWN
201 ERDDDLPLAN PYEMLILASI VEKETGIANE RAKVASVFIN RLKAKMKLQT
251 DPTVIYGMGE NYNGNIRKGD LETLTPYNTY VIDGLPPTPI AMPSESSLQA
301 VAKPEKTDYF YFVADGSGGH KFTRNLNEHN KAVQEYLRWY RSQKNAK
(SEQ ID NO: 14)

```

Figura 15

```

1 ATGAAAATGA AAAAATTTAT TCTAAAATCT TTTTATTGG CTACTTTGGG
51 ATGTGTCGCT TTCGCTTCTA TGGCACAAGC GGAGGAACGT GTCGTAGCGA
101 CAGTGGATGG TATTCCTGTT TTAGAAAGCC AAGTGCGTGC CAATATGGGT
151 AAAAAAGGTG ATCGCCAAAG TGCGATTGAT AAAATTATTG ATGATATTTT
201 GGTGCAAAAA GCAGTTC AAGTTCGAGT CAAAATTGAT CCTCGTGAAA
251 TTGATCATAT TGTGGAAGAC ACTGCGGCAA GAAATGGCTT AACTTATGGT
301 CAATTTTTGG ATGCGTTAGA TTACCAAGGC ATTTATTAA ATGCATTTTCG
351 TCAGCAAATT GCCAATCAAA TGGTGATGGG GGCTGTACGC AACAAAGCTA
401 TTCAAGAAAG CATTGATGTA ACGCGTGAAG AAGTTGTCGC ACTCGGTCAA
451 AAAATGTTAG AAGAAGCGAA AGAAAAGGGT ACGGCGCAGA AAGTTATGGG
501 GAAAGAGTAT GAAGTTCGCC ATATTTTGTG AAAACTTAAT CCATTGTAA
551 ATGATGCTCA AGCAAAAAAA CAATTAGCTA AAATTCGTTC TGATATTATT
601 GCAGGTAAAA CAACTTTTGC TGATGCCGCA TTAATAATAT CTAAAGATTA
651 TTTATCGGGT GCGAATGGCG GTAGTTTAGG TTATGCGTTC CCAGAACTT
701 ATGCACCACA GTTTGCGCAA ACCGTCGTGA AAAGTAAACA AGGTGTGATT
751 TCTGCACCAT TTAAACTGA GTTTGGTTGG CATATTTTGG AAGTAACTGG
801 CGTACGTGAT GGCGATCTTA CAGCAGAAGC CTACACACAA AAAGCATATG
851 AACGTTTAGT AAATACTCAA TTACAAGATG CGACGAACGA TTGGGTTAAA
901 GCATTGCGTA AAAGAGCGAA TATTCAGTAT TTTAATAAAT AA
(SEQ ID NO: 15)

```

Figura 16

```

1 MKMKKFILKS FLLATLGCVA FASMAQAEER VVATVDGIPV LESQVRANMG
51 KKGDRQSAID KIIDDILVQK AVQESGVKID PREIDHIVED TAARNGLTYG
101 QFLDALDYQG ISLNAFRQOI ANQMVMGAVR NKAIQESIDV TREEVVALGQ
151 KMLEEAKEKG TAQKVMGKEY EVRHILLKLN PLLNDAQAKK QLAKIRSDII
201 AGKTTFADAA LKYSKDYLSG ANGGS LGYAF PETYAPQFAQ TVVKSQGVVI
251 SAPFKTEFGW HILEVTGVRD GDLTAEAYTQ KAYERLVNTQ LQDATNDWVK
301 ALRKRANIQY FNK* (SEQ ID NO: 16)

```

Figura 17

