(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 616 294**

(51) Int. CI.:

A61K 39/095 (2006.01)
A61K 39/02 (2006.01)
A61K 39/116 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)
A61K 38/00 (2006.01)
C07K 1/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.01.2006 E 13172134 (2)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.11.2016 EP 2682126**

(54) Título: **Vacunas de vesículas basadas en GNA1870 para protección de amplio espectro contra enfermedades provocadas por Neisseria meningitidis**

(30) Prioridad:

27.01.2005 US 647911 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
12.06.2017

(73) Titular/es:

CHILDREN'S HOSPITAL & RESEARCH CENTER AT OAKLAND (100.0%)
747 52nd Street
Oakland, CA 94609, US

(72) Inventor/es:

GRANOFF, DAN, M y
HOU, VICTOR

(74) Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

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

Vacunas de vesículas basadas en GNA1870 para protección de amplio espectro contra enfermedades provocadas por *Neisseria meningitidis*

Declaración con respecto a investigación patrocinada por el gobierno federal

La presente invención se realizó con el apoyo del gobierno según las subvenciones del Servicio de Salud Pública n.º RO1 AI46464, R21 AI061533, del Instituto Nacional de Alergia y Enfermedades Infecciosas de los Institutos Nacionales de Salud, y T32-HL007951, del Instituto Nacional de Corazón, Pulmón y Sangre de los Institutos Nacionales de Salud. El gobierno puede tener ciertos derechos en la presente invención.

Campo de la invención

La presente invención se refiere a vacunas de amplio espectro para la prevención de enfermedades provocadas por *Neisseria meningitidis*.

Antecedentes de la invención

Neisseria meningitidis es una bacteria Gram negativa que coloniza el tracto respiratorio superior humano y es responsable de brotes epidémicos esporádicos y cíclicos globales de, más notablemente, meningitis y septicemia. Las tasas de ataque y morbilidad son mayores en niños de menos de 2 años de edad. Como otras bacterias Gram negativas, *Neisseria meningitidis* normalmente posee una membrana citoplasmática, una capa de peptidoglucano, una membrana externa que junto con el polisacárido capsular constituye la pared bacteriana y pilus que se proyectan hacia el ambiente externo. Las cepas encapsuladas de *Neisseria meningitidis* son una causa importante de meningitis bacteriana y septicemia en niños y jóvenes adultos (Rosenstein *et al*., J. Infect Dis 1999; 180: 1894-901).

Los seres humanos son el único depósito conocido de *Neisseria meningitidis* spp. En consecuencia, las especies de *Neisseria* han desarrollado una amplia diversidad de estrategias altamente eficaces para evadir el sistema inmunitario humano. Estas incluyen la expresión de una cápsula de polisacáridos que es estructuralmente idéntica al ácido polisiálico del hospedador (es decir serogrupo B) y alta mutabilidad antigénica para los epítopos no capsulares inmunodominantes, es decir epítopos de antígenos que están presentes en la superficie en cantidades relativamente grandes, son accesibles a anticuerpos e inducen una fuerte respuesta de anticuerpos.

La prevalencia y la importancia económica de infecciones por *Neisseria meningitidis* invasivas han conducido la investigación de vacunas eficaces que puedan conferir inmunidad entre serotipos, y particularmente entre serotipos de grupo B o serosubtipos. Sin embargo, muchos intentos de desarrollar vacunas de amplio espectro han estado obstaculizados por la amplia diversidad de estrategias altamente eficaces usadas por especies de *Neisseria* para evitar el sistema inmunitario humano.

Están disponibles vacunas basadas en cápsulas para la prevención de enfermedad provocada por cepas de grupo A, C, Y y W-135 (revisado en Granoff *et al*. Meningococcal Vaccines. En: Plotkin SA, Orenstein WA, eds. Vaccines. 4ª ed. Filadelfia: W. B. Saunders Company, 2003). Sin embargo, no hay ninguna vacuna aprobada para su uso en los Estados Unidos o Europa para la prevención de la enfermedad provocada por cepas del grupo B, que representan aproximadamente el 30 % de la enfermedad en Norteamérica (Lingappa *et al*., Vaccine 2001, 19: 4566-75, Raghunathan *et al*. Annu Rev Med 2004; 55: 333-5) y más de dos tercios de los casos en Europa (Cartwright *et al*. Vaccine 2001; 19: 4347-56; Trotter *et al*. Lancet 2004; 364: 365-7). Una razón para la falta de vacuna basada en cápsula del grupo B es que la cápsula del grupo B puede inducir una respuesta de autoanticuerpos en seres humanos (Finne *et al*. Lancet 1983, 2: 355-7), y el polisacárido es escasamente inmunogénico, incluso cuando se conjuga con proteínas vehículo (Jennings *et al*. J. Immunol 1981; 127: 1011-8). También hay problemas de seguridad potenciales para una vacuna del grupo B basada en cápsulas que es capaz de inducir anticuerpos anticapsulares del grupo B autorreactivos. Por lo tanto, la investigación de vacuna meningocócica del grupo B reciente se ha centrado en el uso de antígenos no capsulares.

Se ha demostrado que las vacunas de vesículas de membrana externa (OMV) inducen inmunidad protectora contra enfermedad meningocócica del grupo B en seres humanos (revisado en Jodar *et al*. Lancet 2002; 359: 1499-1508). Recientemente se ha autorizado una vacuna de OMV y se ha introducido en Nueva Zelanda en respuesta a una intervención de salud pública para detener una epidemia del grupo B que se había mantenido durante más de una década (Thomas *et al*. N Z Med J 2004; 117: U1016; Desmond *et al*. Nurs N Z 2004; 10: 2; Baker *et al*. J Paediatr Child Health 2001; 37: S13-9). Se han descrito otros enfoques basados en vesículas para inmunización (véase, por ejemplo, Cartwright K *et al*, 1999, Vaccine; 17: 2612-2619; de Kleinjn *et al*, 2000, Vaccine, 18: 1456-1466; Rouupe van der Voort ER, 2000, Vaccine, 18: 1334-1343; Tappero *et al*., 1999, JAMA 281: 1520; Rouupe van der Voort ER, 2000, Vaccine, 18: 1334-1343; documentos US 2002/0110569; WO 02/09643).

La inmunización de niños y adultos con vacunas de vesículas de membrana externa (OMV) meningocócicas induce

anticuerpos bactericidas en suero, un correlacionado serológico de protección contra enfermedad (Goldschneider *et al*, 1969, J. Exp. Med. 129: 1307). La eficacia de vacunas de OMV para prevención de enfermedad meningocócica B también se ha demostrado directamente en niños mayores y adultos en ensayos clínicos prospectivos, aleatorios, y en estudios de control de casos retrospectivos. Por lo tanto, la eficacia clínica de vacunas de vesícula de membrana externa no se disputa. Dichas vacunas están autorizadas para su uso en niños en Nueva Zelanda, y cerca de su autorización en Noruega para su uso en niños mayores y adultos, y están en desarrollo clínico de fase tardía para su autorización en otros países europeos. Una vacuna de OMV preparada por el Instituto Finley en Cuba también está disponible en el mercado y se ha proporcionado a millones de niños en Sudamérica.

Sin embargo, la respuesta de anticuerpo bactericida en suero a vacunas de OMV tiende a ser específica de cepa (Tappero *et al*., 1999, JAMA 281: 1520 y Rouupe van der Voort ER, 2000, Vaccine, 18: 1334-1343). Además, las vacunas de OMV actualmente disponibles también están limitadas porque las respuestas de anticuerpos bactericidas están dirigidas en gran medida contra bucles expuestos en superficie de una proteína porina importante, PorA (Tappero *et al*. JAMA 1999, 281: 1520-7), que es variable antigénicamente (Sacchi *et al*. J. Infect Dis. 2000, 182: 1169-76). Debido a la inmunodominancia de PorA, la inmunidad inducida es predominantemente específica de las cepas de las que se obtuvieron las vesículas de membrana (Tappero *et al*., 1999, JAMA 281: 1520, Martin SL *et al*, 2000, Vaccine, 18: 2476-2481). Por lo tanto, las vacunas de OMV son útiles para la prevención de enfermedades en situaciones epidémicas provocadas por una cepa meningocócica predominante con un único serosubtipo de PorA, tal como la cepa epidémica P1.4 en Nueva Zelanda (Baker *et al*. 2001, mencionado anteriormente). Sin embargo, hay una considerable diversidad de PorA entre cepas que provocan enfermedad endémica tal como la hallada en los Estados Unidos (Sacchi *et al*. 2000, mencionado anteriormente). Además, incluso polimorfismos de aminoácidos menores pueden reducir la susceptibilidad de las cepas a la actividad bactericida de anticuerpos para PorA (Martin *et al*. Vaccine 2000; 18: 2476-81).

La compleción de proyectos de secuenciación de genoma para varias cepas de *Neisseria meningitidis* ha proporcionado un catálogo de todos los antígenos proteicos meningocócicos potenciales. Mediante una combinación de bioinformática, tecnología de micromatrices, proteómica y exploración inmunológica, se han identificado un gran número de candidatos a vacuna meningocócica nuevos (Pizza *et al*. Science 2000; 287: 1816-20; De Groot *et al*. Expert Rev Vaccines 2004; 3: 59-76). Entre estos numerosos candidatos está el antígeno 1870 de *Neisseria* derivado de genoma (GNA1870). GNA1870, que también se conoce como NMB 1870 (WO 2004/048404) o LP2086 (véase, por ejemplo, Fletcher *et al*. Infect Immun 2004 72: 2088-2100), es una lipoproteína de aproximadamente 27 kDa expresada en todas las cepas de *N. meningitidis* ensayadas (Masignani *et al*. J Exp Med 2003; 197: 789-99; Giuliani *et al*. Infect. Immun 2005; 73: 1151-60; Welsch *et al*. J Immunol 2004; 172: 5606-15).

Las cepas de *N. meningitidis* pueden subdividirse en tres grupos variantes de GNA1870 (v.1, v.2 y v.3) basándose en la variabilidad de secuencia de aminoácidos y reactividad cruzada inmunológica (Masignani *et al*., J. Exp Med 2003, 197: 789 - 99). Las cepas de variante 1 representan aproximadamente el 60 % de los aislados de grupo B productores de enfermedad (Masignani *et al*. 2003, mencionado anteriormente). Dentro de cada grupo variante hay aproximadamente 92 % o mayor conservación de secuencia de aminoácidos.

Los ratones inmunizados con GNA1870 recombinante desarrollaron altas respuestas de anticuerpos bactericidas en suero contra cepas que expresaban proteínas de GNA1870 del grupo variante homólogo (Masignani *et al*. 2003, mencionado anteriormente; Welsch *et al*. 2004, mencionado anteriormente). Sin embargo, varias cepas que expresaban subvariantes de la proteína GNA1870 respectiva eran resistentes a bacteriolisis mediada por complemento anti GNA1870. Aunque la causa de este fenómeno se desconoce, es concebible que este pueda deberse a polimorfismos de GNA1870 menores, o deberse a diferencias de cepas en la accesibilidad de epítopos de GNA1870 críticos en la superficie de las bacterias que dan como resultado unión y/o activación de complemento reducidas por los anticuerpos anti GNA1870. La vacuna de proteína GNA1870 recombinante usada en los estudios de inmunogenicidad anteriores se expresó en *E. coli* como una proteína con Marcador de His desprovista del péptido líder. La proteína recombinante también carecía del motivo necesario para lipidación postraduccional, lo que puede disminuir la inmunogenicidad (Fletcher *et al*. Infect Immun 2004; 72: 2088-100).

El potencial de vacuna de una combinación de PorA recombinante y GNA1870 recombinante se ha explorado (Fletcher *et al*. Infect Immun 2004, 72: 2088-1200). No hubo ninguna interferencia evidente en las respuestas de anticuerpo a los dos antígenos cuando la vacuna de combinación se proporcionó a ratones. Sin embargo, la combinación recombinante requirió restauración de epítopos de PorA de conformación, que son necesarios para inducir anticuerpos bactericidas anti PorA (véase, por ejemplo, Christodoulides *et al*, Microbiology, 1998; 144: 3027-37 y Muttilainen *et al*, Microb Pathog 1995; 18: 423-36). Además, no se mostró que la vacuna recombinante de combinación potenciara anticuerpos bactericidas anti GNA1870 contra cepas de *N. meningitidis* que expresaban subvariantes de la proteína GNA1870 usada en la vacuna.

O'Dwyer *et al*. (Infect Immun 2004; 72: 6511-80) describe la preparación de una vacuna de vesícula de membrana externa (OMV) a partir de una cepa de *N. flavescens* comensal que se modificó por ingeniería genética para expresar proteína de superficie de *Neisseria* A (NspA), un candidato a vacuna proteica de membrana meningocócica altamente conservada que no se expresa de forma natural por *N. flavescens*. Los ratones inmunizados desarrollaron actividad opsonofagocítica de suero específica de NspA. Además, después de la absorción de anticuerpos a la

OMV, los anticuerpos anti NspA residuales confirieron protección pasiva a ratones a los que se proporcionó una exposición letal de una cepa de *N. meningitidis* encapsulada. Sin embargo, no se mostró que los anticuerpos inducidos por la vacuna de OMV de *N. flavescens* modificada en este estudio proporcionaran protección superior a los inducidos por la OMV de *N. flavescens* que no expresaban el antígeno heterólogo. Además, la OMV de *N. flavescens* modificada no indujo respuestas de anticuerpos bactericidas en suero mientras que en estudios previos, los ratones inmunizados con NspA recombinante expresado en vesículas de *E. coli* (Moe *et al*. Infect Immun 1999; 67: 5664-75; Moe *et al*. Infect Immun 2001; 69: 3762-71) o reconstituido en liposomas (Martin *et al*. In: Thirteenth International Pathogenic *Neisseria* Conference. Oslo: Nordberg Aksidenstrykkeri AS, 2002), desarrollaron anticuerpo bactericida en suero. La publicación de PCT n.º WO 02/09746 y publicación de Estados Unidos n.º 20040126389 también describen OMV preparadas a partir de cepas modificadas técnicamente para sobreexpresar un antígeno de *Neisseria*, con NspA, Omp85, pili (PilQ, PilC), PorA, PorB, Opa, Tbp2, TbpA, TbpB, Hsf, PldA, HasR, FrpA/C, FrpB, Hap, LbpA/LbpB, FhaB, lipo02, MltA y ctrAi enumerados como ejemplos específicos de dichos antígenos.

La presente invención supera las desventajas de los enfoques de la técnica anterior para vacunación e induce inmunidad protectora contra un amplio espectro de cepas de *Neisseria meningitidis*, notablemente (pero no exclusivamente) incluyendo cepas que pertenecen al serogrupo B.

Bibliografía

Bjune *et al*. NIPH Ann 1991; 14: 125-30; análisis 130-2; Chen *et al*. En: Thirteenth International Pathogenic *Neisseria* Conference Nordberg Aksidenstrykkeri AS, 2002; Christodoulides *et al*. Microbiology 1998; 144 (Pt 11): 3027-37; Claassen *et al*. Vaccine 1996; 14: 1001-8; de Kleijn *et al*. Vaccine 2000; 18: 1456-66.; Frasch *et al*. Meningococcal vaccines: methods and protocols. Totowa, Nueva Jersey: Humana Press, 2001: 81-107; Fukasawa *et al*. FEMS Immunol Med Microbiol 2004; 41: 205-10; Holst *et al*. Vaccine 2003; 21: 734-7; Humphries Vaccine 2004; 22: 1564-9; Jansen *et al*. FEMS Immunol Med Microbiol 2000; 27: 227-33; Kijet *et al*. en: Thirteen international Pathogenic *Neisseria* Conference Nordberg Aksidenstrykkeri, 2002; Martin *et al*. Vaccine 2000; 18: 2476-81; McGuinness *et al*. Lancet 1991; 337: 514-7.; Morley *et al*. Vaccine 2001; 20: 666-87; Muttilainen *et al*. Microb Pathog 1995; 18: 423-36; Parmar *et al*. Biochim Biophys Acta 1999; 1421: 77-90; Newcombe *et al*. Infect Immun 2004; 72: 338-44; O'Dwyer *et al*. Infect Immun 2004; 72: 6511-8; Oliver *et al*. Infect Immun 2002; 70: 3621-6 Peeters *et al*. Vaccine 1996; 14: 1009-15.; Peeters *et al*. Vaccine 1999; 17: 2702-12; Rouppe van der Voort *et al*. Vaccine 2000; 18: 1334-43; Sanchez *et al*. Vaccine 2002; 20: 2964-71; Steeghs *et al*. EMBO J 2001; 20: 6937-45; Steeghs *et al*. J Endotoxin Res 2004; 10: 113-9; Troncoso *et al*. FEMS Immunol Med Microbiol 2000; 27: 103-9; Vandeputte *et al*. J Biol Chem 2003; van der Ley P *et al*. Vaccine 1995; 13: 401-7; Claassen *et al*. Vaccine 1996; 14: 1001-8; Peeters *et al*. Vaccine 1996; 14: 1009-15; Cantini *et al*. J Biol Chem. 31 dic 2005; [Epub antes de la impresión]. El documento WO2004/014418 describe composiciones inmunogénicas y vacunas para el tratamiento y prevención de una enfermedad de *Neisseria*.

Sumario de la invención

La presente invención se refiere en general a composiciones para uso en un método para inducir una respuesta inmunitaria contra bacterias *Neisseria* spp. en un sujeto, particularmente contra una cepa de *Neisseria meningitidis* del serogrupo B. La presente invención proporciona por lo tanto una composición para su uso en un método para inducir en un sujeto mamífero, anticuerpos anti polipéptido GNA1870 bactericidas contra al menos tres cepas de *Neisseria meningitidis* que son heterólogas para PorA, comprendiendo la composición: vesículas antigénicas aisladas preparadas a partir de una primera bacteria *Neisseria meningitidis*, en la que la bacteria *Neisseria meningitidis* se modifica genéticamente para sobreexpresar un polipéptido GNA1870 a un nivel que es mayor de tres veces un nivel del polipéptido GNA1870 expresado en una cepa parental de la que deriva la primera bacteria *Neisseria meningitidis*, y un vehículo farmacéuticamente aceptable, en el que las vesículas, cuando se administran a dicho sujeto, inducen dichos anticuerpos anti polipéptido GNA1870 bactericidas para al menos tres cepas de *Neisseria meningitidis* que son heterólogas para PorA. Se definen aspectos adicionales de la invención en las reivindicaciones adjuntas.

También se describen en el presente documento composiciones que comprenden vesículas antigénicas preparadas a partir de una primera bacteria de especie de *Neisseria*, en las que la bacteria de especie de *Neisseria* produce un nivel de un polipéptido GNA1870 suficiente para proporcionar la producción de una vesícula que, cuando se administra a un sujeto, induce anticuerpos anti GNA1870; y un vehículo farmacéuticamente aceptable. La vesícula puede ser vesículas de membrana externa (OMV), microvesículas (MV) o una mezcla de OMV y MV. La bacteria de especie de *Neisseria* puede ser una bacteria de origen natural, o modificada genéticamente en la producción de polipéptidos GNA1870 (por ejemplo, para proporcionar la expresión de un polipéptido GNA1870 a partir de un promotor heterólogo, para expresar un polipéptido GNA1870 exógeno y similares). El polipéptido GNA1870 puede ser endógeno para la célula hospedadora. En algunas realizaciones, la bacteria de especie de *Neisseria* se modifica genéticamente para alterar la producción de un polipéptido GNA1870 endógeno, y se modifica genéticamente para producir un polipéptido GNA1870 a partir de un ácido nucleico exógeno de la célula hospedadora. En otras realizaciones, la bacteria de especie de *Neisseria* se modifica genéticamente para producir al menos dos polipéptidos GNA1870 diferentes (por ejemplo, polipéptidos GNA1870 de diferentes grupos variantes (v.1, v.2 y v.3). En realizaciones relacionadas adicionales, la bacteria de especie de *Neisseria* es deficiente en producción de

polisacárido capsular.

También se describen en el presente documento las composiciones anteriores que comprenden además una vesícula antigénica preparada a partir de una segunda bacteria de especie de *Neisseria*, en la que la segunda bacteria de especie de *Neisseria* produce un nivel de un polipéptido GNA1870 suficiente para proporcionar la producción de vesículas que, cuando se administran a un sujeto, inducen anticuerpos anti GNA1870 y en la que la segunda bacteria de especie de *Neisseria* es genéticamente diversa con respecto a la primera bacteria de especie de *Neisseria* (por ejemplo, las primera y segunda bacterias difieren en al menos uno del serogrupo, serotipo o serosubtipo). En realizaciones relacionadas adicionales, el polipéptido GNA1870 de la segunda bacteria de especie de *Neisseria* es diferente del polipéptido GNA1870 de la primera bacteria de especie de *Neisseria*.