```

1 ATGACTATGT TTAAAAAAT CTCTGTTTTA TTTTATTACGT TAATATTGGC
51 AGGTTGTTCT TCTTGGTCAT CGGTTACTAA CTATATTCCA TTTATGGGGA
101 ACGATAAAAA AGTGATTGAT TTAGATAAAG ATAAAATCGA TCAAAAATCC
151 TATGCAGCGG CTTATGAAGC GACTGTGGCG ACATATAAAG GTCGCGTGAA
201 TGAAAATTTT TTTGTAGATA ATTTTGCAAG TGGTGCGAAT GACTGGTATT
251 TAGGTCGTAT TTTAGTTCCT GTGAAACAAA TTCAGGATAA ACTTTATACA

```

301 GGCGGTCATG ATTCTGATAT ATATGCTTAT TATAGCGGCG TGTTACATGC
 351 GGAAGCATTG CAAGCTAACC TTAAACGTTT AAGTGTAAGC TGTTGGGAAA
 401 AAGTAGATTG GCAAAGTATG GCTCAAGGTA TTTATGATGC GATGCGTGAT
 501 TAGTGAAGCG CTGCTGAAAG CCTGTACATC TAAATAA (SEQ ID NO: 17)

Figura 18

1 MTMFKKISVL FFTLILAGCS SWSSVTNYIP FMGNDKKVID LDKDKIDQKS
 51 YAAAYEATVA TYKGRVNENF FVDNFASGAN DWYLGRILVP VKQIQDKLYT
 101 GGHDSDIYAY YSGVLHAEAL QANLKRSLVS CWEKVDSQSM AQGIYDAMRD
 151 LQKGEARGEN DEYIVQGSEA LLKACTSK* (SEQ ID NO: 18)

Figura 19

1 ATGTCTATTC TATTACAAGG CGAACGTTTT AAAAAACGTT TAATGCCAAT
 51 TTTATTGTCA ATGGCTTTAG CTGGCTGTTC AAATCTACTT GGTAGCAATT
 101 TCACGCAAAC CTTACAAAAA GATGCAAATG CAAGTTCTGA ATTTTATATA
 151 AACAAATTAG GGCAAACGCA AGAACTTGAA GATCAACAAA CCTATAAATT
 201 GCTCGCGGCT CGAGTGTTAA TCCGTGAAAA TAAGGTTGAA CAATCGGCAG
 251 CGTTATTGAG GGAATTAGGC GAATTAAATG ATGCGCAAAA ATTAGATCGT
 301 GCATTAATTG AAGCGAGAAT TTCTGCCGCA AAAAATGCCA ATGAAGTCGC
 351 ACAAATCAA TTACGTGCAT TGGATTTAAA TAACTAAGC CCGTCACAAA
 401 AATCTCGTTA TTACGAAACC TTAGCTATTG TTGCCGAAAA CCGTAAAGAC
 451 ATGATTGAAG CGGTAAAAGC GCGGATAGAA ATGGATAAGA ATTTAACAGA
 501 TGTACAACGT CGTCAAGATA ATATTGATAA AACTTGGGCT TTATTGCGTT
 551 CAGCGAATAC TGGCGTTATT AATAATGCCT CTGATGAAGG TAATGCAGCT
 601 TTAGCGGTTT GGCTAACATT AATCAAAGCC TACAACGATT ATATTGCTCA
 651 GCCTGTACAA TTAAGCCAAG CCTTACAAAG TTGGAAAAAT GCTTATCCAA
 701 ATCATGCAGC CGCAACGTTG TTCCCAAAAG AATTGCTTAC ATTGCTTAAT
 751 TTCCAACAAA CGAATGTGTC ACAAATTGGT TTACTCTTGC CATTAAAGTGG
 801 AGATGGACAA ATTCTTGGTA CAACCATTCA ATCGGGTTTT AACGACGCGA
 851 AAGGTAAGTC AACCATTCCA GTGCAAGTGT TTGATACCTC AATGAATTCT
 901 GTCCAAGATA TCATTGCGCA AGCAAAACAA GCGGGGATTA AAACCTTAGT
 951 CGGCCCATTA CTAAAACAAA ATCTTGATGT GATTTTAGCG GATCCTGCTC
 1001 AAATTCAAGG TATGGATGTG CTTGCATTAA ATGCCACACC ACATTCTCGT
 1051 GCGATTCCCTC AACTTTGTTA TTACGGACTT TCTCCAGAAG ATGAAGCTGA
 1101 ATCTGCCGCC AATAAAATGT GGAACGATGG CGTGCGTAAT CCACTTGTCG
 1151 CAATGCCGCA AAATGATTTA GGACAACGCG TAGGCAATGC CTTTAATGTA
 1201 CGTTGGCAGC AATTAGCAGG TACTGATGCG AATATCCGTT ACTACAATTT
 1251 GCCTGCGGAT GTGACCTATT TCGTTCAAGA AAATAACTCA AATACAACCG
 1301 CACTTTATGC CGTAGCAAGT CCAACTGAAC TGGCAGAAAT GAAAGGTTAT
 1351 TTAACAAATA TCGTACCTAA TTTAGCGATT TATGCCAGTT CTCGAGCAAG
 1401 CGCAAGTGCG ACAAACACTA ATACCGACTT CATCGCACAG ATGAACGGTG
 1451 TACAGTTTAG TGATATTCCA TTTTTTAAAG ATACCAATTC TCCACAATAT
 1501 CAGAAGTTAG CAAAATCCAC GGGGGGTGAA TATCAATTGA TGCGTTTATA
 1551 TGCAATGGGT GCAGATGCGT GGTGCTCAT TAATCAATTT AATGAATTAC
 1601 GCCAAGTGCC AGGCTATCGC TTGAGTGGCT TAACAGGGAT TTTAAGTGCT
 1651 GATACCAACT GTAATGTTGA ACGCGATATG ACTTGGTATC AATATCAAGA
 1701 TGGTGCAATT GTACCAGTTG CAAACTAA (SEQ ID NO: 19)

Figura 20