También se describen en el presente documento las composiciones anteriores que comprenden además una vesícula antigénica preparada a partir de una tercera bacteria de especie de *Neisseria*, en la que la segunda bacteria de especie de *Neisseria* produce un nivel de un polipéptido GNA1870 suficiente para proporcionar la producción de vesículas que, cuando se administran a un sujeto, inducen anticuerpos anti GN1870, y en la que la tercera bacteria de especie de *Neisseria* es genéticamente diversa con respecto a la primera bacteria de especie de *Neisseria* (por ejemplo, difieren en al menos uno de serogrupo, serotipo o serosubtipo). En realizaciones relacionadas los polipéptidos de GNA1870 de la primera, segunda y tercera bacteria de especie de *Neisseria* son diferentes.

Otra composición descrita en el presente documento comprende una primera vesícula antigénica preparada a partir de una primera bacteria de *Neisseria meningitidis* modificada genéticamente para sobreexpresar un polipéptido GNA1870; una segunda vesícula antigénica preparada a partir de una segunda bacteria *Neisseria meningitidis* modificada genéticamente para sobreexpresar un polipéptido GNA1870; y un vehículo farmacéuticamente aceptable; en la que el polipéptido GNA1870 de la primera y segunda bacteria son grupos variantes del polipéptido GNA1870 diferentes, y las primera y segunda bacterias producen diferentes polipéptidos de PorA. En una realización relacionada, la composición comprende además una tercera vesícula antigénica preparada a partir de una tercera bacteria *Neisseria meningitidis* modificada genéticamente para sobreexpresar un polipéptido GNA1870, en la que el polipéptido GNA1870 de la tercera bacteria es de un grupo variante de polipéptido GNA1870 diferente que el de las primera y segunda bacterias y en el que la tercera bacteria produce un polipéptido PorA diferente del polipéptido PorA de las primera y segunda bacterias. En realizaciones relacionadas adicionales, las vesículas se preparan sin uso de un detergente.

En otro aspecto, la divulgación presenta un método para producir una composición antigénica cultivando una bacteria de especie de *Neisseria* que produce un polipéptido GNA1870, en el que el polipéptido GNA1870 se produce a un nivel suficiente para proporcionar la producción de vesículas que, cuando se administran a un sujeto, inducen anticuerpos anti GNA1870; preparando vesículas a partir de la bacteria cultivada; y combinando las vesículas con un vehículo farmacéuticamente aceptable para producir una composición antigénica adecuada para administración a un sujeto. Las primera y segunda vesículas pueden ser, de forma independiente, una vesícula de membrana externa (OMV) o una microvesícula (MV). La bacteria de especie de *Neisseria* puede ser una bacteria de origen natural y por lo tanto expresar un GNA1870 endógeno, o puede estar modificada genéticamente en la producción de polipéptido GNA1870 (por ejemplo, para proporcionar la expresión de un polipéptido GNA1870 a partir de un promotor heterólogo, para expresar un polipéptido GNA1870 exógeno y similares). El polipéptido GNA1870 puede ser endógeno de la célula hospedadora. En algunas realizaciones, la bacteria de especie de *Neisseria* se modifica genéticamente para alterar la producción de un polipéptido GNA1870 endógeno. En otras realizaciones, la bacteria de especie de *Neisseria* se modifica genéticamente para producir al menos dos polipéptidos GNA1870 diferentes (por ejemplo, polipéptidos GNA1870 de diferentes grupos variantes (v.1, v.2 y v.3)). En otras realizaciones, la bacteria de especie de *Neisseria* se modifica genéticamente para alterar la producción de un polipéptido GNA1870 de longitud completa endógeno, y produce un polipéptido GNA1870 a partir de un ácido nucleico exógeno para la célula hospedadora. En realizaciones relacionadas adicionales, la bacteria de especie de *Neisseria* es deficiente en producción de polisacárido capsular.

En otro aspecto, la divulgación presenta un método para inducir una respuesta inmunitaria contra *Neisseria* administrando a un mamífero una cantidad inmunológicamente eficaz de una composición que comprende una primera preparación antigénica que comprende vesículas preparadas a partir de una primera bacteria de especie de *Neisseria*, en la que la bacteria de especie de *Neisseria* produce un nivel de un polipéptido GNA1870 suficiente para posibilitar la producción de vesículas que, cuando se administran a un sujeto, inducen anticuerpos anti GNA1870; en el que dicha administración es suficiente para inducir una respuesta inmunitaria a un polipéptido GNA1870 presente en las vesículas. Las vesículas pueden ser vesículas de membrana externa (OMV), microvesículas (MV), o una mezcla de OMV y MV. La bacteria de especie de *Neisseria* puede ser una bacteria de origen natural y por lo tanto expresar un GNA1870 endógeno, o puede estar modificada genéticamente en la producción de polipéptidos GNA1870 (por ejemplo, para posibilitar la expresión de un polipéptido GNA1870 a partir de un promotor heterólogo, para expresar un polipéptido GNA1870 exógeno y similares). El polipéptido GNA1870 puede ser endógeno para la célula hospedadora. En algunas realizaciones, la bacteria de especie de *Neisseria* se modifica genéticamente para alterar la producción de un polipéptido GNA1870 endógeno. En otras realizaciones, la bacteria de especie de *Neisseria* se ha modificado genéticamente para sobreexpresar GNA1870. En más realizaciones adicionales, el polipéptido GNA1870 es una proteína quimérica (una proteína de fusión), en la que la proteína quimérica contiene al

menos una parte antigénica de GNA1870 para presentación en vesículas (por ejemplo, OMV, MV). En realizaciones relacionadas adicionales, la bacteria de especie de *Neisseria* es deficiente en producción de polisacárido capsular.

En otras realizaciones, la bacteria de especie de *Neisseria* se modifica genéticamente para producir al menos dos polipéptidos GNA1870 diferentes (por ejemplo, polipéptidos GNA1870 de diferentes grupos variantes (v.1, v.2 y v.3). En otras realizaciones, la bacteria de la especie de *Neisseria* se modifica genéticamente para alterar la producción de un polipéptido GNA1870 de longitud completa endógeno, y produce un polipéptido GNA1870 a partir de un ácido nucleico exógeno para la célula hospedadora.

En realizaciones relacionadas, la composición administrada en el método descrito en el presente documento comprende una cantidad inmunológicamente eficaz de una segunda preparación antigénica que comprende vesículas preparadas a partir de una segunda bacteria de especie de *Neisseria*, en la que la segunda bacteria de especie de *Neisseria* produce un nivel de un polipéptido GNA1870 suficiente para proporcionar la producción de vesículas que, cuando se administran a un sujeto, inducen anticuerpos anti GNA1870, y en la que la segunda bacteria de especie de *Neisseria* es genéticamente diversa con respecto a la primera bacteria de especie de *Neisseria* (por ejemplo, las primera y segunda bacterias son de un serogrupo, serotipo o serosubtipo diferentes). El polipéptido GNA1870 de la segunda bacteria de especie de *Neisseria* puede ser diferente del polipéptido GNA1870 de la primera bacteria de especie de *Neisseria*.

En realizaciones relacionadas adicionales, la composición comprende además una tercera preparación antigénica aislada que comprende vesículas preparadas a partir de una tercera bacteria de especie de *Neisseria*, en la que la segunda bacteria de especie de *Neisseria* produce un nivel de un polipéptido GNA1870 suficiente para posibilitar la producción de vesículas que, cuando se administran a un sujeto, inducen anticuerpos anti GNA1870, y en la que la tercera bacteria de especie de *Neisseria* es genéticamente diversa con respecto a la primera o segunda bacteria de especie de *Neisseria* (por ejemplo, las primera, segunda y tercera bacterias de especies de *Neisseria* son genéticamente diversas porque difieren en al menos uno de serogrupo, serotipo o serosubtipo). Los polipéptidos GNA1870 de las primera, segunda y tercera bacterias de especies de *Neisseria* pueden ser diferentes.

El método puede posibilitar la inducción de una respuesta inmunitaria protectora en el sujeto contra más de una cepa de *Neisseria*, particularmente *N. meningitidis*, más particularmente serogrupo B de *Neisseria meningitidis*.

Las composiciones antigénicas descritas en el presente documento pueden inducir una combinación de respuestas de anticuerpos bactericidas anti GNA1870, anti PorA y/o anti OpC óptima y, por lo tanto, confieren protección amplia contra enfermedad meningocócica.

Las vacunas preparadas a partir de cepas que sobreexpresan GNA1870 como se describen en el presente documento pueden inducir una respuesta de anticuerpo que es bactericida para cepas de *Neisseria* que comparten la variante de GNA1870 y/o PorA de la cepa a partir de la que se prepararon las vesículas, así como una respuesta de anticuerpo que es bactericida para cepas de *Neisseria* que tienen un subvariante de GNA1870 y tienen una PorA heteróloga en relación con la cepa de producción de vesícula.

Las vacunas preparadas a partir de cepas que sobreexpresan GNA1870 también pueden reducir la probabilidad de selección y aparición de cepas de *N. meningitidis* que provocan enfermedad en la población con expresión reducida de PorA. Estos mutantes son particularmente preocupantes si se usan ampliamente vacunas de OMV convencionales en la población debido a que la expresión de PorA es de fase variable (van der Ende *et al*, J. Bacteriology 1995: 177: 2475-2480), y los mutantes deficientes en expresión de PorA son relativamente comunes y pueden seleccionarse fácilmente destruyendo *N. meningitidis* con anticuerpo anti PorA y complemento. Las cepas deficientes en PorA también pueden ser virulentas y capaces de provocar enfermedad.

La presente divulgación también proporciona métodos que pueden ser ventajosos con respecto a la facilidad de preparación de una composición de vacuna eficaz en relación con la preparación de una vacuna que implica un polipéptido recombinante, o una formulación de vacuna de combinación que incorpora múltiples antígenos individuales, o una proteína recombinante tal como PorA que requiere renaturalización de epítopos conformacionales para inducir anticuerpos bactericidas.

Resultarán evidentes para los expertos habituales en la materia tras leer la presente divulgación aspectos, características y ventajas de la invención.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1A muestra los resultados de un experimento de citometría de flujo que mide la unión de anticuerpos anti GNA1870 en la superficie de células de *N. meningitidis* encapsuladas de la cepa RM1090 y mutantes de RM1090 como se determina por fluorescencia indirecta. Fila A. Cepa RM1090ΔGNA1870. Fila B. Cepa de tipo silvestre RM1090. Fila C. Cepa RM1090 transformada con vector lanzadera pFP12 que contiene el gen GNA1870. Columna 1. Suero de control negativo (dilución 1:10) de ratones inmunizados con fosfato de aluminio solamente. Columna 2. mAb anti polisacárido del grupo C de control positivo (10 µg/ml). Columna 3. mAb anti

PorA de control positivo (anti P1.2, dilución 1:500). Columna 4. mAb anti GNA1870 (v.1) (2 µg/ml). Columna 5. Antisueros policlonales anti GNA1870 preparados contra proteínas recombinantes v.1, 2 y 3 (dilución 1:10). Columna 6. Igual que la columna 5 pero una dilución 1:250 de suero.

La Figura 1B muestra la unión de anticuerpos con la superficie de células de *N. meningitidis* del Grupo B vivas como se determina por citometría de fluorescencia indirecta. Fila 1: cepa H44/76 de tipo silvestre (área gris); mutante H44/76 que sobreexpresa GNA1870 (área negra). Fila 2. H44/76ΔGNA1870. Panel A, dilución 1:10 de antisuero de control negativo anti adyuvante; Panel B, mAb anti PorA (P1.16) dilución 1:500; Panel C, mAb anticapsular 10 µg/ml; Panel D, mAb anti rGNA1870 JAR3 10 µg/ml; Panel E, antisuero policlonal anti rGNA1870 dilución 1:10; Panel F, igual que el Panel E con una dilución 1:250. La Figura 2A proporciona resultados de análisis de SDS PAGE y transferencia de Western de OMV. El Panel A es una fotografía de un SDS PAGE teñido con Coomassie. Carriles 1 a 5, preparaciones de OMV (aproximadamente 5 µg de proteína en cada carril excepto en el carril 5 en el que se cargaron 10 µg). Carril 1, cepa de tipo silvestre (WT) RM1090; carril 2, cepa WT transformada con vector lanzadera pFP12 sin el gen de GNA1870; carril 3. Inactivación de RM1090ΔGNA1870 (KO); carril 4, RM1090ΔGNA1870 KO transformado con pFP12 sin el gen de GNA1870; carril 5, RM1090ΔGNA1870 KO transformado con vector lanzadera pFP12-GNA1870 que contiene el gen GNA1870; carril 6, rGNA1870 (aproximadamente 1 µg). Los Paneles B y C son fotografías de transferencias de Western usando antisueros policlonales anti GNA1870 de ratones inmunizados con proteínas rGNA1870 variante 1, 2 y 3. Panel B: la sensibilidad de detección de este antisuero fue ligeramente mayor para la proteína GNA1870 recombinante variante 2 (v.2) en comparación con la proteína GNA1870 recombinante variante 1 (v.1). Panel C: Carril 1, GNA1870 recombinante v.1; Carril 2, OMV de RM1090 WT; Carril 3, OMV de RM1090ΔGNA1870; Carril 4, OMV de RM1090 transformado con el vector lanzadera pFP12 que contiene el gen de GNA1870. La sobreexpresión de GNA1870 v.1 en la cepa de RM1090ΔGNA 1870 transformada con el vector lanzadera es mayor que el nivel de expresión nativo de GNA1870 en la cepa de tipo silvestre (carril 2).

La Figura 2B proporciona resultados del análisis de Transferencia de Western de vacunas de OMV exploradas con anticuerpo policlonal anti rGNA1870. Tipo silvestre, OMV preparado a partir de la cepa H44/76 de tipo silvestre; ΔGNA1870, OMV preparado a partir de un mutante de H44/76 en el que el gen que codificaba GNA1870 se había inactivado; OE GNA1870, OMV de un mutante de H44/76 modificado técnicamente para sobreexpresar GNA1870; rGNA1870, GNA1870 con marcador de His purificado expresado en *E. coli*.

La Figura 3A muestra gráficos de los títulos bactericidas en suero de ratones como se midió frente a cuatro cepas de *N. meningitidis* encapsuladas representativas: Cu385, M6190, Z1092 y NZ98/254. Los grupos de vacuna fueron: barra 1, adyuvante de fosfato de aluminio solamente; barra 2, vacuna de OMV de RM1090 de tipo silvestre; barra 3, vacuna de OMV de RM1090ΔGNA1870; barra 4, mezcla de vacuna de OMV de RM1090ΔGNA1870 + proteína GNA1870 recombinante; barra 5, vacuna de OMV de RM1090 que sobreexpresaba GNA1870; barra 6, proteína GNA1870 recombinante. Las barras que muestran los intervalos de confianza del 95 % con respecto a las medias geométricas representan grupos de vacuna en los que se ensayaron sueros de 9 a 10 animales individuales. Las barras con asteriscos (*) representan medias geométricas de resultados de ensayo de dos grupos de suero de cada grupo de vacuna (cada grupo de sueros de 4 a 5 ratones diferentes).

La Figura 3B muestra gráficos de la actividad bactericida en suero (1/GMT ± DT) de sueros de ratones inmunizados con vacunas de OMV H44/76. Se prepararon grupos de suero como se describe en la leyenda de la Figura 3A. Grupos de ratones inmunizados con (1) Adyuvante, (2) rGNA1870, (3) H44/76 de tipo silvestre (4) H44/76 ΔGNA1870 (5) H44/76 OE GNA1870. Aunque no se muestran los paneles, todas las cepas se destruyeron por complemento más anticuerpos monoclonales anticapsular y/o anti PorA de control positivo.

La Figura 4A es una serie de gráficos que muestran la activación de deposición del complemento de C3b e iC3b humano en la superficie de células de *N. meningitidis* encapsuladas vivas como se determina por citometría de flujo de fluorescencia indirecta. Fila A. Cepa NZ98/254. Fila B. Cepa M1390. Columna 1, complemento más un MAb de grupo B anticapsular de control positivo, 25 µg/ml (área abierta) o una dilución 1:40 de un grupo de suero de ratones de control negativo inmunizados con fosfato de aluminio solo (área cerrada). Columna 2, complemento más mAb anti GNA1870 JAR3, 1 µg/ml (abierto) o complemento inactivado por calor + el MAb anti GNA1870, 5 µg/ml (cerrado). Columnas 3, 4 y 5, complemento más dilución 1:100 de grupos de suero de ratones inmunizados con: columna 3 (vacuna de rGNA1870); Columna 4 (vacuna de OMV de cepa de RM1090 WT); o columna 5 (una mezcla de vacuna de rGNA1870 y vacuna de OMV de la cepa RM1090ΔGNA1870). Columna 6, complemento más diluciones de un grupo de suero de ratones inmunizados con vacuna de OMV de la cepa RM1090 que sobreexpresa GNA1870 (área abierta, dilución 1:100 y área gris, dilución 1:400). Para comparación, los paneles en la columna 6 también muestran datos de complemento más una dilución 1:100 de un grupo de suero de ratones inmunizados con vacuna de OMV de la cepa RM1090ΔGNA1870 (área cerrada).

La Figura 4B es una serie de gráficos que muestran activación de deposición de complemento de C3b e iC3b humano en la superficie de células de *N. meningitidis* encapsuladas vivas como se determina por citometría de flujo de fluorescencia indirecta. Cepas NZ 98/254, BZ198, Z1092 y M6190. Panel A, área abierta: complemento más mAb anticapsular (25 µg/ml para cepas del Grupo B NZ98/254, BZ198 y M61903 y 1 µg/ml para cepa de Grupo A Z1092); área rellena: complemento más dilución 1:100 de antisueros anti adyuvante. Panel B, área abierta: complemento más mAb anti rGNA1870 JAR3 25 µg/ml; área rellena: complemento más dilución 1:100 de antisueros anti rGNA1870 policlonales. Panel C, complemento más dilución 1:100 de antisueros contra OMV de H44/76 de tipo silvestre; Panel D, área abierta: complemento más dilución 1:100 de antisueros preparados contra OMV con GNA1870 sobreexpresado que se habían absorbido con una columna de control negativo (solamente Ni-NTA); área rellena: complemento más dilución 1:25 de antisueros preparados contra OMV con GNA1870

sobreexpresado después de absorción con una columna de GNA1870 de fase sólida.

La Figura 5 es un gráfico de barras que muestra respuestas de anticuerpos anti GNA1870 en suero como se mide por ELISA (GMT ± DT). El antígeno en la placa fue rGNA1870 variante 1. El anticuerpo secundario fue IgG+A+M de cabra anti ratón conjugado con fosfatasa alcalina. Las barras representan la media geométrica de los títulos respectivos de 2 grupos de antisuero (4-5 ratones por grupo) de grupos de ratones inmunizados con (1) Adyuvante; (2) rGNA1870; (3) OMV de H44/76 de tipo silvestre; (4) OMV de H44/76 ΔGNA1870; (5) OMV de H44/76 OE GNA1870.

La Figura 6 proporciona gráficos que muestran resultados de análisis de protección pasiva en el modelo de bacteriemia meningocócica de cría de rata. En el tiempo 0, las crías de rata se trataron por vía intraperitoneal (IP) con diluciones de grupos de suero de ratones inmunizados (N = 9 a 10 sueros individuales por grupo) y se expusieron dos horas después a la cepa de grupo B NZ98/294 (aproximadamente 60.000 UFC/rata proporcionado IP). Se obtuvieron cultivos de sangre cuantitativos de 4 a 6 horas después de la exposición bacteriana. Panel A: diluciones en suero 1:15. Panel B: diluciones en suero 1:60. Barra 1: suero de ratones inmunizados con fosfato de aluminio solamente; barra 2: mAb anticapsular (10 µg/rata); barra 3: mAb anti GNA1870 (10 µg/rata); barra 4: suero de ratones inmunizados con vacuna de OMV de RM1090 ΔGNA1870; barra 5: suero de ratones inmunizados con mezcla de vacuna de OMV de RM1090ΔGNA más vacuna de proteína GNA1870 recombinante; barra 6: suero de ratones inmunizados con vacuna de OMV de RM1090 que sobreexpresa GNA1870; barra 7: suero de ratones inmunizados con vacuna de proteína GNA1870 recombinante.