```

  1 MSILLQGERF KKRLMPILLS MALAGCSNLL GSNFTQTLQK DANASSEFYI
 51 NKLGTQTELE DQQTYKLLAA RVLIRENKVE QSAALLRELG ELNDAQKLDL
101 ALIEARISAA KNANEVAQNQ LRALDLNKLS PSQKSRYET LAIVAENRKD
151 MIEAVKARIE MDKNLTDVQR RQDNIDKTWA LLRSANTGVI NNASDEGNAA
201 LGGWLTLIKA YNDYIRQPVQ LSQALQSWKN AYPNHAAATL FPKELLTLLN
251 FQQTNSQIG LLLPLSGDGQ ILGTTIQSGF NDAKGNSTIP VQVFDTSMNS
301 VQDIIAQAKQ AGIKTLVGPL LKQNLDVILA DPAQIQGMDV LALNATPHSR
351 AIPQLCYYGL SPEDEAESAA NKMWNDGVRN PLVAMPQNDL GQRVGNAFNV
401 RWQQLAGTDA NIRYYNLPAD VTYFVQENNS NTTALYAVAS PTELAEMKGY
451 LTNIVPNLAI YASSRASASA TNTNTDFIAQ MNGVQFSDIP FFKDTNSPQY
501 QKLAKSTGGE YQLMRLYAMG ADAWLLINQF NELRQVPGYR LSGLTGILSA
551 DTNCNVERDM TWYQYQDGAI VPVAN* (SEQ ID NO: 20)

```

Figura 21