La Figura 7 es un alineamiento de secuencias de aminoácidos a modo de ejemplo de variantes de GNA1870 1, 2 y 3 de cepas de *N. meningitidis* MC58, 951-5945 y M1239, respectivamente. “1” indica ese primer aminoácido de la proteína madura, con aminoácidos indicados por la parte de números negativos de la secuencia líder. Los fondos gris y negro indican restos de aminoácidos conservados e idénticos, respectivamente.

Las Figuras 8A-8H proporcionan secuencias de aminoácidos de polipéptidos GNA1870 a modo de ejemplo útiles en la invención, incluyendo un alineamiento de secuencias de aminoácidos de polipéptidos GNA1870 a modo de ejemplo seleccionados (Figura 8H).

La Figura 9 proporciona alineamientos de las secuencias de aminoácidos de prototipo de familia de PorA VR1 a modo de ejemplo (Panel A) y las secuencias de aminoácidos de prototipo de familia de PorA VR2 a modo de ejemplo (Panel B).

Antes de describirse la presente invención y realizaciones a modo de ejemplo específicas, debe entenderse que la presente invención no está limitada a realizaciones particulares descritas, ya que estas pueden, por supuesto, variar. También debe entenderse que la terminología usada en el presente documento es para el fin de describir realizaciones particulares solamente, y no se pretende que sea limitante, ya que el alcance de la presente invención estará limitado solamente por las reivindicaciones adjuntas.

Cuando se proporciona un intervalo de valores, debe entenderse que cada valor intermedio, hasta un décimo de la unidad del límite inferior a no ser que el contexto claramente dicte otra cosa, entre el límite superior e inferior de ese intervalo y cualquier otro valor indicado o intermedio en ese intervalo indicado está abarcado dentro de la invención. Los límites superior e inferior de estos intervalos menores que pueden estar incluidos independientemente en los intervalos menores también están abarcados dentro de la invención, sujetos a cualquier límite excluido específicamente en el intervalo indicado. Cuando el intervalo indicado incluye uno o ambos de los límites, los intervalos que excluyen uno o ambos de estos límites incluidos también están incluidos en la invención.

A no ser que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que entiende habitualmente un experto habitual en la materia a la que pertenece la presente invención. Aunque también puede usarse cualquier método y material similar o equivalente a los descritos en el presente documento en la práctica o ensayo de la presente invención, se describen ahora los métodos y materiales preferidos. Todas las publicaciones mencionadas en el presente documento se incorporan en el presente documento por referencia para desvelar y describir los métodos y/o materiales en relación con los que se citan las publicaciones.

Debe observarse que como se usa en el presente documento y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares “un” y “el” incluyen referentes plurales a no ser que el contexto claramente indique otra cosa. Por lo tanto, la referencia a “un antígeno” incluye una pluralidad de dichos antígenos y la referencia a “la vesícula” incluye la referencia a una o más vesículas y equivalentes de las mismas, conocidos por los expertos en la materia, y así sucesivamente.

Las publicaciones analizadas en el presente documento se proporcionan solamente para su divulgación antes de la fecha de presentación de la presente solicitud. Nada en el presente documento debe interpretarse como una admisión de que la presente invención no tiene derecho a antedatar dicha publicación en virtud de la invención anterior. Además, las fechas de publicación proporcionadas pueden ser diferentes de las fechas de publicación reales que puede ser necesario confirmar independientemente.

Descripción detallada de la invención

La presente invención se basa en el descubrimiento de que una vacuna de OMV preparada a partir de una cepa de *N. meningitidis* mutante modificada técnicamente para sobreexpresar GNA1870 induce respuestas de anticuerpos bactericidas más amplias en ratones que una vacuna de proteína GNA1870 recombinante (rGNA1870) o una OMV preparada a partir de una cepa de origen natural, o una combinación de una vacuna de proteína recombinante y una vacuna de OMV.

Se han administrado vacunas de OMV con seguridad a millones de seres humanos, y se ha demostrado que son eficaces contra enfermedad meningocócica en desarrollo. Como se ha observado en la sección de introducción, su limitación principal es que inducen respuestas de anticuerpos bactericidas específicas de cepa. Además, hay preocupación de que si las vacunas de OMV se usan ampliamente en la población la respuesta inmunitaria puede seleccionar la aparición de "mutantes de escape" de cepas de *N. meningitidis* (es decir, cepas con mutaciones en la secuencia de aminoácidos de PorA de bucles accesibles en superficie o con expresión reducida de PorA). Brevemente, la invención proporciona que, por selección de un serosubtipo de PorA prevalente y preparación de un mutante que sobreexpresa GNA1870, sea posible preparar una vacuna basada en vesículas (por ejemplo, OMV, MV) que induzca una combinación de respuestas de anticuerpos bactericidas anti GNA1870 y anti PorA óptimas y, por lo tanto, confiere protección amplia contra enfermedad meningocócica. El uso de dicha vacuna también tiene un riesgo menor que una vacuna de OMV de convención para selección de cepas mutantes deficientes en PorA productoras de enfermedad en la población.

Además, las vesículas preparadas a partir de una cepa que sobreexpresa GNA1870 tienen un perfil de proteínas alterado en comparación con vesículas preparadas a partir de una cepa que expresa un nivel relativamente menor de GNA1870. Como se analiza en más detalle en los Ejemplos, OMV preparada a partir de cepas que sobreexpresan GNA1870 mostró expresión reducida de varias proteínas de envoltura celular en comparación con OMV preparada a partir de la cepa de RM1090 de vacuna de tipo silvestre, o la cepa de inactivación de ΔGNA1870 RM1090. Aunque la capacidad de los antisueros de ratones inmunizados con OMV que sobreexpresa GNA1870 para inducir anticuerpo bactericida para la cepa Cu385 o activar la deposición de C3b en la cepa NZ98/294 fue un resultado de los anticuerpos inducidos por GNA1870, la reducción de estas otras proteínas de envoltura celular externa pueden servir para potenciar adicionalmente la inmunogenicidad y respuesta inmunitaria protectora inducida por vesículas preparadas a partir de cepas que sobreexpresan GNA1870 (por ejemplo, debido a la "desenmascaramiento" de otros antígenos en la vesícula).

Los ejemplos proporcionados en el presente documento ilustran la amplitud de la protección inducida por inmunización con una vacuna de OMV preparada a partir de una cepa de *N. meningitidis* que sobreexpresa (por ejemplo, está modificada genéticamente para sobreexpresar) GNA1870. Las actividades funcionales de los anticuerpos anti GNA1870 inducidos por la vacuna de OMV que sobreexpresaron GNA1870 eran mayores que las de los anticuerpos inducidos por la vacuna de GNA1870 recombinante, o una combinación de GNA1870 recombinante y OMV preparada a partir de la cepa de tipo silvestre. Por ejemplo, a pesar de una menor magnitud de la respuesta de anticuerpo anti GNA1870 como se mide por ELISA (Tabla 2), los sueros de ratones inmunizados con la vacuna de OMV preparada a partir de la cepa modificada técnicamente para sobreexpresar GNA1870 mostraron actividad bactericida mayor contra la cepa Z1092 que la de sueros de ratones inmunizados con la vacuna de proteína recombinante GNA1870, o con vacunas de OMV preparadas a partir de las cepas de RM1090 de inactivación de GNA1870 o de tipo silvestre, o con vacuna de OMV mezclada con la vacuna de proteína GNA1870 recombinante (Figura 3).

Además, incluso en ausencia de fuerte actividad bactericida, los anticuerpos inducidos por la vacuna de OMV que sobreexpresaban GNA1870 proporcionaron mayor deposición de C3b en la superficie de las cepas NZ98/254 o M1390 (Figura 4A, columna 6) que los anticuerpos inducidos para las otras vacunas, y los primeros también confirieron mayor protección pasiva contra la bacteriemia en crías de ratas expuestas a la cepa NZ98/254 (Figura 6, Paneles A-B). La capacidad de activar la deposición de C3b en la cepa NZ98/254 se perdió después de la absorción de anticuerpos anti GNA1870 (Tabla 3). Brevemente, la vacuna de OMV modificada confirió actividad protectora más amplia que la proteína recombinante GNA1870 o la vacuna de OMV de la cepa de vacuna de tipo silvestre como resultado de la capacidad de la vacuna de OMV modificada para inducir actividad bactericida específica de serosubtipo contra cepas que expresaban una molécula de PorA homóloga con respecto a la de la cepa de vacuna, y anticuerpos anti GNA1870 con mayor actividad funcional contra cepas que expresaban subvariantes de la proteína GNA1870 variante 1 que la inducida por la vacuna de GNA1870 recombinante.

La vacuna de OMV modificada preparada a partir de una cepa que sobreexpresa GNA1870 fue ventajosa frente a GNA1870 recombinante contra cepas que expresaban subvariantes de la proteína GNA1870 variante 1 y/o que expresaban un serosubtipo de PorA homólogo. Resulta interesante que los ratones inmunizados con una vacuna de vesícula preparada a partir de una cepa de *N. meningitidis* (RM1090) modificada técnicamente para sobreexpresar NspA tuvieron títulos de anticuerpos anti NspA de ELISA 10 veces mayores pero títulos bactericidas en suero menores contra algunas cepas de *N. meningitidis* tales como Cu385 o Z1092 que los ratones de control inmunizados con una vacuna de vesícula de control preparada a partir de la cepa RM1090 en la que el gen que codificaba NspA se había inactivado (Tabla 5). O'Dwyer *et al*. también observaron falta de actividad bactericida en suero en ratones vacunados con una vacuna de OMV preparada a partir de una cepa de *N. flavescens* modificada técnicamente para sobreexpresar NspA (Infect. Innun. 2004; 72: 6511-80). Por lo tanto, los presentes hallazgos que muestran

respuestas de anticuerpos protectoras y bactericidas potenciadas para una vacuna de OMV que sobreexpresaba GNA1870 son sorprendentes.

La sobreexpresión de GNA1870 v.1 en la cepa H44/76 dio como resultado ~3 veces más GNA1870 en la OMV en comparación con las cantidades mayores de forma natural de GNA1870 en OMV preparada a partir de la cepa de tipo silvestre de H441/76. A diferencia del estudio previo de los inventores de ratones inmunizados con OMV de la cepa de tipo silvestre de RM1090, los ratones inmunizados con OMV preparada a partir de H44/76 de tipo silvestre desarrollaron respuestas de anticuerpos anti GNA1870 como se mide mediante ELISA (Figura 5). Sin embargo, el grupo de ratones a los que se proporcionó OMV de la cepa con GNA1870 sobreexpresado tuvieron títulos ~10 veces mayores. Los títulos medidos por ELISA no se correlacionan bien con la actividad funcional de anticuerpos. Por ejemplo, los mayores títulos anti GNA1870 en suero fueron en ratones inmunizados con la vacuna de GNA1870 recombinante pero la actividad bactericida y de deposición de C3b de suero de ratones inmunizados con la proteína recombinante se limitaron a la cepa H44/76. La susceptibilidad de esta cepa era esperada debido a que prácticamente todas las cepas de *N. meningitidis* con linaje genético de ET5 tienen alta expresión de la proteína GNA1870 v.1 canónica (secuencia de aminoácidos idéntica a la de MC58) y estas cepas son altamente susceptibles a actividad bactericida mediada por complemento de anticuerpos anti GNA1870 (Masignani *et al*. 2003, mencionado anteriormente; Welsch *et al*. 2004, mencionado anteriormente). Las cinco cepas de ensayo de *N. meningitidis* restantes en el estudio de los inventores expresan cantidades menores de GNA1870 que la cepa H44/76, y las proteínas respectivas son subvariantes de GNA1870 v.1. Las cinco cepas también tienen moléculas de PorA heterólogas para las de la cepa de vacuna H44/76. Estas cinco cepas fueron resistentes a actividad bactericida y activación del complemento por anticuerpos inducidos por la vacuna de GNA1870 recombinante, o por los anticuerpos anti PorA inducidos por las vacunas de OMV. Por el contrario, cuatro de las cinco cepas eran susceptibles a actividad bactericida y/o a actividad de deposición de complemento de sueros de ratones inmunizados con vacuna de OMV H44/76 con GNA1870 sobreexpresado. La activación de C3b en la superficie de bacterias vivas ha conducido a protección pasiva predicha de crías de ratas contra bacteriemia meningocócica (Welsch *et al*. J Infect Dis 2003; 188: 1730-40; Welsch *et al* J Immunol 2004; 172: 5606-15; Hou *et al*. J Infect Dis 2005; 192: 580-90; Moe *et al*. Infect Immun 2002; 70: 6021-31). La vacuna de OMV con GNA 1870 sobreexpresado consiste en una mezcla compleja de antígenos y se esperaría que indujera anticuerpo para varias dianas antigénicas. Sin embargo, en experimentos de absorción, la actividad funcional de anticuerpo contra estas cepas se dirigió contra GNA1870 (Tabla 3).

Notablemente, una vacuna de OMV preparada a partir de una cepa mutante con solamente un aumento modesto del nivel de GNA1870 indujo respuestas de anticuerpos bactericidas específicas de GNA1870 mayores y más amplias y/o mayor deposición de C3 que una vacuna de OMV preparada a partir de una cepa de tipo silvestre seleccionada para tener expresión relativamente alta de GNA1870. Por lo tanto, incluso un cambio ligero en la relación de GNA1870 con respecto a la proteína total en la preparación de vacuna de OMV parece determinar si hay o no una respuesta de anticuerpo a GNA1870. Además, la calidad de los anticuerpos inducidos por la vacuna de OMV con GNA1870 sobreexpresado es superior a la de anticuerpos inducidos por la vacuna de GNA1870 recombinante. Por ejemplo, la vacuna recombinante indujo títulos de unión a anticuerpo de ELISA mayores que los inducidos por la vacuna de OMV con GNA1870 sobreexpresado, pero los anticuerpos para la proteína recombinante tuvieron actividad bactericida y activación de complemento menores. Definir los mecanismos por los que la vacuna de GNA1870-OMV modificada induce anticuerpos de suero con actividad funcional más amplia que la proteína recombinante o vacuna de OMV de control requerirá estudios adicionales.

La presente invención proporciona por lo tanto composiciones para inducir una respuesta inmunitaria que es ampliamente reactiva con diversas cepas de *N. meningitidis* productoras de enfermedad. La invención evita el problema de inmunodominancia de dominios variables antigénicamente de PorA en vacunas basadas en vesícula o PorA potenciando la respuesta de anticuerpo a GNA1870 y, posiblemente, a otros antígenos comunes en las cepas de vacuna. Resulta importante que los métodos de la invención inducen anticuerpo bactericida en suero, el único correlacionado serológico demostrado de protección en seres humanos (Goldschneider *et al*. 1969, mencionado anteriormente) contra cepas de *Neisseria* que expresan epítopos de serosubtipo que no se usaron en las preparaciones de vacuna. Además, el método induce anticuerpo bactericida en suero contra cepas que no se destruyen por anticuerpo para una proteína conservada tal como proteína A de superficie de *Neisseria*, una vacuna meningocócica candidata (Martin *et al*., 2000. J. Biotechnol. 83: 27-31; Moe *et al*. (1999 Infect. Immun. 67: 5664; Moe *et al*. Infect Immun. 2001 69: 3762). Sin quedar ligado a la teoría, la vacuna y el régimen de inmunización de la invención proporcionan sus ventajas inesperadas en inmunidad protectora de amplio espectro induciendo anticuerpos que son específicos para antígenos tanto conservados como no conservados.

Definiciones

La expresión “inmunidad protectora” significa que una vacuna o programa de inmunización que se administra a un mamífero induce una respuesta inmunitaria que previene, retarda el desarrollo de o reduce la gravedad de una enfermedad que está provocada por *Neisseria meningitidis*, o disminuye o elimina completamente los síntomas de la enfermedad.

La expresión “una enfermedad provocada por una cepa del serogrupo B de *Neisseria meningitidis*” abarca cualquier

síntoma clínico o combinación de síntomas clínicos que estén presentes en una infección con un miembro del serogrupo B de *Neisseria meningitidis*. Estos síntomas incluyen pero sin limitación: colonización del tracto respiratorio superior (por ejemplo mucosa de la nasofaringe y las amígdalas) por una cepa patógena del serogrupo B de *Neisseria meningitidis*, penetración de las bacterias en la mucosa y el lecho vascular submucoso, septicemia, choque séptico, inflamación, lesiones cutáneas hemorrágicas, activación de fibrinolisis y de coagulación sanguínea, disfunción de órganos tales como insuficiencia renal, pulmonar y cardiaca, hemorragia adrenal e infarto muscular, fuga capilar, edema, isquemia de extremidades periféricas, síndrome de dificultad respiratoria, pericarditis y meningitis.

La expresión “inmunidad protectora de amplio espectro” significa que una vacuna o un programa de inmunización induce “inmunidad protectora” contra al menos una o más (o contra al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, contra al menos ocho o al menos contra más de ocho) cepas de *Neisseria meningitidis*, en el que cada una de las cepas pertenece a un serosubtipo diferente de las cepas usadas para preparar la vacuna. La invención contempla específicamente y abarca un régimen de vacuna o vacunación que confiere protección contra una enfermedad provocada por un miembro del serogrupo B de *Neisseria meningitidis* y también contra otros serogrupos, particularmente serogrupos A, C, Y y W-135.

La expresión “se une específicamente con un anticuerpo” o “es inmunorreactivo específicamente con”, cuando se hace referencia a un antígeno tal como un polisacárido, fosfolípido, proteína o péptido, se refiere a una reacción de unión que se basa en y/o es explorativa de la presencia del antígeno en una muestra que también puede incluir una población heterogénea de otras moléculas. Por lo tanto, en condiciones de inmunoensayo designadas, el anticuerpo o los anticuerpos especificados se unen con un antígeno o antígenos particulares en una muestra y no se unen en una cantidad significativa con otras moléculas presentes en la muestra. La unión específica con un anticuerpo en dichas condiciones puede requerir un anticuerpo o antisuero que se selecciona por su especificidad por un antígeno o antígenos particulares.

La expresión “en una cantidad suficiente para inducir una respuesta inmunitaria a epítopos presentes en dicha preparación” significa que hay una diferencia detectable entre un indicador de respuesta inmunitaria antes y después de la administración de una preparación del antígeno particular. Los indicadores de respuesta inmunitaria incluyen pero sin limitación: título o especificidad de anticuerpo, como se detecta por un ensayo tal como inmunoensayo ligado a enzimas (ELISA), ensayo bactericida, citometría de flujo, inmunoprecipitación, inmunodifusión de Ouchter-Lowny; ensayos de detección de unión de, por ejemplo, transferencia puntual, transferencia de Western o matrices de antígenos; ensayos de citotoxicidad, etc.

Un “antígeno de superficie” es un antígeno que está presente en una superficie estructural de *Neisseria meningitidis* (por ejemplo, la membrana externa, membrana interna, espacio periplásmico, cápsula, pilus, etc.).

La expresión “genéticamente diverso”, como se usa en el contexto de cepas genéticamente diversas de *Neisseria meningitidis*, se refiere a cepas que difieren entre sí en la secuencia de aminoácidos de al menos uno, y habitualmente al menos dos, más habitualmente al menos tres polipéptidos, particularmente polipéptidos antigénicos. Puede conseguirse diversidad genética de las cepas seleccionando cepas que difieren en al menos uno o más, preferentemente al menos dos o más, del serogrupo, serotipo o serosubtipo (por ejemplo, dos cepas que difieren en al menos una de las proteínas seleccionadas de la membrana externa, proteínas PorA y PorB, se dice que son genéticamente diversas entre sí). La diversidad genética también puede definirse, por ejemplo, por tipificación de secuencia multilocus y/o tipificación enzimática multilocus (véase, por ejemplo, Maiden *et al*., 1998, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95: 3140; Pizza *et al*. 2000 Science 287: 1816), electroforesis enzimática multilocus y otros métodos conocidos en la técnica.

“Serogrupo” como se usa en el presente documento se refiere a la clasificación de *Neisseria meningitidis* en virtud de variaciones detectables inmunológicamente en el polisacárido capsular. Se conocen aproximadamente 12 serogrupos: A, B, C, X, Y, Z, 29-E, W-135, H, I, K y L. Un serogrupo cualquiera puede abarcar múltiples serotipos y múltiples serosubtipos.

“Serotipo” como se usa en el presente documento se refiere a la clasificación de cepas de *Neisseria meningitidis* basándose en diferencias antigénicas definidas por anticuerpos monoclonales en la proteína de membrana externa Porina B. Puede encontrarse un único serotipo en múltiples serogrupos y múltiples serosubtipos.

“Serosubtipo”, como se usa en el presente documento se refiere a clasificación de cepas de *Neisseria meningitidis* basándose en variaciones antigénicas definidas por anticuerpo en una proteína de membrana externa denominada Porina A, o tras tipificación de VR de secuencias de aminoácidos deducidas a partir de secuenciación de ADN (Sacchi *et al*., 2000, J. Infect. Dis. 182: 1169; véase también el sitio web de Tipificación de Secuencia Multilocus). La mayor parte de la variabilidad entre proteínas PorA aparece en dos (bucles I y IV) de ocho bucles expuestos en superficie potenciales. Los bucles variables I y IV se han designado VR1 y VR2, respectivamente. Puede encontrarse un único serosubtipo en múltiples serogrupos y múltiples serotipos.

“Enriquecido” significa que un antígeno en una composición antigénica está manipulado por un experimentador o un

especialista clínico de modo que esté presente en una concentración al menos tres veces mayor en peso total, habitualmente una concentración al menos 5 veces mayor, más preferentemente una concentración al menos 10 veces mayor, más habitualmente una concentración al menos 100 veces mayor que la concentración de ese antígeno en la cepa de la que se obtuvo la composición antigénica. Por lo tanto, si la concentración de un antígeno particular es de 1 microgramo por gramo de preparación bacteriana total (o de proteína bacteriana total), una preparación enriquecida contendría al menos 3 microgramos por gramo de preparación bacteriana total (o de proteína bacteriana total).

El término "heterólogo" se refiere a dos componentes biológicos que no se encuentran juntos en la naturaleza. Los componentes pueden ser células hospedadoras, genes o regiones reguladoras, tales como promotores. Aunque los componentes heterólogos no se encuentran juntos en la naturaleza, pueden actuar juntos, como cuando un promotor heterólogo para un gen está unido operativamente con el gen. Otro ejemplo es cuando una secuencia de *Neisseria* es heteróloga de un hospedador de *Neisseria* de una cepa diferente. "Heterólogo" como se usa en el presente documento en el contexto de proteínas expresadas en dos cepas bacterianas diferentes, por ejemplo, "PorA heteróloga" o "GNA1870 heterólogo", indica que las proteínas en cuestión difieren en su secuencia de aminoácidos. Por ejemplo, se dice que una primera cepa de *Neisseria* que expresa PorA 1.5-2,10 y una segunda cepa de *Neisseria* que expresa PorA 7-2,4 tienen "proteínas PorA heterólogas" o son "heterólogas con respecto a PorA".

La expresión "sin exposición inmunológica previa con respecto a *Neisseria meningitidis*" indica un individuo (por ejemplo, un mamífero tal como un paciente humano) que no se ha expuesto nunca (mediante infección o administración) a *Neisseria meningitidis* o a una composición antigénica derivada de *Neisseria meningitidis* en cantidades suficientes para inducir inmunidad protectora, o si se ha expuesto, no ha montado una respuesta inmunitaria protectora. (Un ejemplo de esto último sería un individuo expuesto a una edad demasiado joven cuando no pueden producirse respuestas inmunitarias protectoras. Molages *et al*., 1994, Infect. Immun. 62: 4419-4424). Es deseable además (pero no necesario) que el individuo "sin exposición inmunológica previa" no se haya expuesto tampoco a una especie de *Neisseria* distinta de *Neisseria meningitidis* (o una composición antigénica preparada a partir de una especie de *Neisseria*), particularmente no a una cepa de reacción cruzada de especie de *Neisseria* (o composición antigénica). Los individuos que se han expuesto (mediante infección o administración) a una especie de *Neisseria* o a una composición antigénica derivada de esa especie de *Neisseria* en cantidades suficientes para inducir una respuesta inmunitaria a los epítopos mostrados por esa especie, están "sensibilizados" para responder inmunológicamente a la epítopos mostrados por esa especie.

Cepas de *Neisseria* que expresan GNA1870 para uso en producción de vesículas

En general, la invención implica la producción de vesículas (microvesículas o vesículas de membrana externa) de una cepa de *Neisseria* de origen natural o modificada genéticamente que produce un nivel de proteína GNA1870 suficiente para proporcionar vesículas que, cuando se administran a un sujeto, inducen anticuerpos anti GNA1870 de suero. Los anticuerpos anti GNA1870 producidos facilitan la inmunoprotección contra 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más cepas de *Neisseria*, pudiendo dichas cepas ser genéticamente diversas (o "heterólogas con respecto a proteína PorA").

Puede usarse en la invención cualquiera de diversas cepas de *Neisseria* spp. que produzcan o puedan modificarse para producir GNA1870 y, opcionalmente, que produzcan o puedan modificarse para producir otros antígenos de interés, tales como PorA. Se analizan en más detalle posteriormente características de cepas adecuadas con respecto a producción de GNA1870.

Son de particular interés *Neisseria* spp. patógenas o cepas derivadas de *Neisseria* spp. patógenas, particularmente cepas patógenas para seres humanos o derivadas de cepas patógenas o comensales de seres humanos. Las especies de *Neisseria* a modo de ejemplo incluyen *N. meningitidis*, *N. flavorscens*, *N. gonorrhoeae*, *N. lactamica*, *N. polysaccharea*, *N. cinerea*, *N. mucosa*, *N. subflava*, *N. sicca*, *N. elongata* y similares. Se entiende que "derivado de" en el contexto de cepas bacterianas indica que una cepa se obtuvo mediante pase *in vivo*, o en cultivo *in vitro*, de una cepa parental y/o es una célula recombinante obtenida por modificación de una cepa parental.

Las cepas de *N. meningitidis* son de interés particular en la presente invención. Las cepas de *N. meningitidis* pueden dividirse en grupos serológicos, serotipos y subtipos basándose en reacciones con anticuerpos policlonales (Frasch, C. E. y Chapman, 1973, J. Infect. Dis. 127: 149-154) o monoclonales que interaccionan con diferentes antígenos de superficie. La clasificación en serogrupos se basa en variaciones detectables inmunológicamente en el polisacárido capsular. Se conocen aproximadamente 12 serogrupos (A, B, C, X, Y, Z, 29-E y W-135). Las cepas de los serogrupos A, B, C, Y y W-135 representan casi toda la enfermedad meningocócica.

La serotipificación se basa en diferencias antigénicas definidas por anticuerpos monoclonales en una proteína de membrana externa denominada Porina B (PorB). Se conocen en la actualidad anticuerpos que definen aproximadamente 21 serotipos (Sacchi *et al*., 1998, Clin. Diag. Lab. Immunol. 5: 348). La serosubtipificación se basa en variaciones antigénicas definidas por anticuerpo en una proteína de membrana externa denominada Porina A (PorA). Se conocen en la actualidad anticuerpos que definen aproximadamente 18 serosubtipos. La

serosubtipificación es especialmente importante en cepas de *Neisseria meningitidis* en las que la inmunidad puede ser específica de serosubtipo. La mayoría de la variabilidad entre proteínas PorA sucede en dos (bucles I y IV) de ocho bucles expuestos en superficie potenciales. Los bucles variables I y IV se han designado VR1 y VR2, respectivamente. Ya que existen más variantes de secuencias de VR1 y VR2 de PorA que no se han definido por anticuerpos específicos, se ha propuesto una nomenclatura alternativa basada en la tipificación de VR de secuencia de aminoácidos deducida a partir de secuenciación de ADN (Sacchi *et al*., 2000, J. Infect. Dis. 182: 1169; véase también el sitio web de Tipificación de Secuencias Multilocus). Los lipopolisacáridos también pueden usarse como antígenos de tipificación, dando lugar a los denominados inmunotipos: L1, L2, etc.

N. meningitidis también puede dividirse en grupos o subgrupos clonales, usando diversas técnicas que caracterizan directa o indirectamente el genoma bacteriano. Estas técnicas incluyen electroforesis enzimática multilocus (MLEE), basada en variación de movilidad electroforética de una enzima, que refleja los polimorfismos subyacentes en un locus genético particular. Caracterizando las variantes de una varias de dichas proteínas, la "distancia" genética entre dos cepas puede inferirse a partir de la proporción de desapareamientos. De forma similar, la clonalidad entre dos aislados puede inferirse si los dos tienen patrones idénticos de variantes electroforéticas en varios loci. Más recientemente, la tipificación de secuencia multilocus (MLST) ha desbancado a MLEE como el método elegido para caracterizar los microorganismos. Usando MLST, la distancia genética entre dos aislados, o clonalidad se infiere a partir de la proporción de desapareamientos en las secuencias de ADN de 11 genes constitutivos en cepas de *Neisseria meningitidis* (Maiden *et al*., 1998, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95: 3140).

La cepa usada para producción de vesículas puede seleccionarse de acuerdo con varias características diferentes que pueden desearse. Por ejemplo, además de selección de acuerdo con un nivel de producción de GNA1870, la cepa puede seleccionarse de acuerdo con: un tipo de PorA deseado (un "serosubtipo", como se ha descrito anteriormente), serogrupo, serotipo y similares; producción de polisacáridos capsulares reducida; y similares.

Por ejemplo, la cepa de producción puede producir cualquier polipéptido PorA deseado, y puede expresar uno o más polipéptidos PorA (bien de forma natural o debido a ingeniería genética). Las cepas a modo de ejemplo incluyen las que producen un polipéptido PorA que confiere un serosubtipo de P1.7, 16; P1.19,15; P1.7,1; P1,5,2; P1.22a, 14; P1.14; P1,5,10; P1,7,4; P1.12,13; así como variantes de dichos polipéptidos PorA que pueden conservar o no reactividad con reactivos serológicos convencionales usados en serosubtipificación.

También son de interés polipéptidos PorA caracterizados de acuerdo con tipificación de región variable (VR) de PorA (véase, por ejemplo, Russell *et al*. Emerging Infect Dis 2004 10: 674-678; Sacchi CT, *et al*, Clin Diagn Lab Immunol 1998; 5: 845-55; Sacchi *et al*, J. Infect Dis 2000; 182: 1169-1176). Se ha identificado un número sustancial de tipos de VR distintos, que pueden clasificarse en "prototipos" de familia VR1 y VR2. Una base de datos accesible por la web que describe esta nomenclatura y su relación con esquemas de tipificación previos se encuentra en neisseria.org/nm/typing/pora. Se proporcionan alineamientos de tipos VR1 y VR2 de PorA a modo de ejemplo en Russell *et al*. Emerging Infect Dis 2004 10: 674-678 y se proporcionan en la Figura 9 para la conveniencia del lector.

Los polipéptidos PorA a modo de ejemplo como se caracterizan por serosubtipos de PorA incluyen P1.5,2; P1.5a,2a; P1.5a,2c; P1.5a,2c; P1.5a,2c; P1.5b,10; P1.5b,10; P1.5b,C; P1.7,16; P1.7d,1; P1.7d,1; P1.7d,1; P1.7d,1; P1.7b,3; P1.7b,4; P1.7b,4; P1.12,16; P1.12a,13a; P1.22,9; P1.23,14; P1.23,14; P1.19,15; P1.B,1; P1.C,1; P1.E,A; P1.E,A; P1.E,A; P1.5,2; P1.5,2; P1.5a,10a; P1.5b,10; P1.5b,10; P1.5b,10b; P1.7,16; P1.7,16; P1.7b,1; P1.7b,13e; P1.7b,4; P1.7b,4; P1.7d,1; P1.7d,1; P1.7b,13a; P1.23,3; P1.23,3; P1.23,3; P1.19,15; P1.19,1; P1.19,15; P1.19,15; P1.19,15; P1.19,15; P1.19,15; P1.19,15; P1.19,15; P1.E,A; P1.E,A; P1.E,16a; P1.E,4a; P1.E,4a; P1.Ea,3; P1.Eb,9; P1.Eb,9; P1.Eb,9; P1.Eb,9; P1.Eb,9; P1.F,16; P1.7a,1; P1.7b,3; P1.7d,1; P1.Ea,3; P1.5b,10; P1.5b,10; P1.5b,10; P1.5b,10; P1.5b,10; P1.5b,10; P1.5b,10b; P1.5b,10; P1.22,14a; P1.F,16; P1.D,2d; P1.D,2; P1.D,2d; P1.19c,2c; P1.D,10f; P1.A,10e; P1.A,10g; P1.A,10; P1.19,15; P1.19,15; P1.19,15; P1.19,15; P1.7b,16; P1.7,16b; P1.7,16; P1.19,15; P1.Eb,9; P1.5,2e; P1.E,A; P1.7b,13d; P1.Ea,3; P1.7,16b; P1.Ec,1; P1.7b,4; P1.7b,4; P1.7,9; P1.19,15; P1.19,15; P1.19,15; P1.19,15a; P1.19a,15b; P1.19,15; P1.5b,16; P1.19b,13a; P1.5,16; P1.5,2; P1.5,2b; P1.7b,16; P1.7,16b; P1.7b,3; P1.Ea,3; P1.5a,2c; P1.F,16; P1.5a,9; P1.7c,10c; P1.7b,13a; P1.7,13a; P1.7a,10; P1.20,9; P1.22,B; P1.5b,del; P1.5b,10; P1.7,13a; P1.12a,13f; P1.12a,13; P1.12a,13a; P1.12a,13a; P1.12a,13; P1.12a,13; P1.E,13b; P1.7b,13a; P1.7b,13; P1.5,2; P1.5,2; P1.Ea,3; P1.22,9; P1.5,2; P1.5,2; P1.19,15; P1.5,2; P1.12b,13a; P1.5c,10a; P1.7e,16e; P1.B,16d; P1.F,16e; P1.F,16e; P1.7b,13e; P1.B,16d; P1.7e,16e; P1.7b,13g; P1.B,16f; P1.7,16c; P1.22,14b; P1.22,14c; P1.7,14; P1.7,14 y P1.23,14.

Se encuentran secuencias de aminoácidos de polipéptidos PorA a modo de ejemplo en los n.º de referencia de GenBank X57182, X57180, U92941, U92944, U92927, U92931, U92917, U92922, X52995, X57184, U92938, U92920, U92921, U92929, U92925, U92916, X57178, AF051542, X57181, U92919, U92926, X57177, X57179, U92947, U92928, U92915, X57183, U92943, U92942, U92939, U92918, U92946, U92496, U97260, U97259, AF042541, U92923, AF051539, AF051538, U92934, AF029088, U92933, U97263, U97261, U97262, U92945, AF042540, U92935, U92936, U92924, AF029086, AF020983, U94958, U97258, U92940, AF029084, U92930, U94959, U92948, AF016863, AF029089, U92937, AF029087, U92932, AF029090, AF029085, AF051540, AF051536, AF052743, AF054269, U92495, U92497, U92498, U92499, U92500, U92501, U92502, U92503, AF051541, X12899, Z48493, Z48489, Z48485, Z48494, Z48487, Z48488, Z48495, Z48490, Z48486, Z48491, Z48492, X66478, X66479, X66477, X66480, X81110, X79056, X78467, X81111, X78802, Z14281/82, Z14273/74,

Z14275/76, Z14261/62, Z14265/66, Z14277/78, Z14283/84, Z14271/72, Z14269/70, Z14263/64, Z14259/60, Z14257/58, Z14293/94, Z14291/92, Z14279/80, Z14289/90, Z14287/88, Z14267/68, Z14285/86, L02929, X77423, X77424, X77433, X77426, X77428, X77430, X77427, X77429, X77425, X77432, X77431, X77422, Z48024/25, Z48032/33, Z48020/21, Z48022/23, Z48028/29, Z48016/17, Z48012/13, Z48014/15, Z48018/19, Z48026/27, U31060, U31061, U31062, U31063, U31064, U31065, U31066, U31067, U93898, U93899, U93900, U93901, U93902, U93903, U93904, U93905, U93906, U93907 y U93908.

Como alternativa o además, la cepa de producción puede ser una cepa deficiente en cápsula. Las cepas deficientes en cápsula pueden proporcionar vacunas basadas en vesículas que posibilitan una reducción del riesgo de inducción de una respuesta de autoanticuerpo significativa en un sujeto al que se administra la vacuna (por ejemplo, debido a producción de anticuerpos que reaccionan de forma cruzada con ácido siálico en superficies de células hospedadoras). “Deficiente en cápsula” o “deficiente en polisacárido capsular” como se usa en el presente documento se refiere a un nivel de polisacárido capsular en la superficie bacteriana que es menor que el de una cepa de origen natural o, cuando la cepa se modifica genéticamente, es menor que la de una cepa parental de la que deriva la cepa deficiente en cápsula. Una cepa deficiente en cápsulas incluye cepas que tienen producción de polisacáridos capsulares en superficie reducida en al menos 10 %, 20 %, 25 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o más, e incluye cepas en las que el polisacárido capsular no es detectable en la superficie bacteriana (por ejemplo, por ELISA de células completas usando un anticuerpo anti polisacárido capsular).

Las cepas deficientes en cápsulas incluyen las que son deficientes en cápsulas debido a modificación genética generada de forma recombinante o de origen natural. Se conocen en la técnica cepas deficientes en cápsulas de origen natural (véase, por ejemplo, Dolan-Livengood *et al*. J. Infect. Dis. (2003) 187(10): 1616-28), así como métodos para identificar y/o generar cepas deficientes en cápsula (véase, por ejemplo, Fisseha *et al*. (2005) Infect. Immun. 73(7): 4070-4080; Stephens *et al*. (1991) Infect Immun 59(11): 4097-102; Frosch *et al*. (1990) Mol Microbiol. 1990 4(7): 1215-1218).

La modificación de una célula hospedadora de *Neisseria* para proporcionar producción reducida de polisacárido capsular puede incluir modificación de uno o más genes implicados en la síntesis de cápsula, en la que la modificación proporciona, por ejemplo, niveles reducidos de polisacárido capsular en relación con una célula parental antes de la modificación. Dichas modificaciones genéticas pueden incluir cambios en las secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos en uno o más genes de biosíntesis de cápsulas que hacen a la cepa deficiente en cápsula (por ejemplo, debido a una o más inserciones, supresiones, sustituciones y similares en uno o más genes de biosíntesis de cápsula). Las cepas deficientes en cápsulas pueden carecer de o ser no funcionales para uno o más genes de cápsula.

Son de particular interés cepas que son deficientes en biosíntesis de ácido siálico. Dichas cepas pueden posibilitar la producción de vesículas que tienen riesgo reducido de inducción de anticuerpos anti ácido siálico que reaccionan de forma cruzada con antígenos de ácido siálico humano, y pueden proporcionar adicionalmente seguridad de fabricación mejorada. Las cepas que tienen un defecto en la biosíntesis de ácido siálico (debido a una modificación de origen natural o una modificación técnica) pueden ser defectuosas en cualquiera de varios genes diferentes en la ruta biosintética de ácido siálico. Son de particular interés cepas que son defectuosas en un producto génico codificado por el gen de la N-acetilglucosamina-6-fosfato 2-epimerasa (conocida como synX AAF40537.1 o siaA AAA20475), siendo las cepas que tienen este gen inactivado de especial interés. Por ejemplo, en una realización, se genera una cepa deficiente en cápsula alterando la producción de un producto génico de synX funcional (véase, por ejemplo, Swartley *et al*. (1994) J Bacteriol. 176(5):1530-4).

También pueden generarse cepas deficientes capsulares a partir de cepas de origen natural usando técnicas no recombinantes, por ejemplo, mediante el uso de anticuerpos anti capsulares bactericidas para seleccionar cepas que tengan polisacárido capsular reducido.

Cuando la invención implica el uso de dos o más cepas (por ejemplo, para producir composiciones antigénicas de vesículas de diferentes cepas, como se analiza posteriormente en más detalle), las cepas pueden seleccionarse para diferir en una o más características de cepa, por ejemplo, para proporcionar vesículas que difieran en el tipo de PorA y/o grupo variante de GNA1870.