```

1  ATGATTAGGA  AACTTATGAA  AACACCTCCA  TTTTTTACCG  CACTTTTTTG
51  CTCGGCAATA  TTCACCCTTA  GTGTTTCACA  AGGGGTATTA  GGGGCAAATT
101 CAACAAATGT  ATTACCAACG  GAGCAATCGC  TTAAAGCCGA  TTTGGCTAAC
151 GCTCAAAAAA  TGAGTGAGGG  GGAAGCAAAA  AAGAGGTTGT  TAGCAGAATT
201 ACAAACATCA  ATTGATTTAT  TGCAGCAAAT  TCAAGCTCAA  CAAAAAATCA
251 ATGATGCATT  GCAAACAACA  TTAAGCCATT  CAGAGAGTGA  AATTAGAAAG
301 AATAATGCAG  AAATTCAAGC  ATTAAAAAAA  CAACAAGAAA  CAGCAACAAG
351 TACTGATTAT  AATGCACAGT  CACAGGACGA  TTTACAAAAT  AGTCTCGCTA
401 AGTTAAATGA  TCAATTACAA  GATACGCAAA  ACGCATTAGG  CGCGGCAAAT
451 GCACAATTGG  CAGGGCAAAA  TTCTATTTCT  GAACGAGCTC  AAGCGGCATT
501 AACGGAAAAT  GTTGTACGCA  CTCAGCAAAT  TAATCAACAA  TTGGCCAATA
551 ATGATATTGG  TAGCGCATTA  CGAAAACAAT  ATCAGATTGA  ATTACAACCTG
601 ATTGATTTAA  AGAATAGTTA  TAATCAAAAT  TTATTAAAAA  ATAATGATCA
651 GCTTTCTTTA  CTTTATCAAA  GTCGTTACGA  CCTATTGAAT  TTACGTTTGC
701 AGGTGCAACA  ACAAATATTT  ATTGCGATTC  AAGAAGTCAT  TAATCAAAAA
751 AGTCTTCAGC  AATCACAAAA  TCAACTAGAA  CAAGCTCAGC  AGCAACAGCA
801 AAAAAGTGTG  CAAAATGATT  ACATTCAAAA  AGAACTTGAT  CGCAATGCAC
851 AGCTTGGTCA  GTATCTATTA  CAACAAACAG  AAAAAGCGAA  TTCATTAACT
901 CAAGATGAGT  TAAGAATGCG  GAATATTTTA  GATAGCCTCA  CTCAAACCTCA
951 ACATACTATT  GATGAACAAA  TTAGTGCAAT  ACAAGGCACG  TTAGTTCTTT
1001 CACGTATTAT  CCAGCAACAA  AAACAAAAAT  TACCGACTAA  CTTAAATATT
1051 CAAGGTTTAT  CAAAACAAAT  TGCCGATTTG  CGTGTGCATA  TTTTGTGACAT
1101 TACTCAAAAA  CGCAATGAAC  TTTATGATCT  AGATAACTAT  ATTAATAAAG
1151 TTGAAAGTGA  AGATGGAAAA  CAATTTACTG  AGGCAGAAAG  AACGCAAGTT
1201 AAAACGCTAT  TAACTGAGCG  TCGGAAAATG  ACATCTGATC  TGATTAAATC
1251 CTTAAATAAT  CAATTAAATC  TCGCGATTTT  TTTGGAATTA  ACACAGCAGC
1301 AAATTACACA  AATCAGTGAT  CAAATTCAAT  CTAAATTAGA  GCAGCAAAGT
1351 TTTTGGGTGA  AAAGTAATAA  TCCCATTAAT  TTAGATTGGA  TAAAAATGCT
1401 TCCAAGAGCT  TTAATTGAAC  AGTTTAATGG  TATGTTGAAA  AAATTAGGTT
1451 TTCCAACATA  TTATGACAAT  TTACCTTATT  TACTTATGTA  TTTCTTAGGG
1501 TTATTTATTG  TAGGCGGTGC  AATTTTTTAA  TTTAAAAATC  GTATTAAACA
1551 ACAATTAAAC  AAAATTAATC  GTGAAATACA  TCGCTTAGAT  ACAGATAGTC
1601 AGTGGAGTAC  GCCACTTGCC  CTGTTATTAA  CTGCGTTTTT  AACGCTTTCT
1651 AGTACACTTT  GGTTTTTAGC  AGTTTGCCAA  ATGATCGGCT  TCTTTTTCTT
1701 CAAAAATCCA  GAAGAATTTT  GGCATTGGTC  ATTTAGTATG  GCGAGTTATT
1751 GGTGGTTCTT  TACATTTTGG  ATTTCAATTG  TCCGTCCAAA  TGGTATTTTT
1801 GTTAATCATT  TTGAATCTTC  AAAAGAGAAT  GCACAACGTT  TTCGTGGTGT
1851 TATCCAGCGT  ATTATTATTG  CGATAGTATT  ACTCTTGAAT  ACATCTGTTT
1901 TTAGTAATGT  AACAGACAGT  GGCTTAGCCA  ATGATGTCCT  AGGGGAAATT
1951 AATACTATTA  CGGCGTTAAT  TTTCTGCACG  GCGATTATTG  CTCCTCGTTT

```