<u>Producción de GNA1870 en células hospedadoras de Neisseria</u>

En general como se ha indicado anteriormente, pueden producirse vesículas de acuerdo con la invención usando una cepa de *Neisseria* de origen natural o de origen no natural modificada que produzca vesículas con suficiente proteína GNA1870 que, cuando se administre a un sujeto, posibilite la producción de anticuerpos anti-GNA1870.

Pueden usarse cepas de *Neisseria* descritas en el presente documento para producir vesículas y pueden ser cepas de origen natural que expresen un mayor nivel de GNA1870 en relación con cepas que no expresen nivel detectable o expresen un nivel bajo de GNA1870. RM1090 es un ejemplo de una cepa que produce un bajo nivel de GNA1870. Son de particular interés cepas de origen natural que produzcan GNA1870 a un nivel que es 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5 o 10 veces o más mayor que la producción de GNA1870 en una cepa

productora de GNA1870 baja, tal como RM1090. Los ejemplos de cepas de origen natural que expresan un alto nivel de GNA1870 incluyen cepas ET-5 tales como H44/76, Cu385 y MC58. Para un análisis de cepas que expresan niveles bajos o detectables de GNA1870, niveles intermedios de GNA1870 o altos niveles de GNA1870 véase Masignani *et al*. 2003, J Exp Med 197: 789-199. En realizaciones particulares, la cepa produce un nivel de GNA1870 que es mayor que la producida en RM1090, y puede ser al menos 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5 o 10 veces o mayor que la de RM1090.

La cepa de *Neisseria* se modifica por técnicas recombinantes o no recombinantes para proporcionar un nivel suficientemente alto de producción de GNA1870. Dichas cepas modificadas generalmente se producen para proporcionar un aumento en la producción de GNA1870 que es 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5 o 10 veces o más mayor que la producción de GNA1870 en la célula parenteral no modificada o mayor que la producción de GNA1870 de la cepa RM1090. Puede usarse cualquier cepa adecuada en esta realización incluyendo cepas que producen niveles bajos o indetectables de GNA1870 antes de la modificación y cepas que producen de forma natural altos niveles de GNA1870 en relación con cepas que no expresan ningún nivel detectable o expresan un nivel bajo de GNA1870.

Pueden generarse cepas modificadas mediante técnicas no recombinantes tales como, por ejemplo, exposición a productos químicos, radiación u otro agente modificador o que dañe el ADN, y similares. Las cepas modificadas que tengan un perfil de expresión de proteínas deseado, particularmente con respecto a producción de GNA1870, pueden identificarse mediante exploración con respecto a cepas que produzcan un nivel deseado de GNA1870 (por ejemplo, un nivel aumentado de GNA1870 en comparación con la cepa parental no modificada o un productor de GNA1870 bajo (tal como RM1090), o un nivel similar al de una cepa que produce GNA1870 a niveles aceptablemente altos).

Como alternativa, y más habitualmente, se producen cepas modificadas usando técnicas recombinantes, habitualmente mediante introducción de ácido nucleico que codifica un polipéptido GNA1870 o manipulación de un gen de GNA1870 endógeno para proporcionar expresión aumentada de GNA1870 endógeno.

Se conocen en la técnica métodos para determinar los niveles de producción de GNA1870. Dichos métodos incluyen, por ejemplo, transferencia de Western (opcionalmente con análisis asistido por exploración densitométrica), análisis citométrico de flujo (por ejemplo, FACS) usando anticuerpo anti GNA1870, detección de los niveles de ARN de GNA1870, y similares. Las cepas que tienen niveles mayores de producción de GNA1870, bien de forma natural o bien debido a modificación genética, se denominan en ocasiones en el presente documento “sobreexpresadores” de GNA1870 o se dice que “sobreexpresan” GNA1870.

Producción de cepas de Neisseria modificadas genéticamente

Como se ha observado anteriormente, mediante la introducción de ácido nucleico que codifica un polipéptido GNA1870 o manipulación de un gen de GNA1870 endógeno para proporcionar expresión aumentada de GNA1870 endógeno.

Células hospedadoras de Neisseria modificadas genéticamente para proporcionar expresión aumentada de un GNA1870 endógeno

La expresión de GNA1870 endógeno puede aumentarse alterando *in situ* la región reguladora que controla la expresión de GNA1870. Se conocen en la técnica métodos para proporcionar expresión aumentada de un gen de *Neisseria* endógeno (véase, por ejemplo, documento WO 02/09746). Además, se conocen las secuencias de ácido nucleico de genes que codifican variantes y subvariantes de GNA1870 genómicas, proporcionando la adaptación rápida de dichos métodos en la regulación positiva de expresión de GNA1870 endógena.

El GNA1870 endógeno puede ser de cualquier grupo variante deseado (por ejemplo, v.1, v.2, v.3 y similares) o subvariante de GNA1870. Un polipéptido GNA1870E v.1 “canónico” de la cepa MC58 es de interés particular. También es de interés un polipéptido GNA1870 subvariante de la cepa NZ98/294, y polipéptido GNA1870 v.2 de la cepa 2996.

La modificación de una célula hospedadora de *Neisseria* para proporcionar producción aumentada de GNA1870 endógeno puede incluir reemplazo parcial o total de todo o una parte del gen endógeno que controla la expresión de GNA1870, en el que la modificación proporciona, por ejemplo, actividad transcripcional potenciada en relación con la cepa parental no modificada. Puede conferirse actividad transcripcional aumentada por variantes (mutaciones puntuales, supresiones y/o inserciones) de las regiones de control endógenas por promotores de origen natural o heterólogos modificados o por una combinación de ambos. En general la modificación genética confiere una actividad transcripcional mayor que la de la actividad transcripcional endógena no modificada (por ejemplo, mediante introducción de un promotor fuerte), dando como resultado una expresión potenciada de GNA1870.

Los promotores fuertes típicos que pueden ser útiles en el aumento de la producción de transcripción de GNA1870 pueden incluir, por ejemplo, los promotores de porA, porB, lbpB, tbpB, p110, hpuAB, lgtF, Opa, p110, 1st y hpuAB.

PorA, RMp y PorB son de particular interés como promotores constitutivos fuertes. Está contenida actividad de promotor PorB en un fragmento correspondiente a los nucleótidos -1 a -250 cadena arriba del codón de inicio de porB.

Están disponibles métodos en la técnica para conseguir la introducción de un promotor en un genoma de célula hospedadora para unir operativamente el promotor a un ácido nucleico que codifica GNA1870 endógeno. Por ejemplo, tecnología de recombinación homóloga de cruce doble para introducir un promotor en una región cadena arriba de la secuencia codificante, por ejemplo, aproximadamente 1000 pb, de aproximadamente 30-970 pb, aproximadamente 200-600 pb, aproximadamente 300-500 pb o aproximadamente 400 pb cadena arriba (5') del codón de inicio ATG de la secuencia de ácido nucleico que codifica GNA1870 para proporcionar regulación positiva. La colocación óptima del promotor puede determinarse mediante uso rutinario de métodos disponibles en la técnica.

Por ejemplo, un promotor altamente activo (por ejemplo, promotores de PorA, PorB o Rmp) cadena arriba del gen diana. Como ejemplo, el promotor de PorA puede optimizarse para expresión como se describe en Ende *et al*. Infect Immun 2000; 68: 6685-90. La inserción del promotor puede conseguirse mediante, por ejemplo, amplificación por PCR del segmento cadena arriba del gen de GNA1870 diana, clonando el segmento cadena arriba en un vector e insertando sitios de restricción apropiados durante la amplificación por PCR, o usando sitios de restricción de origen natural para insertar el segmento promotor de PorA. Por ejemplo, puede clonarse un segmento cadena arriba de aproximadamente 700 pb del gen de GNA1870. Usando sitios de enzimas de restricción de origen natural localizados a una distancia apropiada (por ejemplo, aproximadamente 400 pb) cadena arriba del promotor de GNA1870 dentro de este segmento clonado se inserta un segmento del promotor de PorA. Puede insertarse un casete de resistencia a antibióticos (por ejemplo, eritromicina) dentro del segmento más cadena arriba del promotor de PorA y la construcción se usó para reemplazar el segmento de GNA1870 cadena arriba de tipo silvestre mediante recombinación homóloga.

Otro enfoque implica introducir una secuencia codificante de polipéptido GNA1870 cadena abajo de un promotor endógeno que muestra actividad transcripcional fuerte en el genoma de célula hospedadora. Por ejemplo, la región codificante del gen de Rmp puede reemplazarse con una secuencia codificante de un polipéptido GNA1870. Este enfoque aprovecha el promotor de Rmp constitutivo altamente activo para conducir la expresión.

Células hospedadoras de Neisseria modificadas genéticamente para expresar un GNA1870 exógeno

Las cepas de *Neisseria* pueden modificarse genéticamente para sobreexpresar GNA1870 mediante la introducción de una construcción que codifica un polipéptido de GNA1870 en una célula hospedadora de *Neisseria*. El GNA1870 introducido para expresión se denomina en el presente documento GNA1870 "exógeno". La célula hospedadora produce un GNA1870 endógeno, el GNA1870 exógeno puede tener la misma secuencia de aminoácidos o una diferente en comparación con el GNA1870 endógeno.

La cepa usada como la célula hospedadora en esta realización puede producir cualquier nivel de GNA1870 (por ejemplo, nivel alto, nivel intermedio o nivel bajo de producción de GNA1870). Es de particular interés el uso de una cepa que se selecciona para producción de GNA1870 de nivel bajo o no detectable, o que se modifica para mostrar un nivel no detectable, o bajo, de producción de GNA1870. Por ejemplo, la célula hospedadora puede modificarse genéticamente de modo que el gen de GNA1870 endógeno se altere de modo que no se produzca GNA1870 o no esté presente en la envoltura celular (y por lo tanto no esté presente a niveles detectables en una vesícula preparada a partir de dicha célula modificada). En otras realizaciones, la célula hospedadora produce un nivel intermedio o alto de GNA1870 (por ejemplo, en relación con un nivel de GNA1870 producido, por ejemplo, por RM1090).

Polipéptidos GNA1870

La célula hospedadora puede modificarse genéticamente para expresar cualquier polipéptido GNA1870 adecuado, incluyendo variantes o subvariantes de GNA1870. Como se describe en más detalle posteriormente, las secuencias de aminoácidos de muchos polipéptidos GNA1870 se conocen; el alineamiento de estas secuencias proporciona orientación con respecto a restos que están conservados entre las variantes, proporcionando de este modo orientación con respecto a modificaciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones, inserciones, supresiones) que pueden realizarse.

En consecuencia, "polipéptido GNA1870" como se usa en el presente documento abarca polipéptidos de origen natural y sintéticos (de origen no natural) que comparten al menos aproximadamente 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o más identidad de secuencia al nivel de nucleótidos o aminoácidos con un polipéptido GNA1870 de origen natural, y que son capaces de inducir anticuerpos que se unen específicamente con un polipéptido GNA1870 de origen natural presente en una bacteria de *Neisseria* de célula completa. "Polipéptido GNA1870" también abarca proteínas de fusión, por ejemplo, un polipéptido GNA1870 que tiene un polipéptido heterólogo en el extremo N y/o C terminal.

La célula hospedadora puede modificarse genéticamente para expresar al menos un polipéptido GNA1870, y puede

modificarse para expresar 2, 3, 4 o más polipéptidos GNA1870 en la misma célula hospedadora. Por ejemplo, una única célula hospedadora puede modificarse genéticamente para expresar al menos un polipéptido GNA1870 de variante 1, al menos un polipéptido GNA1870 de variante 2 y al menos un polipéptido GNA1870 de variante 3.

Cuando la expresión de múltiples polipéptidos GNA1870 encuentra dificultades debido a toxicidad para la célula hospedadora, los diferentes polipéptidos GNA1870 pueden expresarse a partir de diferentes promotores para permitir un intervalo de expresión. Por ejemplo, la variación tanto de la composición de base como del número de bases entre las regiones -10 y -35 del promotor de PorA daría como resultado un amplio intervalo de expresión de la proteína recombinante deseada (van der Ende *et al*. Infect Immun 2000; 68: 6685-90).

Se conocen en la técnica ácidos nucleicos que codifican un polipéptido GNA1870 para uso en la invención. Se describen polipéptidos GNA1870 adecuados, por ejemplo, en

Documento WO 2004/048404; Masignani *et al*. 2003 J Exp Med 197: 789-799; Fletcher *et al*. Infect Immun 2004 2088-2100; Welsch *et al*. J Immunol 2004 172: 5606-5615; y documento WO 99/57280. También se proporcionan ácidos nucleicos (y secuencias de aminoácidos) para variantes y subvariantes de GNA1870 en los n.º de referencia de GenBank: NC_003112, GeneID: 904318 (NCBI Ref. NP_274866) (de cepa de *N. meningitidis* MC58); AY548371 (AAT01290.1) (de cepa de *N. meningitidis* CU385); AY548370 (AAT01289.1) (de cepa de *N. meningitidis* H44/76); AY548377 (AAS56920.1) (de cepa de *N. meningitidis* M4105); AY548376 (AAS56919.1) (de cepa de N. M1390); AY548375 (AAS56918.1) (de cepa de *N. meningitidis* N98/254); AY548374 (AAS56917.1) (de cepa de *N. meningitidis* M6190); AY548373 (AAS56916.1) (de cepa de *N. meningitidis* 4243); y AY548372 (AAS56915.1) (de cepa de *N. meningitidis* BZ83).

La Figura 7 es un alineamiento de secuencias de aminoácidos a modo de ejemplo de variantes de GNA1870 1, 2 y 3 de las cepas de *N. meningitidis* MC58, 951-5945 y M1239, respectivamente (documento WO 2004/048404). La proteína GNA1870 inmadura incluye una secuencia líder de aproximadamente 19 restos, conteniendo habitualmente cada variante una cisteína N terminal con la que puede unirse covalentemente un resto lipídico. Este resto de cisteína habitualmente está lipidado en la proteína de origen natural. “1” indica que el primer aminoácido de la proteína madura, con aminoácidos indicados por la parte de números negativos de la secuencia líder. Los fondos gris y negro indican restos de aminoácidos conservados e idénticos, respectivamente. Se proporcionan secuencias de aminoácidos adicionales de polipéptidos GNA1870, incluyendo variantes de origen no natural en las Figuras 8A-8H y 9.

El GNA1870 puede estar lipidado o no lipidado. En general se prefiere que el GNA1870 esté lipidado, para proporcionar la situación del polipéptido en la membrana. El GNA1870 lipidado puede prepararse por expresión del polipéptido GNA1870 que tiene el péptido señal N terminal para dirigir la lipidación por diacilgliceril transferasa, seguido de escisión por peptidasa señal específica de lipoproteína (tipo II).

El polipéptido GNA1870 útil en la invención incluye polipéptidos GNA1870 de origen no natural (artificiales o mutantes) que difieren en su secuencia de aminoácidos de un polipéptido GNA1870 de origen natural, pero que están presentes en la membrana de un hospedador de Neisseria de modo que vesículas preparadas a partir del hospedador contengan GNA1870 en una forma que proporcione la presentación de epítopos de interés, preferentemente un epítopo bactericida, y proporcione una respuesta de anticuerpo anti GNA1870. En una realización, el polipéptido GNA1870 es una variante 1 (v.1) o variante 2 (v.2) o variante 3 (v.3) de polipéptido GNA1870, siendo de interés las subvariantes de v.1, v. 2 y v.3, incluyendo subvariantes de v.1 (véase, por ejemplo, Welsch *et al*. J Immunol 2004 172: 5606-5615). En una realización, el polipéptido GNA1870 comprende una secuencia de aminoácidos de un polipéptido GNA1870 que es más prevalente entre las cepas endémicas de la población para vacunar.

Los polipéptidos GNA1870 útiles en la invención también incluyen proteínas de fusión, en las que la proteína de fusión comprende un polipéptido GNA1870 que tiene un compañero de fusión en su extremo N terminal o C terminal. Los compañeros de fusión de interés incluyen, por ejemplo, glutatión S transferasa (GST), proteína de unión a maltosa (MBP), marcador de His y similares, así como péptidos líderes de otras proteínas, particularmente lipoproteínas (por ejemplo, la secuencia de aminoácidos antes de la cisteína N terminal puede reemplazarse con otro péptido líder de interés).

Otros ácidos nucleicos codificantes de polipéptido GNA1870 pueden identificarse usando técnicas bien conocidas en este campo, en las que pueden identificarse polipéptidos GNA1870 basándose en la similitud de secuencias de aminoácidos con un polipéptido GNA1870 conocido. Dichos polipéptidos GNA1870 generalmente comparten al menos aproximadamente 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o más identidad de secuencia en el nivel de nucleótidos o aminoácidos. La identidad de secuencia puede determinarse usando métodos para alineamiento y comparación de secuencias de ácido nucleico o aminoácidos, siendo dichos métodos bien conocidos en la técnica. La comparación de secuencias más largas puede requerir métodos más sofisticados para conseguir alineamiento óptimo de dos secuencias. El alineamiento óptimo de secuencias para alinear una ventana de comparación puede realizarse por el algoritmo de homología local de Smith y Waterman (1981) Adv. Appl. Math. 2: 482, mediante el algoritmo de alineamiento de homología de Needleman y Wunsch (1970) J. Mol. Biol. 48: 443,

mediante el método de búsqueda de similitud de Pearson y Lipman (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 85: 2444, mediante implementaciones computarizadas de estos algoritmos (GAP, BESTFIT, FASTA y TFASTA en el Paquete de Software de Wisconsin Genetics Versión 7.0, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI), o mediante inspección, y se selecciona el mejor alineamiento (es decir que da como resultado el mayor porcentaje de similitud de secuencia sobre la ventana de comparación) generado por los diversos métodos.

Los términos "idéntico" o porcentaje de "identidad" en el contexto de dos o más ácidos nucleicos o secuencias polipeptídicas, se refieren a dos o más secuencias o subsecuencias que son iguales o tienen un porcentaje especificado de restos de aminoácidos o nucleótidos que son iguales, en comparación y cuando se alinean para máxima correspondencia, como se mide usando uno de los siguientes algoritmos de comparación de secuencias o mediante inspección visual. Los polipéptidos de interés incluyen los que tienen al menos 60 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o más de identidad de restos de nucleótidos o aminoácidos, en comparación con y cuando se alinean para máxima correspondencia, como se mide usando uno de los siguientes algoritmos de comparación de secuencias o mediante inspección visual. Preferentemente, la región que comparte identidad de secuencia existe sobre una región de las secuencias que es de al menos aproximadamente 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 o 100 restos contiguos de longitud. En una realización más preferida, la identidad de las secuencias se determina por comparación de las secuencias sobre la longitud de la región codificante de un polipéptido de referencia.

Para comparación de secuencias, normalmente una secuencia actúa como una secuencia de referencia (por ejemplo, una secuencia polipeptídica de GNA1870 de origen natural), con la que se comparan secuencias de ensayo. Cuando se usa un algoritmo de comparación de secuencias, se introducen secuencias de ensayo y de referencia en un ordenador, se designan las coordenadas de subsecuencia, si es necesario, y se designan los parámetros de programas de algoritmos de secuencia. El algoritmo de comparación de secuencias calcula después el porcentaje de identidad de secuencia para la secuencia o las secuencias de ensayo en relación con la secuencia de referencia, basándose en los parámetros del programa designados.

Puede realizarse alineamiento óptimo de secuencias para comparación, por ejemplo, mediante el algoritmo de homología local de Smith y Waterman, Adv. Appl. Math. 2: 482 (1981), mediante el algoritmo de alineamiento de homología de Needleman y Wunsch, J. Mol. Biol. 48: 443 (1970), mediante el método de búsqueda de similitud de Pearson y Lipman, Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 85: 2444 (1988), mediante implementaciones computarizadas de estos algoritmos (GAP, BESTFIT, FASTA y TFASTA en el Paquete de Software de Wisconsin Genetics, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI), o mediante inspección visual (véase en general, Current Protocols in Molecular Biology, FM Ausubel *et al*., Eds., Current Protocols, una empresa conjunta entre Greene Publishing Associates, Inc. y John Wiley & Sons, Inc. (Suplemento de 1995) (Ausubel)).

Son ejemplos de algoritmos que son adecuados para determinar el porcentaje de identidad de secuencia y similitud de secuencia los algoritmos BLAST y BLAST 2.0, que se describen en Altschul *et al*. (1990) J. Mol. Biol. 215: 403-410 y Altschuel *et al*. (1977) Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402, respectivamente. El software para realizar análisis de BLAST está públicamente disponible a través del Centro Nacional para la Información Biotecnológica (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/). Este algoritmo implica identificar en primer lugar pares de secuencias de alta puntuación (HSP) identificando palabras cortas de longitud W en la secuencia de consulta, que coinciden o satisfacen algún valor umbral de valor positivo T cuando se alinean con una palabra de la misma longitud en una secuencia de base de datos. T se denomina el umbral de puntuación de palabra adyacente (Altschul *et al*, mencionado anteriormente).

Estos aciertos de palabras adyacentes iniciales actúan como semillas para iniciar búsquedas para encontrar HSP más largos que los contengan. Los aciertos de palabras se extienden después en ambas direcciones a lo largo de cada secuencia tanto como pueda aumentarse la puntuación de alineamiento acumulativa. Las puntuaciones acumulativas se calculan usando, para secuencias de nucleótidos, los parámetros M (puntuación de recompensa para un par de restos coincidentes; siempre > 0) y N (puntuación de penalización para restos desapareados; siempre < 0). Para secuencias de aminoácidos, se usa una matriz de puntuación para calcular la puntuación acumulativa. La extensión de los aciertos de palabra en cada dirección se detienen cuando: la puntuación de alineamiento acumulativa desciende la cantidad X desde su valor máximo conseguido; la puntuación acumulativa llega a cero o menos, debido a la acumulación de uno o más alineamientos de restos de puntuación negativa; o se alcanza el final de una de las secuencias. Los parámetros del algoritmo de BLAST W, T y X determinan la sensibilidad y velocidad del alineamiento. El programa BLASTN (para secuencias de nucleótidos) usa por defecto una longitud de palabra (W) de 11, una expectativa (E) de 10, M = 5, N = -4, y una comparación de ambas cadenas. Para secuencias de aminoácidos, el programa BLASTP usa por defecto una longitud de palabra (W) de 3, una expectativa (E) de 10 y la matriz de puntuación BLOSUM62 (véase Henikoff y Henikoff, Proc. Nat. Ac. Sci. USA 89: 10915 (1989)).

Además de calcular el porcentaje de identidad de secuencia, el algoritmo BLAST también realiza un análisis estadístico de la similitud entre dos secuencias (véase, por ejemplo, Karlin y Altschul, Proc. Nat. Ac. Sci. USA 90: 5873-5787 (1993)). Una medida de similitud proporcionada por el algoritmo BLAST es la menor probabilidad sumada (P(N)), que proporciona un indicio de la probabilidad de que se produzca al azar una coincidencia entre dos secuencias de nucleótidos o aminoácidos. Por ejemplo, un ácido nucleico se considera similar a una secuencia de

referencia si la menor probabilidad sumada en una comparación del ácido nucleico de ensayo con el ácido nucleico de referencia es menor de aproximadamente 0,1, más preferentemente menor de aproximadamente 0,01 y más preferentemente menor de aproximadamente 0,001.

Una indicación adicional de que dos secuencias de ácido nucleico o polipéptidos comparten identidad de secuencia es que el polipéptido codificado por el primer ácido nucleico tiene reacción cruzada inmunológica con el polipéptido codificado por el segundo ácido nucleico, como se describe posteriormente. Por lo tanto, un polipéptido normalmente comparte identidad de secuencia con un segundo polipéptido, por ejemplo, cuando los dos polipéptidos difieren solamente en sustituciones conservativas. Otra indicación de que dos secuencias de ácido nucleico comparten identidad de secuencia es que las dos moléculas hibridan entre sí en condiciones rigurosas. La selección de un conjunto particular de condiciones de hibridación se selecciona siguiendo métodos convencionales en la técnica (véase, por ejemplo, Sambrook *et al*., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Segunda Edición, (1989) Cold Spring Harbor, N. Y.). Un ejemplo de condiciones de hibridación rigurosas es hibridación a 50 ºC o mayor y SSC 0,1 x (cloruro sódico 15 mM/citrato sódico 1,5 mM). Otro ejemplo de condiciones de hibridación rigurosas es incubación durante una noche a 42 ºC en una solución: formamida 50 %, SSC 5 x (NaCl 150 mM, citrato trisódico 15 mM), fosfato sódico 50 mM (pH 7,6), solución de Denhardt 5 x, sulfato de dextrano 10 % y ADN de esperma de salmón cortado, desnaturalizado 20 mg/ml, seguido de lavado de los filtros en SSC 0,1 x a aproximadamente 65 ºC. Las condiciones de hibridación rigurosas son condiciones de hibridación que son al menos tan rigurosas como las condiciones representativas anteriores, cuando se considera que las condiciones son al menos tan rigurosas si son al menos aproximadamente 80 % tan rigurosas, normalmente al menos aproximadamente 90 % tan rigurosas como las condiciones rigurosas específicas anteriores. Otras condiciones de hibridación rigurosas se conocen en la técnica y pueden emplearse también para identificar ácidos nucleicos de esta realización particular de la invención.

Preferentemente, las posiciones de restos que no son idénticas difieren en sustituciones de aminoácidos conservativas. Las sustituciones de aminoácidos conservativas se refieren a la capacidad de intercambio de restos que tienen cadenas laterales similares. Por ejemplo, un grupo de aminoácidos que tienen cadenas laterales alifáticas es glicina, alanina, valina, leucina e isoleucina; un grupo de aminoácidos que tienen cadenas laterales de hidroxilo alifático es serina y treonina; un grupo de aminoácidos que tienen cadenas laterales que contienen amida es asparagina y glutamina; un grupo de aminoácidos que tienen cadenas laterales aromáticas es fenilalanina, tirosina y triptófano; un grupo de aminoácidos que tienen cadenas laterales básicas es lisina, arginina e histidina; y un grupo de aminoácidos que tienen cadenas laterales que contienen azufre es cisteína y metionina. Son grupos de sustitución de aminoácidos conservativa preferidos: valina-leucina-isoleucina, fenilalanina-tirosina, lisina-arginina, alanina-valina y asparagina-glutamina.

Vector y métodos para introducir material genético en células hospedadoras de Neisseria

Se conocen en la técnica métodos y composiciones que pueden adaptarse fácilmente para proporcionar modificación genética de una célula hospedadora de *Neisseria* para expresar un polipéptido GNA1870 exógeno. Se proporcionan vectores y métodos a modo de ejemplo en el documento WO 02/09746 y O'Dwyer *et al*. Infect Immun 2004; 72: 6511-80.

Los métodos para transferencia de material genético a un hospedador de *Neisseria* incluyen, por ejemplo, conjugación, transformación, electroporación, métodos de fosfato cálcico y similares. El método para transferencia debería proporcionar expresión estable del ácido nucleico que codifica GNA1870 introducido. El ácido nucleico que codifica GNA1870 puede proporcionarse como un elemento episómico heredable (por ejemplo, plásmido) o puede integrarse de forma genómica.

Los vectores adecuados variarán en su composición dependiendo de qué tipo de acontecimiento de recombinación vaya a realizarse. Los vectores que se integran pueden ser plásmidos condicionalmente replicativos o de suicidio, bacteriófagos, transposones o fragmentos de ADN lineal obtenidos mediante hidrólisis de restricción o amplificación por PCR. La selección del acontecimiento de recombinación puede conseguirse por medio de marcador genético seleccionable tal como genes que confieren resistencia a antibióticos (por ejemplo kanamicina, eritromicina, cloranfenicol o gentamicina), genes que confieren resistencia a metales pesados y/o compuestos tóxicos o genes que complementan las mutaciones auxotróficas (por ejemplo pur, leu, met, aro).

En una realización, el vector es un vector de expresión basado en plásmidos episómicos que contienen marcadores de resistencia a fármacos seleccionables que se replican de forma autónoma tanto en *E. coli* como en *N. meningitidis*. Un ejemplo de dicho "vector lanzadera" es el plásmido pFP10 (Pagotto *et al*. Gene 2000 244: 13-19).

Preparación de vesículas de *Neisseria meningitidis*

Las composiciones antigénicas para uso en la invención generalmente incluyen vesículas preparadas a partir de células de *Neisseria* que expresan un nivel aceptable de GNA1870, bien de forma natural o debido a una modificación genética (por ejemplo, debido a la expresión de un GNA1870 recombinante). Como se indica en el presente documento se entiende que "vesículas" abarca vesículas de membrana externa así como microvesículas (que también se denominan ampollas).

En una realización, la composición antigénica comprende vesículas de membrana externa (OMV) preparadas a partir de la membrana externa de una cepa cultivada de *Neisseria meningitidis* spp. Pueden obtenerse OMV de una *Neisseria meningitidis* cultivada en cultivo de medio sólido o caldo de cultivo, preferentemente separando las células bacterianas del medio de cultivo (por ejemplo por filtración o por una centrifugación a baja velocidad que sedimenta las células, o similares), lisar las células (por ejemplo mediante adición de detergente, choque osmótico, sonicación, cavitación, homogeneización o similares) y separando una fracción de membrana externa de moléculas citoplasmáticas (por ejemplo por filtración; o por precipitación o agregación diferencial de membranas externas y/o vesículas de membrana externa, o mediante métodos de separación por afinidad usando ligandos que reconocen específicamente moléculas de membrana externa; o por una centrifugación a alta velocidad que sedimenta membranas externas y/o vesículas de membrana externa, o similares); pueden usarse fracciones de membrana externa para producir OMV.

En otra realización, la composición antigénica comprende microvesículas (MV) o ampollas que se liberan durante el cultivo de dicha *Neisseria meningitidis* spp. Pueden obtenerse MV cultivando una cepa de *Neisseria meningitidis* en medio de caldo de cultivo, separando células completas del medio de caldo de cultivo (por ejemplo mediante filtración, o por una centrifugación de velocidad baja que sedimenta solamente las células y no las ampollas más pequeñas, o similares), y después recogiendo las MV que están presentes en el medio de cultivo sin células (por ejemplo mediante filtración, precipitación diferencial o agregación de MV, o mediante una centrifugación de alta velocidad que sedimenta las ampollas, o similares). Las cepas para uso en producción de MV pueden en general seleccionarse basándose en la cantidad de ampollas producidas en cultivo (por ejemplo, pueden cultivarse bacterias en un número razonable para proporcionar producción de ampollas adecuado para aislamiento y administración en los métodos descritos en el presente documento). Una cepa a modo de ejemplo que produce altos niveles de ampollas se describe en la publicación de PCT n.º WO 01/34642. Además de la producción de ampollas, también pueden seleccionarse cepas para su uso en la producción de MV basándose en la producción de NspA, en la que pueden ser preferibles cepas que producen niveles mayores de NspA (por ejemplo de cepas de *N. meningitidis* que tienen diferentes niveles de producción de NspA, véase, por ejemplo, Moe *et al.* (1999 Infect. Immun. 67: 5664).

En otra realización, la composición antigénica comprende vesículas de una cepa, o de 2, 3, 4, 5 o más cepas, pudiendo dichas cepas ser homólogas o heterólogas, habitualmente heterólogas, entre sí con respecto a uno o ambos de GNA1870 o PorA. En una realización, las vesículas se preparan a partir de una cepa que expresa 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 o más proteínas GNA1870, que pueden ser variantes diferentes (v.1, v.2, v.3) o subvariantes (por ejemplo, una subvariante de v.1, v.2 o v.3). En otra realización, las composiciones antigénicas comprenden una mezcla de OMV y MV, que pueden ser de la misma cepa o de cepas diferentes. En dichas realizaciones, las vesículas de diferentes cepas pueden administrarse como una mezcla. Además, las OMV y MV de la misma cepa o de cepas diferentes pueden administrarse como una mezcla. Además de vesículas (OMV y/o MV), pueden incluirse antígenos aislados o combinaciones particulares de antígenos en las composiciones antigénicas de la invención.

Reducción de la toxicidad lipídica

Cuando se desee (por ejemplo, cuando las cepas usadas para producir vesículas estén asociadas con endotoxina o niveles altos particulares de endotoxina), las vesículas se tratan opcionalmente para reducir la endotoxina, por ejemplo, para reducir la toxicidad después de la administración. Aunque menos deseable como se analiza posteriormente, puede conseguirse reducción de endotoxina mediante extracción con un detergente adecuado (por ejemplo, BRIJ-96, desoxicolato sódico, lauroilsarcosinato sódico, Empigen BB, Tritón X-100, TWEEN 20 (polioxietileno de sorbitán monolaurato), TWEEN 80, a una concentración de 0,1-10 %, preferentemente 0,5-2 % y SDS). Cuando se use extracción en detergente, es preferible usar un detergente distinto de desoxicolato. En algunas realizaciones, se producen vesículas sin uso de detergente, por ejemplo, sin uso de desoxicolato u otro detergente.

En realizaciones de interés particular, las vesículas de las composiciones antigénicas se preparan sin detergente. Aunque el tratamiento con detergente es útil para retirar actividad de endotoxina, puede agotar la lipoproteína GNA1870 nativa por extracción durante la producción de vesícula. Por lo tanto puede ser particularmente deseable reducir la actividad de endotoxina usando tecnología que no requiere un detergente. En un enfoque, se usan cepas que son productores relativamente bajos de endotoxina (lipopolisacárido, LPS) para evitar la necesidad de retirar endotoxina de la preparación final antes de su uso en seres humanos. Por ejemplo, las vesículas pueden prepararse a partir de mutantes de *Neisseria* en los que se reduce o elimina el lipooligosacárido u otros antígenos que pueden ser indeseables en una vacuna (por ejemplo Rmp).

Por ejemplo, pueden prepararse vesículas de cepas de *N. meningitidis* que contienen modificaciones genéticas que dan como resultado actividad tóxica reducida o no detectable de lípido A. Por ejemplo, dicha cepa puede modificarse genéticamente en biosíntesis de lípido A (Steeghs *et al*. Infect Immun 1999, 67: 4988-93, van der Ley *et al.* Infect Immun 2001, 69: 5981-90, Steeghs *et al*. J Endotoxin Res 2004; 10: 113-9). Las mutaciones en genes responsables de las etapas de modificación terminal conducen a fenotipos sensibles a temperatura (htrB) o permisivos frente a temperatura (msbB). Las mutaciones que dan como resultado una expresión reducida (o ninguna) de estos genes (o actividad reducida o ninguna del producto de estos genes) dan como resultado actividad tóxica alterada de lípido A. El lípido A no lauroilado (mutante htrB) o no miristoilado (mutante msbB) es menos tóxico que el lípido A de tipo

silvestre. Las mutaciones en el gen que codifica lípido A 4'-quinasa (lpxK) también reducen la actividad tóxica del lípido A.

La actividad tóxica de LPS también puede alterarse introduciendo mutaciones en genes/loci implicados en resistencia a polimixina B (dicha resistencia se ha correlacionado con la adición de aminoarabinosa en el fosfato 4' del lípido A). Estos genes/loci podrían ser pmrE que codifica una UDP-glucosa deshidrogenasa, o una región de genes de resistencia a péptidos antimicrobianos comunes para muchas enterobacteriaceae que podrían estar implicadas en la síntesis y transferencia de aminoarabinosa. El gen pmrF que está presente en esta región codifica una dolicolfosfato manosil transferasa (Gunn J. S, Kheng, B. L, J. Krueger, Kim K., Guo L., Hackett M., Miller S. I 1998. Mol. Microbiol. 27: 1171-1182).

Mutaciones en el sistema regulador de PhoP-PhoQ, que es un sistema regulador de dos componentes de transmisión de fósforo (por ejemplo, fenotipo constitutivo de PhoP, PhoPc), o condiciones ambientales o de cultivo de Mg^{++} bajo (que activan el sistema regulador de PhoP-PhoQ) conducen a la adición de aminoarabinosa en el fosfato 4' y 2-hidroximiristato que reemplaza miristato (hidroxilación de miristato). Este lípido A modificado presenta capacidad reducida para estimular la expresión de selectina E por células endoteliales humanas y secreción de TNF-α de monocitos humanos.

Las cepas resistentes a polimixina B también son adecuadas para su uso en la invención, ya que se ha mostrado que dichas cepas tienen toxicidad de LPS reducida (véase, por ejemplo, van der Ley *et al*., 1994. En: Proceedings of the ninth international pathogenic *Neisseria* conference. The Guildhall, Winchester, Inglaterra). Como alternativa, pueden añadirse péptidos sintéticos que imitan la actividad de unión de polimixina B a las composiciones antigénicas para reducir la actividad tóxica de LPS (véase, por ejemplo, Rustici *et al*. 1993, Science 259: 361-365, Porro *et al*. Prog Clin Biol Res 1998, 397: 315-25).

La endotoxina también puede reducirse mediante selección de las condiciones de cultivo. Por ejemplo, el cultivo de la cepa en un medio de cultivo que contiene de 0,1 mg a 100 mg de aminoarabinosa por litro de medio proporciona toxicidad lipídica reducida (véase, por ejemplo, documento WO 02/097646).

Formulaciones

Las composiciones inmunogénicas usadas como vacunas comprenden una cantidad inmunológicamente eficaz de antígeno, particularmente una cantidad inmunológicamente eficaz de GNA1870, así como cualquier otro componente compatible, según sea necesario. Por "cantidad inmunológicamente eficaz" se entiende que la administración de esta cantidad a un individuo, bien en una dosis individual o bien como una parte de una serie, es eficaz para inducir tratamiento o prevención. Esta cantidad varía dependiendo de la salud y condición física del individuo para tratar, la edad, el grupo taxonómico del individuo para tratar (por ejemplo, primate no humano, primate, ser humano, etc.), la capacidad del sistema inmunitario del individuo para sintetizar anticuerpos, el grado de protección deseado, la formulación de la vacuna, la evaluación del especialista clínico tratante de la situación médica, y otros factores relevantes. Se espera que la cantidad quede en un intervalo relativamente amplio que puede determinarse mediante ensayos rutinarios.

El régimen de dosificación puede ser un programa de dosis individual o un programa de dosis múltiple (por ejemplo, incluyendo dosis de refuerzo) con una forma de dosificación unitaria de la composición antigénica administrada en diferentes momentos. La expresión "forma de dosificación unitaria", como se usa en el presente documento, se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para sujetos humanos y animales, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de las composiciones antigénicas de la presente invención en una cantidad suficiente para producir el efecto deseado, proporcionándose dichas composiciones en asociación con un excipiente farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, diluyente, transportador o vehículo farmacéuticamente aceptable). La vacuna puede administrarse junto con otros agentes inmunorreguladores.

Las composiciones antigénicas para administrar se proporcionan en un diluyente farmacéuticamente aceptable tal como una solución acuosa, con frecuencia una solución salina, una forma semisólida (por ejemplo, gel), o en forma de polvo. Dichos diluyentes pueden ser inertes, aunque las composiciones de la invención también pueden incluir un adyuvante. Los ejemplos de adyuvantes adecuados conocidos que pueden usarse en seres humanos incluyen, pero sin limitarse necesariamente a, alumbre, fosfato de aluminio, hidróxido de aluminio, MF59 (escualeno 4,3 % p/v, Tween 80 0,5 % p/v, Span 85 0,5 % p/v), ácido nucleico que contiene CpG (en el que la citosina está desmetilada), QS21, MPL, 3DMPL, extractos de Aquilla, ISCOM, mutantes de LT/CT, micropartículas de poli(D,L-lactida-co-glicólido) (PLG), Quil A, interleuquinas y similares. Para animales experimentales, se puede usar adyuvante de Freund, N-acetil-muramil-L-treonil-D-isoglutamina (thr-MDP), N-acetil-nor-muramil-L-alanil-D-isoglutamina (CGP 11637, denominada Nor-MDP), N-acetilmuramil-L-alanil-D-isoglutaminil-L-alanina-2-(1'-2'-dipalmitoil-sn-glicero-3-hidroxifosforiloxi)-etilamina (CGP 19835A, denominada MTP-PE) y RIBI, que contiene tres componentes extraídos de bacterias, monofosforil lípido A, trehalosa dimicolato y esqueleto de pared celular (MPL+TDM+CWS) en una emulsión de escualeno 2 %/Tween 80. La eficacia de un adyuvante puede determinarse midiendo la cantidad de anticuerpos dirigidos contra el antígeno inmunogénico.