```

2001 TAATCGAGTA CTTGCTCTT ATGAACCTGA AACAAATAAA CATCATTGGT
2051 TAATAAAAAT TGTACAAATT GGTTTGAGAT TAATTCCTGT GGGATTAATC
2101 GTACTTATTG TTTTAGGCTA TTACTACACC GCTTTAAATT TAATTGAGCA
2151 TTTTATTCAT TCTTATATTG CTTGGTGTGT ATGGTGGTTA GTACGTAATA
2201 CGATTTACCG TGGTATTACG GTTCTTCTC GTCGTTTAGC ACATCGCCGT
2251 TTAGCAGAAA AACGTCGTCA AAAAGCACTT GAAAATAATT ATGAAAATAT
2301 TTCCTCTGAT GATGTGGTTG CAGTGGGAGA GCCAGAGGAA GGTTTAGCGT
2351 TAAATGATGT GCGTAGCCAA TTATTACGTT TTGTAGATCT CTTTATTTGG
2401 ACAGCATTAT TGGGGATTTT CTACTATGTA TGGTCAGATT TAGTCACAGT
2451 AGTGAGCTAT TTACGTGAAA TTACACTTTG GCAACAAACC ACGACAACCG
2501 ATGCTGGCAC TGTAAATGGAA AGCATTACTT TATTTAATCT TCTTGTTGCT
2551 TTGGTTATCC TAGGAATTAC TTATGTGTTG GTTCGTAATA TTTCAGGTAT
2601 TTTGGAAGTA TTAATTTTCT CTCGCGTGAA TCTTTCACAA GGTACGCCTT
2651 ATACGATTAC GACATTGCTC ACTTATATTT TTATCGCCAT TGGTGGTGCG
2701 TGGGCATTTG CAACCTTAGG AATGTCTTGG TCAAAATTGC AATGGTTATT
2751 TGCCGCACTT TCCGTTGGTC TTGGTTTTGG TATGCAAGAA ATTTTTGCAA
2801 ACTTTGTGTC GGGCATTATT TTGCTATTTG AACGCCCAAT CCGAGTTGGC
2851 GATGTCGTAA CCATTAATGG AGTGAGCGGT ACTGTAGCGA AAATTCGTAT
2901 TCGTGCAATT ACATTAATTG ATTTTGATCG CAAAGAAATT ATTGTGCCAA
2951 ATAAATCTTT TGTGACAGGT CAAGTAACCA ATTGGGCATT ATCTAGCACG
3001 ATGACACGTT TAGTGATTAG CGTTGGTGTT GCTTATGGTT CTGATTTAAC
3051 ACTCGTTCGT CAATTATTAC TTCAAGCAGC TGATGAACAG CCGACTGTTT
3101 TACGCGATCC TAAACCATCT GCTTATTTTT TAACTTTTGG TGCAAGTACT
3151 TTGGATCACG AATTACGTGT TTATGTAGAA CAAGTTGGAG ATCGTACCAG
3201 TACTACAGAT GCTATTAATC GCCGTATTAA TGAATTATTT GCAGAACATA
3251 ATATTGATAT TGCCTTTAAT CAATTAGATG TATTTATCAA AAATAATGAC
3301 ACTGGCGAAG AAATTCCTTT TGTTGATGTA AAAAAA (SEQ ID NO: 21)

```

Figura 22

```

1  MIRKLMKTPP  FFTALFASAI  FTLSVSQGVL  GANSTNVLP  EQSLKADLAN
51  AQKMSEGEAK  KRLLAELQTS  IDLLQQIQAO  QKINDALQTT  LSHSESEIRK
101 NNAEIQALKK  QQETATSTDY  NAQSQDDLQN  SLAKLNDQLO  DTQNALGAAN
151 AQLAGQNSIS  ERAQAALTEN  VVRTQQINQQ  LANNDIGSAL  RKQYQIELQL
201 IDLKNSYNQN  LLKNNDQLSL  LYQSRYDLLN  LRLQVQQQNI  IAIQEVINQK
251 SLQQSQNQLE  QAQQQQQKTV  QNDYIQKELD  RNAQLGOYLL  QQTEKANSLT
301 QDELRMRNIL  DSLTQTQHTI  DEQISALQGT  LVLSRIIQQQ  KQKLPTNLNI
351 QGLSKQIADL  RVHIFDITQK  RNELYDLN  INKVESEDGK  QFTEAERTQV
401 KTLLTERRKM  TSDLIKSLNN  QLNLAISLEL  TQQQITQISD  QIQSKLEQQS
451 FWVKSNNPIN  LDWIKMLPRA  LIEQFNGMLK  KLGFPNTYDN  LPYLLMYFLG
501 LFIVGGAIFK  FKNRIKQQLN  KINREIHRLD  TDSQWSTPLA  LLLTAFLLTS
551 STLWFLAVCQ  MIGFFFFKNP  EEFWHWSFSM  ASYWWFFTFW  ISLFRPNGIF
601 VNHFESEKEN  AQRFRGVIQR  IIIAIVLLLN  TSVFSNVTDS  GLANDVLGEI
651 NTITALIFCT  AIIAPRFNRV  LRSYEPETNK  HHWLIKIVQI  GLRLIPVGLI
701 VLIVLGYYT  ALNLIHFIH  SYIAWCVWWL  VRNTIYRGIT  VSSRRLAHR
751 LAEKRRQKAL  ENNYENISSD  DVVAVGEPEE  GLALNDVRSQ  LLRFVDLFIW
801 TALLGIFYV  WSDLVTVVS  Y  LREITLWQQT  TTTDAGTVME  SITLFNLLVA
851 LVILGITYVL  VRNISGILEV  LIFSRVNL  SQ  GTPYTITLL  TYIFIAIGGA
901 WAFATLGMSW  SKLQWLFAAL  SVGLGFGMQE  IFANFVSGII  LLFERPIRVG
951 DVVTINGVSG  TVAKIRIRAI  TLIDFDRKEI  IVPNKSFVTG  QVTNWALSST
1001 MTRLVISVGV  AYGSDLTLVR  QLLLQAADEQ  PTVLRDPKPS  AYFLTFGAST
1051 LDHELVRVVE  QVGDRSTSTD  AINRRINELF  AEHNIDIAFN  QLDVFIKNND
1101 TGEEIPFVDV  KK  (SEQ ID NO: 22)

```

Figura 23