Adyuvantes a modo de ejemplo adicionales para potenciar la eficacia de la composición incluyen, pero sin limitación: (1) formulaciones de emulsión de aceite en agua (con o sin otros agentes inmunoestimulantes específicos tales como péptidos de muramilo (véase posteriormente) o componentes de pared celular bacteriana), tales como por ejemplo (a) MF59™ (documento WO90/14837; Capítulo 10 en Vaccine design: the subunit and adjuvant approach, eds. Powell y Newman, Plenum Press 1995), que contiene Escualeno 5 %, Tween 80 0,5 % y Span 85 0,5 % (que contiene opcionalmente MTP-PE) formulado en partículas submicrométricas usando un microfluidificador, (b) SAF, que contiene Escualano 10 %, Tween 80 0,4 %, polímero L121 bloqueado con pluronic 5 % y thr-MDP bien microfluidificado en una emulsión submicrométrica o bien agitado vorticialmente para generar una emulsión de mayor tamaño de partículas y (c) sistema de adyuvante RIBI™ (RAS), (Ribi Immunochem, Hamilton, MT) que contiene Escualeno 2 %, Tween 80 0,2 % y uno o más componentes de la pared celular bacteriana tales como monofosforil lípido A (MPL), trehalosa dimicolato (TDM) y esqueleto de pared celular (CWS), preferentemente MPL+CWS (DETOX™); (2) pueden usarse adyuvantes de saponina, tales como QS21 o STIMULON™ (Cambridge Bioscience, Worcester, MA) o partículas generadas a partir de los mismos tales como ISCOM (complejos inmunoestimulantes), pudiendo dichos ISCOM estar desprovistos de detergente adicional, por ejemplo documento WO00/07621; (3) Adyuvante Completo de Freund (CFA) y Adyuvante Incompleto de Freund (IFA); (4) citocinas, tales como interleucinas (por ejemplo IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-12 (documento WO99/44636), etc.), interferones (por ejemplo interferón gamma), factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF), factor de necrosis tumoral (TNF), etc.; (5) monofosforil lípido A (MPL) o MPL 3-O-desacilado (3dMPL) por ejemplo documentos GB-2220221, EP-A-0689454, opcionalmente en ausencia sustancial de alumbre cuando se usa con sacáridos neumocócicos por ejemplo documento WO00/56358; (6) combinaciones de 3dMPL con, por ejemplo, QS21 y/o emulsiones de aceite en agua por ejemplo documentos EP-A-0835318, EP-A-0735898, EP-A-0761231; (7) oligonucleótidos que comprenden motivos de CpG [Krieg Vaccine 2000, 19, 618 - 622; Krieg Curr opin Mol Ther 2001 3: 15-24; Roman *et al*. Nat. Med., 1997, 3, 849-854; Weiner *et al*. PNAS USA, 1997, 94, 10833-10883; Davis *et al*, J. Immunol, 1998, 160, 870-876; Chu *et al*., J. Exp. Med., 1997, 186, 1623-631; Lipford *et al*, Ear. J. Immunol., 1997, 27, 2340-2334; Moldoveami *et al*., Vaccine, 1988, 16, 1216-1224, Krieg *et al*., Nature, 1995, 374, 546-549; Klinman *et al*., PNAS USA, 1996, 93, 2879-2888; Ballas *et al*, J. Immunol, 1996, 157, 1840-1845; Cowdery *et al*, J. Immunol, 1996, 156, 4570-4575; Halpern *et al*, Cell Immunol, 1996, 167, 72-78; Yamamoto *et al*., Jpn. J. Cancer Res., 1988, 79, 866-873; Stacey *et al*, J. Immunol., 1996, 157, 2116-2122; Messina *et al*, J. Immunol, 1991, 147, 1759-1764; Yi *et al*, J. Immunol, 1996, 157, 4918-4925; Yi *et al*, J. Immunol, 1996, 157, 5394-5402; Yi *et al*, J. Immunol, 1998, 160, 4755-4761; y Yi *et al*, J. Immunol, 1998, 160, 5898-5906; solicitudes de patente Internacional WO96/02555, WO98/16247, WO98/18810, WO98/40100, WO98/55495, WO98/37919 y WO98/52581] es decir que contienen al menos un dinucleótido CG, en el que la citosina está desmetilada; (8) un polioxietilen éter o un polioxietilen éster, por ejemplo documento WO99/52549; (9) un tensioactivo de polioxietilen sorbitán éster en combinación con un octoxinol (documento WO01/21207) o un tensioactivo de polioxietilen alquil éter o éster en combinación con al menos un tensioactivo no iónico adicional tal como un octoxinol (documento WO01/21152); (10) una saponina y un oligonucleótido inmunoestimulante (por ejemplo un oligonucleótido CpG) (documento WO00/62800); (11) un inmunoestimulante y una partícula de sal metálica por ejemplo documento WO00/23105; (12) una saponina y una emulsión de aceite en agua por ejemplo documento WO99/11241; (13) una saponina (por ejemplo QS21) + 3dMPL + IM2 (opcionalmente + un esterol) por ejemplo documento WO98/57659; (14) otras sustancias que actúan como agentes inmunoestimulantes para potenciar la eficacia de la composición. Los péptidos de muramilo incluyen N-acetil-muramil-L-treonil-D-isoglutamina (thr-MDP), N-25 acetil-normuramil-L-alanil-D-isoglutamina (nor-MDP), N-acetilmuramil-L-alanil-D-isoglutaminil-L-alanina-2-(1'-2'-dipalmitoil-sn-glicero-3-hidroxifosforiloxi)-etilamina MTP-PE), etc.

Las composiciones antigénicas pueden combinarse con un excipiente farmacéuticamente aceptable convencional, tal como usos farmacéuticos de manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, sacarina sódica, talco, celulosa, glucosa, sacarosa, magnesio, carbonato y similares. Las composiciones pueden contener sustancias adyuvantes farmacéuticamente aceptables según se requiera para aproximarse a las condiciones fisiológicas tales como agentes de ajuste y tamponantes de pH, agentes de ajuste de toxicidad y similares, por ejemplo, acetato sódico, cloruro sódico, cloruro potásico, cloruro cálcico, lactato sódico y similares. La concentración de antígeno en estas formulaciones puede variar ampliamente, y se seleccionará principalmente basándose en volúmenes de fluido, viscosidades; peso corporal y similares de acuerdo con el modo particular de administración seleccionado y las necesidades del paciente. Las composiciones resultantes pueden estar en forma de una solución, suspensión, comprimido, píldora, cápsula, polvo, gel, crema, loción, pomada, aerosol o similares.

La concentración de proteína de composiciones antigénicas de la invención en las formulaciones farmacéuticas puede variar ampliamente, es decir, de menos de aproximadamente 0,1 %, habitualmente a o al menos aproximadamente a 2 % hasta tanto como 20 % a 50 % o más en peso, y se seleccionará principalmente por volúmenes de fluido, viscosidades, etc., de acuerdo con el modo particular de administración seleccionado.

Inmunización

En general, las composiciones de la invención son para su uso en un método para inducir en un sujeto mamífero, anticuerpos anti polipéptido GNA1870 bactericidas contra 3, 4 o más cepas de especie de *Neisseria meningitidis*, en el que las cepas tienen PorAs heterólogas. También es de interés particular la inducción de una respuesta inmunitaria protectora contra cepas que son heterólogas entre sí con respecto a PorA y/o GNA1870.

Las composiciones antigénicas de la invención pueden administrarse por vía oral, por vía nasal, por vía nasofaríngea, por vía parenteral, por vía entérica, por vía gástrica, por vía tópica, por vía transdérmica, por vía subcutánea, por vía intramuscular, en comprimido, sólido, en polvo, líquido, en forma de aerosol, por vía local o sistémica, con o sin excipientes añadidos. Serán evidentes o conocidos para los expertos en la materia métodos reales para preparar composiciones administrables por vía parenteral y se describen en más detalle en publicaciones tales como Remington's Pharmaceutical Science, 15ª edición, Mack Publishing Company, Easton, Pensilvania (1980).

Se reconoce que la administración oral puede requerir protección de las composiciones de la digestión. Esto se consigue normalmente por asociación de la composición con un agente que lo hace resistente a hidrólisis ácida y enzimática o empaquetando la composición en un vehículo apropiadamente resistente. Se conocen bien en la técnica métodos para proteger de la digestión.

Las composiciones se administran a un animal que está en riesgo de adquirir una enfermedad de *Neisseria* para prevenir o al menos detener parcialmente el desarrollo de una enfermedad y sus complicaciones. Una cantidad adecuada para conseguir esto se define como “dosis terapéuticamente eficaz”. Las cantidades eficaces para uso terapéutico dependerán, por ejemplo, de la composición antigénica, el modo de administración, el peso y estado general de salud del paciente, y el criterio del médico que la receta. Pueden administrarse dosis individuales o múltiples de las composiciones antigénicas dependiendo de la dosificación y frecuencia requerida y tolerada por el paciente, y la vía de administración.

Las composiciones antigénicas descritas en el presente documento pueden comprender una mezcla de vesículas (por ejemplo, OMV y MV), pudiendo dichas vesículas ser de la misma cepa o de cepas diferentes. En otra realización, las composiciones antigénicas pueden comprender una mezcla de vesículas de 2, 3, 4, 5 o más cepas, en las que las vesículas pueden ser OMV, MV o ambas.

Las composiciones antigénicas se administran en una cantidad eficaz para inducir una respuesta inmunitaria, particularmente una respuesta inmunitaria humoral, en el hospedador. Las cantidades para la inmunización de la mezcla generalmente varían de aproximadamente 0,001 mg a aproximadamente 1,0 mg por cada 70 kilogramos de paciente, más habitualmente de aproximadamente 0,001 mg a aproximadamente 0,2 mg por cada 70 kg de paciente. Pueden usarse dosificaciones de 0,001 hasta aproximadamente 10 mg por paciente por día, particularmente cuando el antígeno se administra en un sitio aislado y no en el torrente sanguíneo, tal como en una cavidad corporal o en la luz de un órgano. Son posibles dosificaciones sustancialmente mayores (por ejemplo de 10 a 100 mg o más) en administración oral, nasal o tópica. La administración inicial de la mezcla puede seguirse de inmunización de refuerzo de la misma mezcla o una mezcla diferente, prefiriéndose al menos un refuerzo, más habitualmente dos refuerzos.

En una realización, las composiciones antigénicas usadas para sensibilizar y reforzar se preparan a partir de cepas de *Neisseria* que poseen antígenos inmunodominantes variantes (los antígenos principales que se detectan rutinariamente por antisueros de diferentes animales hospedadores que se han infectado con *Neisseria*; los ejemplos representativos incluyen Porina A, Porina B, pilina, NspA, fosfolípidos, polisacáridos, lipopolisacáridos, pilinas, OmpA, Opa, Opc, etc.) y/o proteínas GNA1870 variantes. Las cepas también pueden variar con respecto a la molécula capsular, como se refleja por su serogrupo.

La clasificación de serotipo y serosubtipo se determina actualmente detectando cuál de un panel de monoclonales conocidos, que se sabe que reconocen moléculas Porinas específicas, se une con una cepa desconocida (Sacchi *et al*., 1998, Clin. Diag. Lab. Immunol., 5: 348). Es probable que se identifiquen otros monoclonales tales. El uso de cualquier serotipo y serosubtipo nuevo que puede definirse con cualquier nuevo monoclonal se contempla específicamente por la invención. Además, pueden definirse serotipos y serosubtipos, no solamente por interacción con anticuerpos monoclonales, sino también estructuralmente por la ausencia y/o presencia de restos peptídicos definidos y epítopos peptídicos (Sacchi *et al*., 2000, J. Infect. Dis. 182: 1169). La invención abarca específicamente esquemas de clasificación de serotipo y serosubtipo que se basan en características estructurales de las Porinas (conocidas o que pueden descubrirse en una fecha posterior).

En otra realización, las composiciones antigénicas administradas se preparan a partir de 2, 3, 4, 5 o más cepas, pudiendo dichas cepas ser homólogas o heterólogas, habitualmente heterólogas, entre sí con respecto a uno o ambos de GNA1870 o PorA. En una realización, las vesículas se preparan a partir de cepas que expresan diferentes proteínas GNA1870, pudiendo dichas proteínas GNA1870 ser diferentes variantes (v.1, v.2, v.3) o subvariantes (por ejemplo, una subvariante de v.1, v.2 o v.3). En otra realización, las vesículas se preparan a partir de cepas que son heterólogas entre sí con respecto a PorA.

En las realizaciones de interés particular, se preparan vesículas a partir de cepas de *Neisseria* que son genéticamente diversas entre sí (por ejemplo, las cepas pertenecen a diferentes serotipos y/o serosubtipos; expresan diferentes proteínas PorA; expresan diferentes variantes o subvariantes de GNA1870; y/o también pueden pertenecer opcionalmente a diferentes serogrupos capsulares). Las vesículas pueden usarse para preparar una

composición antigénica que es una mezcla de vesículas preparadas a partir de al menos 2, 3, 4 o más de dichas cepas genéticamente diversas. Por ejemplo, la proteína GNA1870 y/o PorA de la segunda cepa de *Neisseria* a partir de la que se preparan composiciones antigénicas y se administran es/son diferentes de las de la primera cepa usada para producir vesículas.

La segunda, tercera y adicionales composiciones antigénicas administradas pueden prepararse opcionalmente a partir de cepas de *Neisseria* que son genéticamente diversas con respecto a la segunda cepa (por ejemplo, las cepas pertenecen a diferentes serotipos y/o serosubtipos; expresan diferentes proteínas GNA1870; expresan diferentes proteínas PorA; y/o pertenecen a diferentes serogrupos capsulares). Por ejemplo, una tercera cepa usada para preparar una tercera composición antigénica puede ser genéticamente diversa con respecto a las primera y segunda cepas usadas para preparar las primera y segunda composiciones antigénicas, pero pueden, en algunas realizaciones, no ser genéticamente diversas con respecto a la primera cepa.

La invención también contempla que las composiciones antigénicas pueden obtenerse de una o más cepas de *Neisseria*, en particular *Neisseria meningitidis*, que están modificadas por ingeniería genética por métodos conocidos (véase, por ejemplo, Patente de Estados Unidos n.º 6.013.267) para expresar uno o más ácidos nucleicos que codifican GNA1870. La célula hospedadora puede expresar un polipéptido GNA1870 endógeno o puede modificarse o seleccionarse para no expresar ningún polipéptido GNA1870 endógeno detectable. El polipéptido GNA1870 expresado en la célula hospedadora por técnicas recombinantes (es decir, el polipéptido GNA1870 exógeno) puede ser de tipo de variante igual o diferente que un polipéptido GNA1870 endógeno.

Las células hospedadoras pueden modificarse adicionalmente para expresar antígenos de interés adicionales, tales como Porina A, Porina B, NspA, pilina u otras proteínas de *Neisseria*. Además, las composiciones antigénicas de la invención pueden comprender antígenos de *Neisseria* adicionales tales como los ejemplificados en las Publicaciones de PCT n.º WO 99/24578, WO 99/36544; WO 99/57280, WO 00/22430 y WO 00/66791, así como fragmentos antigénicos de dichas proteínas.

Las composiciones antigénicas se administran normalmente a un mamífero que no ha tenido exposición inmunológica previa con respecto a *Neisseria*, particularmente con respecto a *Neisseria meningitidis*. En una realización particular, el mamífero es un niño humano de aproximadamente cinco años o menos, y preferentemente de aproximadamente dos años o menos, y las composiciones antigénicas se administran en uno cualquiera o más de los siguientes tiempos: dos semanas, un mes, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 u 11 meses, o un año o 15, 18 o 21 meses después del nacimiento, o a los 2, 3, 4 o 5 años de edad.

En general, la administración a cualquier mamífero se inicia preferentemente antes del primer signo de síntomas de enfermedad, o en el primer signo de posible exposición o exposición real a *Neisseria*.

Inmunidad pasiva

La invención también contempla anticuerpos inmunoprotectores generados por inmunización con una composición antigénica de la invención, y métodos de uso. Dichos anticuerpos pueden administrarse a un individuo (por ejemplo, un paciente humano) para proporcionar inmunidad pasiva contra a una enfermedad de *Neisseria*, bien para evitar que se produzca infección o enfermedad, o bien como una terapia para mejorar el resultado clínico en pacientes con enfermedad establecida (por ejemplo tasa de complicaciones reducida tales como choque, tasa de mortalidad reducida o morbilidad reducida, tal como sordera).

Los anticuerpos administrados a un sujeto que es de una especie distinta de la especie en la que se han inducido son con frecuencia inmunogénicos. Por lo tanto, por ejemplo, los anticuerpos murinos o porcinos administrados a un ser humano con frecuencia inducen una respuesta inmunológica contra el anticuerpo. Las propiedades inmunogénicas del anticuerpo se reducen alterando las partes, o todos, del anticuerpo en secuencias característicamente humanas produciendo de este modo anticuerpos quiméricos o humanos, respectivamente.

Son anticuerpos quiméricos moléculas de inmunoglobulina que comprenden una parte humana y no humana. Más específicamente, la región de combinación de antígeno (o región variable) de un anticuerpo quimérico humanizado deriva de una fuente no humana (por ejemplo, murina) y la región constante del anticuerpo quimérico (que confiere función efectora biológica a la inmunoglobulina) deriva de una fuente humana. El anticuerpo quimérico debería tener la especificidad de unión a antígeno de molécula de anticuerpo no humana y la función efectora conferida por la molécula de anticuerpo humana. Los expertos en la materia conocen un gran número de métodos para generar anticuerpos quiméricos (véase, por ejemplo, Patentes de Estados Unidos n.º 5.502.167, 5.500.362, 5.491.088, 5.482.856, 5.472.693, 5.354.847, 5.292.867, 5.231.026, 5.204.244, 5.202.238, 5.081.235, 5.075.431 y 4.975.369). Un enfoque alternativo es la generación de anticuerpos humanizados uniendo las regiones CDR de anticuerpos no humanos a regiones constantes humanas por técnicas de ADN recombinante. Véase Queen *et al*., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86: 10029-10033 (1989) y documento WO 90/07861.

En una realización, se usa vector de ADN recombinante para transfectar una línea celular que produce un anticuerpo contra un péptido de la invención. El nuevo vector de ADN recombinante contiene un “gen de reemplazo” para

reemplazar todo o una parte del gen que codifica la región constante de inmunoglobulina en la línea celular (por ejemplo, un gen de reemplazo puede codificar toda o una parte de una región constante de una inmunoglobulina humana, o una clase de inmunoglobulina específica), y una "secuencia diana" que permite la recombinación homóloga dirigida con secuencias de inmunoglobulina dentro de la célula productora de anticuerpo.

En otra realización, se usa un vector de ADN recombinante para transfectar una línea celular que produce un anticuerpo que tiene una función efectora deseada (por ejemplo una región constante de una inmunoglobulina humana), en cuyo caso, el gen de reemplazo contenido en el vector recombinante puede codificar toda o una parte de una región de un anticuerpo y la secuencia diana contenida en el vector recombinante permite la recombinación homóloga y modificación génica dirigida dentro de la célula productora de anticuerpo. En una de las realizaciones, cuando solamente se reemplaza una parte de la región variable o constante, el anticuerpo quimérico resultante puede definir el mismo antígeno y/o tener la misma función efectora pero alterarse o mejorarse de modo que el anticuerpo quimérico pueda demostrar una especificidad de antígeno mayor, mayor constante de afinidad de unión, función efectora aumentada o secreción y producción aumentadas por la línea celular productora de anticuerpos transfectada, etc.

En otra realización, la presente invención proporciona anticuerpos completamente humanos. Los anticuerpos humanos consisten completamente en secuencias polipeptídicas característicamente humanas. Los anticuerpos humanos de la presente invención pueden producirse por una amplia diversidad de métodos (véase, por ejemplo, Larrick *et al*., Patente de Estados Unidos n.º 5.001.065). En una realización, los anticuerpos humanos de la presente invención se producen inicialmente en células de trioma (que descienden de tres células, dos humanas y una de ratón). Los genes que codifican los anticuerpos se clonan y expresan después en otras células, particularmente células de mamífero no humanas. El enfoque general para producir anticuerpos humanos por tecnología de trioma se ha descrito en Ostberg *et al*. (1983), Hybridoma 2: 361-367, Ostberg, Patente de Estados Unidos n.º 4.634.664, y Engelman *et al*., Patente de Estados Unidos n.º 4.634.666. Se ha descubierto que los triomas producen anticuerpo de forma más estable que hibridomas ordinarios preparados a partir de células humanas.