```

1  ATGAAATTAA  AACAACTTTT  TGCAATCACT  GCAATCGCAT  CAGCTCTCGT
51  TTTAACAGGC  TGTAAGAAG  ACAAAAACC  TGAAGCAGCA  GCACCGCTTA
101 AAATCAAAGT  AGGCGTGATG  TCTGGCCCTG  AGCATCAAGT  TGCAGAAATT
151 GCAGCAAAAG  TCGCTAAAGA  AAAATATGGT  TTAGACGTTT  AATTCGTTGA
201 ATTCAATGAC  TACGCATTAC  CAAATGAAGC  TGTAAGCTAAA  GGTGATTTAG
251 ATGCAAACGC  AATGCAACAT  AAACCTTATT  TAGATGAAGA  TGCAAAAGCG
301 AAAAATTTAA  ATAACCTTAGT  TATCGTGGGT  AATACTTTTCG  TCTATCCATT
351 AGCGGGTTAT  TCTAAAAAAA  TCAAAAATGT  GAATGAATTA  CAAGACGGTG
401 CTAAAGTTGT  TGTTCCTAAC  GATCCAACAA  ACCGTGGTCG  TGCATTAATT
451 CTTCTTGAAA  AACAAAGTTT  AATCAAATTA  AAAGATGCAA  ATAACCTTCT
501 TTCAACTGTA  TTAGATATTG  TTGAAAATCC  GAAAAAATTA  AACATCACTG
551 AAGTAGATAC  TTCTGTTGCG  GCACGCGCAT  TAGACGACGT  TGATTTAGCT
601 GTAGTAAACA  ATACTTATGC  GGGTCAAGTA  GGCTTAAATG  CTCAAGATGA
651 CGGTGTATTT  GTAGAAGATA  AAGATTCTCC  ATATGTGAAC  ATTATCGTTT
701 CTCGTACCGA  TAACAAAGAC  AGCAAAGCTG  TTCAAGATTT  CGTAAAATCT
751 TACCAAACAG  AAGAAGTTTA  CCAAGAAGCT  CAAAAACACT  TTAAAGATGG
801 CGTTGTAAAA  GGTGG  (SEQ ID NO: 23)

```

Figura 24

```

1 MKLKQLFAIT AIASALVLTG CKEDKKPEAA APLKIKVGVM SGPEHQVAEI
51 AAKVAKEKYG LDVQFVEFND YALPNEAVAK GDLNANAMQH KPYLDEDAKA
101 KNLNNLVIVG NTFVYPLAGY SKKIKNVNEL QDGAKVVVPN DPTNRGRALI
151 LLEKQGLIKL KDANNLLSTV LDIVENPKKL NITEVDTSVA ARALDDVDLA
201 VVNNTYAGQV GLNAQDDGVF VEDKDSPIVN IIVSRTDNKD SKAVQDFVKS
251 YQTEEVYQEA QKHFQDGVVK GW (SEQ ID NO: 24)

```

Figura 25

```

NTHI1-12085 1 MPVIRQVVFYDSL TGEQTKMKKFAGLITASFVAATLTACNDKDAKQETAK 50
NTHI1-10095 1 MPVIRQVVFYDSL TGEQTKMKKFAGLITASFVAATLTACNDKDAKQETAK 50
NTHI1-A18 1 MPVIRQVVFYDSL TGEQTKMKKFAGLITASFVAATLTACNDKDAKQETAK 50
NTHI1-A108 1 MPVIRQVVFYDSL TGEQTKMKKFAGLITASFVAATLTACNDKDAKQETAK 50
*****

NTHI1-12085 51 ATAAANDTVLYLTWTEYVPDGLLDEFTKETGIKIVIVSSLESNETMYAKLK 100
NTHI1-10095 51 ATAAANDTVLYLTWTEYVPDGLLDEFTKETGIKIVIVSSLESNETMYAKLK 100
NTHI1-A18 51 ATAAANDTVLYLTWTEYVPDGLLDEFTKETGIKIVIVSSLESNETMYAKLK 100
NTHI1-A108 51 ATAAANDTVLYLTWTEYVPDGLLDEFTKETGIKIVIVSSLESNETMYAKLK 100
*****

NTHI1-12085 101 TQGESGGYDVIAPS NYFVSKMAREGMLKELDH SKLPVLKELDPDWLNKPY 150
NTHI1-10095 101 TQGESGGYDVIAPS NYFVSKMAREGMLKELDH SKLPVLKELDPDWLNKPY 150
NTHI1-A18 101 TQGESGGYDVIAPS NYFVSKMAREGMLKELDH SKLPVLKELDPDWLNKPY 150
NTHI1-A108 101 TQGESGGYDVIAPS NYFVSKMAREGMLKELDH SKLPVLKELDPDWLNKPY 150
*****

NTHI1-12085 151 DKG NKYSLPQLLGAPGIAFNTNTYKGEQFTSWADLWKPEFANKVQLLDDA 200
NTHI1-10095 151 DKG NKYSLPQLLGAPGIAFNTNTYKGEQFTSWADLWKPEFANKVQLLDDA 200
NTHI1-A18 151 DKG NKYSLPQLLGAPGIAFNTNTYKGEQFTSWADLWKPEFANKVQLLDDA 200
NTHI1-A108 151 DKG NKYSLPQLLGAPGIAFNTNTYKGEQFTSWADLWKPEFANKVQLLDDA 200
*****

NTHI1-12085 201 REVFNIALLLKIGQDPNTQDPALIKQAYEELLKLRPNVLSFNSDNPANSFI 250
NTHI1-10095 201 REVFNIALLLKIGQDPNTQDPALIKQAYEELLKLRPNVLSFNSDNPANSFI 250
NTHI1-A18 201 REVFNIALLLKIGQDPNTQDPALIKQAYEELLKLRPNVLSFNSDNPANSFI 250
NTHI1-A108 201 REVFNIALLLKIGQDPNTQDPALIKQAYEELLKLRPNVLSFNSDNPANSFI 250
*****

NTHI1-12085 251 SGEVEVGQLWNGSVRIAKKEKAPLNMVFPKEGPVLWVDTLAIPVTAKNPE 300
NTHI1-10095 251 SGEVEVGQLWNGSVRIAKKEKAPLNMVFPKEGPVLWVDTLAIPVTAKNPE 300
NTHI1-A18 251 SGEVEVGQLWNGSVRIAKKEKAPLNMVFPKEGPVLWVDTLAIPATAKNSE 300
NTHI1-A108 251 SGEVEVGQLWNGSVRIAKKEKAPLNMVFPKEGPVLWVDTLAIPVTAKNPE 300
*****

NTHI1-12085 301 GAHKLIN YMLGKKTA EKLTLAIGYPTS NIEAKKALPKEITEDPAIYPSAD 350
NTHI1-10095 301 GAHKLIN YMLGKKTA EKLTLAIGYPTS NIEAKKALPKEITEDPAIYPSAD 350
NTHI1-A18 301 GAHKLIN YMLGKKTA EKLTLAIGYPTS NIEAKKALPKEITEDPAIYPSAD 350
NTHI1-A108 301 GAHKLIN YMLGKKTA EKLTLAIGYPTS NIEAKKALPKEITEDPAIYPSAD 350
*****

NTHI1-12085 351 ILKN SHWQDDVGD AIQFYEQYYQELKAAK 379
NTHI1-10095 351 ILKN SHWQDDVGD AIQFYEQYYQELKAAK 379
NTHI1-A18 351 ILKN SHWQDDVGD AIQFYEQYYQELKAAK 379
NTHI1-A108 351 ILKN SHWQDDVGD AIQFYEQYYQELKAAK 379
*****

```