Se conocen bien en la técnica métodos para producir y formular anticuerpos adecuados para administración a un sujeto (por ejemplo, un sujeto humano). Por ejemplo, pueden proporcionarse anticuerpos en una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de un anticuerpo y un excipiente farmacéutico (por ejemplo, solución salina). La composición farmacéutica puede incluir opcionalmente otros aditivos (por ejemplo, tampones, estabilizantes, conservantes y similares). Una cantidad eficaz de anticuerpo es en general una cantidad eficaz para proporcionar protección contra enfermedad o síntomas de *Neisseria* durante un periodo deseado, por ejemplo, un periodo de al menos aproximadamente 2 días a 10 días o 1 mes a 2 meses).

Ensayos de diagnóstico

Las composiciones antigénicas de la invención, o anticuerpos producidos por administración de dichas composiciones, también pueden usarse para fines de diagnóstico. Por ejemplo, las composiciones antigénicas pueden usarse para explorar sueros preinmunitarios e inmunitarios para asegurar que la vacunación ha sido eficaz. Pueden usarse anticuerpos en inmunoensayos para detectar la presencia de moléculas antigénicas particulares asociadas con enfermedad de *Neisseria*.

Ejemplos

Se entiende que los ejemplos y las realizaciones descritos en el presente documento son solamente para fines ilustrativos.

Materiales y métodos

Los siguientes métodos y materiales se usaron en los Ejemplos posteriores.

Cepas bacterianas. Las nueve cepas de *N. meningitidis* usadas en este estudio (seis de grupo capsular B y una de grupo capsular A y dos de grupo capsular C) se enumeran en la Tabla 1. Las cepas se recogieron durante un periodo de 25 años de pacientes hospitalizados en Cuba, Países Bajos, Alemania, Nueva Zelanda o los Estados Unidos. Basándose en análisis de grupos electroforéticos y/o tipificación de secuenciación, las cepas son genéticamente diversas.

Tabla 1. Sumario de Cepas de *N. meningitidis*

Cepa	País de Origen	Clasificación Serológica	Tipo de Secuencia VR de PorA[a]	Grupo de Tipo Electroforético (ET) (Tipo de Secuencia, ST)[b]	Grupo de Variante de GNA 1870 (% de identidad de aminoácidos)[c]	Título Bactericida anti rGNA1870 en Suero[d]

Z1092	Alemania	A:4,21:P1.10	1.5-2,10	Complejo ST-1/subgrupo I/II	1 (96)	1:10
BZ198	Países Bajos	B:NST:P1.4	7-2,4	ET154	1(92)	< 1:10
CU385	Cuba	B:4,7:P1.19,15	19,15	Complejo ET5 (33)	1 (100)	1:2500
M1390	Estados Unidos	B:15:P1.7,4	ND	Linaje 3 (41)	1 (92)	<1:10
M6190	Estados Unidos	B:2a:P1.5,2	ND	Complejo ET37 (1988)	1 (94)	<1:10
NZ98/254	Nueva Zelanda	B:4:P1.4	1.7-2,4	Linaje 3 (42)	1 (92)	<1:10
RM1090	Estados Unidos	C:2a:P1.5,2	5-1,2	ND	2 (70)	ND
4243	Estados Unidos	C:2a:P1.5,2	ND	Complejo ET37 (11)	1 (95)	< 1:10
H44/76	Noruega	B:15:P1.7,16	1.7,16	Complejo ET5 (32)	1 (100)	1:900
H44/76	Noruega	NT; P1.7,16	1.7,16	Complejo ET5 (32)	1 (100)	ND

[a]Basado en la nomenclatura de designación de tipo de VR de PorA propuesta de Russell *et al* Emerg Infect Dis 2004; 10: 674-8)
[b]La tipificación de ST se realizó por secuenciación multilocus como se describe (www.mlst.net); NT = no tipificable; sin cápsula detectada por serología
[c]Porcentaje de identidad de aminoácidos en comparación con la de la cepa MC58.
[d]Título medido con complemento humano como se indica en Welsch *et al* J Immunol 2004; 172: 5606-15, en Hou *et al*. J. Infect Dis. (15 ago 2005) 192(4): 580-90 (Epub 15 jul 2005); véase también Figuras 3A y 3B. ND, No determinado. Las cepas usadas como hospedadores para sobreexpresión de GNA1870 y preparación de vacunas.

La cepa del grupo C RM1090 (C:2a:5-1,2) y mutantes descritos posteriormente que derivaron de esta cepa, y cepa de grupo B H44/76 y mutantes descritos posteriormente que derivaron de esta cepa, se usaron para preparar las vacunas de vesícula de membrana externa (OMV). La cepa RM1090 expresa de forma natural niveles bajos de una proteína variante 2 de GNA1870. La cepa de RM1090 en la que el gen GNA1870 estaba inactivado (RM1090ΔGNA1870, descrito posteriormente) se usó para sobreexpresión de la variante 1 de GNA1870. La cepa H44/76 expresa a un nivel relativamente alto la variante 1 de GNA1870. Las siete cepas restantes expresan de forma natural subvariantes de la proteína GNA1870 variante 1 y se seleccionaron como organismos de ensayo para determinar la amplitud de la inmunidad protectora anti GNA1870 variante 1 inducida por vacuna. Estas cepas son genéticamente diversas, como se define por el tipo electroforético y/o el tipo de secuenciación multilocus, y también expresan varios tipos de secuencia de VR de PorA diferentes. Las cepas de variante 1 se seleccionaron porque representan aproximadamente el 60 % de los aislados del grupo B productores de enfermedad (Masignani *et al*., J. Exp Med 2003; 197: 789-99).

La cepa Cu385 y cepa H44/76 expresan GNA1870 variante 1 con una secuencia de aminoácidos idéntica a la de la cepa MC58 (Welsch *et al*., J Immunol 2004; 172: 5606-15), el gen usado para expresar la proteína GNA1870 variante 1 recombinante en *E. coli*, y también se usan en el vector lanzadera para sobreexpresar GNA1870 en la cepa de vacuna de *N. meningitidis* RM1090 (véase posteriormente). Las siete cepas restantes expresan subvariantes de la variante 1 de GNA1870 con ligeras variaciones de secuencia con respecto a la variante de proteína GNA1870 codificada por el gen de la cepa MC58 (Masignani *et al*., 2003, mencionado anteriormente). En un estudio previo, la cepa Cu385 fue altamente susceptible a actividad bactericida mediada por complemento de anticuerpos inducidos en ratones inmunizados con una vacuna de proteína GNA1870 recombinante (Tabla 1). Por el contrario, las cepas de *N. meningitidis* BZ198, M1390, M6190 y NZ98/294 se seleccionaron porque eran resistentes a actividad bactericida de antisueros preparados contra la vacuna de GNA1870 recombinante (títulos bactericidas <1:10).

Construcción de vector lanzadera pFP12-GNA 1870. Se consiguió sobreexpresión de GNA1870 en *N. meningitidis* usando el vector lanzadera FP12, que tiene un origen de replicación de un plásmido de origen natural en *N. gonorrhoeae* y se ha mostrado que transforma *E. coli* y *N. meningitidis* de forma estable (Pagotto *et al*., Gene 2000, 244: 13-9). El gen GNA1870 variante 1, incluyendo el promotor de caja FUR potencial de la cepa de *N. meningitidis* MC58, se amplificó a partir de ADN genómico por PCR usando los siguientes cebadores: GNA1870FURSphIF 5', 5"-ATCGGCATGCGCCGTTCGGACGACATTTG-3" y GNA1870FURStuIR 3' 5"-AAGAAGGCCTTTATTGCTTGGCGGCAAGGC-3". El producto de PCR se digirió después con endonucleasas de restricción *Sph*I y *Stu*I y se ligaron en el plásmido pFP12 digerido con *Sph*I y *Stu*I, que retiró el gen de GFP. El plásmido resultante, pFP12-GNA1870, se transformó y propagó en células competentes de *E. coli* cepa TOP10 (Invitrogen), que se cultivó en medio Luria-Bertani a 37 ºC con selección de cloranfenicol (50 µg/ml).

Transformación de *N. meningitidis*. La cepa de RM1090 en la que el gen *GNA1870* estaba inactivado (RM1090ΔGNA1870) se preparó por recombinación homóloga por transformación con el plásmido pBSUDGNA1870ERM usando selección de eritromicina (5 µg/ml). Para la preparación de un mutante que sobreexpresa GNA1870, se seleccionaron 3-4 colonias de la cepa con inactivación de RM1090ΔGNA1870 a partir

de una placa de agar chocolate que se había cultivado durante una noche. Las colonias de bacterias se mezclaron con 3 µg del plásmido pFP12-GNA1870 en 20 µl de tampón EB (Qiagen), se sembraron en una placa de agar chocolate y se incubaron durante 5 horas a 37 ºC. Las diluciones en serie de las bacterias se volvieron a cultivar en placas de agar chocolate que contenían cloranfenicol (5 µg/ml). Las placas de cultivo se incubaron durante una noche a 37 ºC, y las colonias se exploraron con respecto a expresión de GNA1870 por un ensayo de transferencia de colonias usando anticuerpo anti rGNA1870 policlonal de ratón. Se seleccionaron colonias individuales positivas y se volvieron a cultivar en placas de agar chocolate que contenían cloranfenicol. Las células bacterianas meningocócicas se congelaron en leche desnatada al 2 % (p/vol) y se almacenaron a -80 ºC.

Se usó un procedimiento análogo para transformar la cepa H44/76 y un mutante de la misma que sobreexpresa GNA1870. gna1870 cromosómica en la cepa H44/76 se inactivó por transformación con pBSUDgna1870erm (Hou *et al*., Infect Immun 2003; 71: 6844-49). El mutante (H44/76Δgna1870) se transformó después con el plásmido pFP12-GNA1870 que codificaba la variante 1 de GNA1870 de la cepa MC58. Los transformantes se seleccionaron en placas de agar chocolate que contenían cloranfenicol 5 µg/ml.

Preparaciones de membrana. Se subcultivaron *N. meningitidis* a partir de reserva congelada en placas de agar chocolate (Remel, Laztakas, Kans.). Después de incubación durante una noche a 37 ºC en CO_2 5 %, se seleccionaron varias colonias y se inocularon en aproximadamente 6 ml de caldo de cultivo Mueller-Hinton que contenía glucosa 0,25 % y CMP-NANA 0,02 mM en una atmosfera que contenía CO_2 5 % hasta una densidad óptica a 620 nm (DO_{620}) de 0,1. Todas las cepas que contenían el vector lanzadera pFP12-GNA1870 introducido se cultivaron en presencia de 5 µg/ml de cloranfenicol. El caldo de cultivo inoculado se incubó a 37 ºC y CO_2 5 % con balanceo hasta que la DO_{620} alcanzó de 0,6 a 0,7 (2 a 3 h). Se usaron seis cultivos iniciadores de 6 ml para inocular 1 l de caldo de cultivo Mueller-Hinton. El cultivo mayor se cultivó a 37 ºC con agitación vigorosa hasta una DO_{620} de 0,8 a 1,0. Se añadió fenol (0,5 % p/vol), y el caldo de cultivo se dejó a 4 ºC durante una noche para destruir las bacterias. Las células bacterianas se sedimentaron por centrifugación (10.000 X g) durante 30 min a 4 ºC, y se congelaron y almacenaron a -20 ºC hasta su uso para preparación de las vacunas de vesículas de membrana externa.

Para los cultivos que contenían cepa H44/76 y el mutante de la misma, se usaron seis cultivos iniciadores de 7 ml. Las células se transfirieron a 1 l de caldo de cultivo Mueller-Hinton sin cloranfenicol añadido y se cultivaron con agitación vigorosa hasta que la DO_{620} alcanzó de 0,8 a 1,0. Se añadió fenol (0,5 % p/vol) y el cultivo se dejó a 37 ºC durante dos horas y se incubó durante una noche a 4 ºC para destruir las bacterias. Las células se sedimentaron por centrifugación (11.000 x g) durante 30 min a 4 ºC.

Se prepararon fracciones de membrana de *N. meningitidis* para OMV como se ha descrito previamente sin el uso de detergentes para evitar la extracción de la lipoproteína GNA1870 (Moe *et al*., 2002, mencionado anteriormente). Brevemente, las células bacterianas congeladas se suspendieron en 40 ml de PBS y se sonicaron en hielo con un sonificador equipado con una micropunta (Branson, Danbury, Conn) durante cuatro ráfagas de 15 s, lo que fue suficiente para liberar ampollas de membrana pero no para provocar lisis completa de las bacterias. Las suspensiones bacterianas se enfriaron en hielo entre las ráfagas. Los residuos celulares se retiraron por centrifugación a 5.000 X g durante 15 min, y la fracción de membrana que permanecía en el sobrenadante se obtuvo por ultracentrifugación a 100.000 X g durante 1 h a 4 ºC, y se resuspendió en 5 ml de PBS. Estas preparaciones se denominaron OMV. Como alternativa, podrían usarse MV, que se obtienen de ampollas liberadas por las bacterias al sobrenadante como se describe en (Moe *et al*., 2002, mencionado anteriormente); véase también documento WO 02/09643.

Para H44/76 (y mutante del mismo), las células bacterianas congeladas se resuspendieron en 20 ml de tampón PBS, y se sonicaron con cuatro ráfagas de 15 s. Se retiraron los residuos celulares por centrifugación (16.000 x g) durante 30 minutos a 4 ºC, y las membranas celulares, que se enriquecieron con proteínas de membrana externa, se recogieron de la fracción soluble por centrifugación (100.000 X g) durante 2 horas.

Caracterización de vacunas. Las concentraciones de proteína se determinaron por el ensayo de proteínas DC (Bio-Rad, Richmond, CA) y el Kit de Ensayo de Proteínas BCA (Pierce, Rockford, IL). Las preparaciones de OMV se analizaron por SDS-PAGE 15 % (SDS-PAGE 12,5 % para las preparaciones de H44/76) como se describe en Laemmli (Nature 1970; 227: 680-5) empleando un aparato de electroforesis Mini-Protean II (Bio-Rad) y transferencia de Western. Las muestras se suspendieron en tampón de muestras (Tris•HCl 0,06 M, pH 6,8, glicerol 10 % (v/v), SDS 2 % (p/v), 2-mercaptoetanol 5 % (v/v), Azul de bromofenol 10 µg/ml) y se calentaron hasta 100 ºC durante 5 min antes de cargar directamente en el gel.

Para transferencias de Western, el gel se equilibró con tampón (Tris•HCl 48 mM, glicina 39 mM [pH 9,0] metanol 20 % (v/v)) y se transfirió a una membrana de nitrocelulosa (Bio-Rad) usando una celda de transferencia electroforética semiseca Trans-Blot™ (Bio-Rad). Las membranas de nitrocelulosa se bloquearon con leche desnatada al 2 % (p/v) en PBS, y se hicieron reaccionar con una dilución 1:20.000 de antisuero anti rGNA1870 en PBS que contenía BSA 1 % (p/v) y Tween-20 1 % (p/v). Se detectó anticuerpo unido usando anticuerpo policlonal de conejo conjugado con peroxidasa de rábano rusticano anti IgG+A+M de ratón (Zymed, South San Francisco, CA) y reactivos de quimioluminiscencia “Western Lightning” (PerkinElmer Life Sciences, Inc., Boston, MA). El antisuero anti

GNA1870 de detección fue de ratones inmunizados secuencialmente con una inyección cada uno de 10 µg de GNA1870 v.1 recombinante (gen de la cepa de *N. meningitidis* MC58), seguido de una dosis de proteína v.3 recombinante (gen de la cepa M1239), seguido de una dosis de proteína v.2 recombinante (gen de la cepa 2996). Cada inyección se separó por de 3 a 4 semanas.

Inmunización. La vacuna de proteína recombinante se expresó en *E. coli* como se ha descrito previamente usando una secuencia de ADN de GNA1870 que codifica seis histidinas COOH terminales (marcador de His) y desprovista de la secuencia N terminal que codifica el péptido líder potencial (Welsch *et al*. J Immunol 2004; 172: 5606-15). Esta proteína GNA1870 con Marcador de His no lipidada se usó porque proporciona una mayor facilidad de preparación que la lipoproteína recombinante, y los datos de estudios anteriores indicaron que el antígeno no lipidado proporcionado con adyuvante completo e incompleto de Freund indujeron fuertes respuestas de anticuerpos bactericidas en ratones contra la mayoría de las cepas ensayadas.

Las preparaciones de OMV o proteína GNA1870 recombinante se diluyeron en PBS y se adsorbieron con un volumen igual de adyuvante de fosfato de aluminio (concentración final de Alhidrogel 1 % [p/vol; Superfos Biosector, Frederikssund, Dinamarca]) que se habían incubado con tampón de PBS). Se inmunizaron grupos de ratones CD1 hembra de 4-6 semanas de edad (Charles River Breeding Laboratories, Raleigh, NC) (N = 10 por grupo) por vía intraperitoneal (IP). Cada ratón recibió una dosis que contenía 5 µg de proteína total (para el grupo de mezcla, 2,5 µg de cada uno de OMV y rGNA1870). Se proporcionó un total de tres inyecciones, cada una separada por intervalos de 3 semanas. Dos semanas después de la tercera dosis, se tomaron muestras de sangre de ratones por punción cardiaca y se sacrificaron. Los sueros se separaron y se almacenaron congelados a -20 ºC.

Para las preparaciones de H44/76, cada ratón recibió una dosis de 1,25 µg de proteína total presente en OMV y 170 µg de fosfato de aluminio. Se proporcionaron tres inyecciones separadas por tres semanas. Se recogió sangre por punción cardiaca tres semanas después de la tercera dosis. Los sueros se separaron por centrifugación y se almacenaron congelados a -70 ºC hasta su uso.

Absorción de anticuerpos anti GNA1870. Para ensayar la contribución de anticuerpos anti GNA1870 a la actividad funcional de anticuerpos, se absorbieron grupos de suero para retirar anticuerpos anti GNA1870. Brevemente, se añadieron 100 µl de grupos de suero diluidos 1:2 en tampón de PBS que contenía imidazol 10 mM a una columna que contenía 250 µl de Ni-NTA Sepharose (Qiagen, Valencia, CA) que había formado complejo con 200 µg de proteína GNA1870-Marcador His recombinante o, como un control negativo, proteína de NadA-Marcador de His recombinante (Comanducci *et al*. J. Exp Med 2002; 195: 1445-54, Hou *et al*. 2005, mencionado anteriormente). Las columnas se incubaron durante una noche a 4 ºC, y se lavaron con 500 µl de tampón de PBS que contenía imidazol 10 mM. Se combinaron cinco fracciones (100 µl cada una) que pasaron a través de la columna y se concentraron hasta los volúmenes de suero de 50 µl originales por filtración de membrana (Microcon YM-10, PCPM 10.000, Millipore Corp., Bedford, MA). Basándose en un ELISA, más del 98-99 % de los anticuerpos anti-GNA1870 se retiraron por la columna de GNA1870.

Anticuerpo anti-GNA1870. Se usó ELISA para medir títulos de anticuerpos en suero para GNA1870, que se realizó como se ha descrito previamente (Welsch *et al*. J Immunol 2004; 172: 5606-1). El antígeno de fase sólida consistió en proteínas rGNA1870 v.1 o v.2. El anticuerpo secundario fue una dilución 1:2000 de IgM+G+A de conejo anti ratón conjugado con fosfatasa alcalina (Zymed). El título en suero se definió como la dilución que proporcionaba una DO_{405} de 0,5 después de una incubación de 30 minutos con sustrato.

Actividad de anticuerpo bactericida mediada por complemento. El ensayo bactericida se realizó como se ha descrito previamente (Moe *et al*. 2002, mencionado anteriormente) usando bacterias de fase semilogarítmica que han crecido en caldo de cultivo Mueller Hinton complementado con glucosa 0,25 %. La mezcla de reacción final contenía diferentes diluciones de sueros de ensayo, complemento humano 20 % (v/v) y tampón de Gey que contenía BSA 1 %. La fuente del complemento fue suero humano de un adulto sano sin actividad bactericida intrínseca detectable (Granoff *et al*. J. Immunol 1998; 160: 5028-36, Welsch *et al*. 2003, mencionado anteriormente). Los títulos bactericidas en suero se definieron como la dilución en suero que da como resultado una reducción del 50 % de UFC por ml después de 60 min de incubación de bacterias en la mezcla de reacción, en comparación con UFC de control por ml en el tiempo 0. Normalmente, las bacterias incubadas con el anticuerpo de control negativo y el complemento mostraron un aumento de 150 a 200 % en UFC/ml durante los 60 min de incubación.

Unión de anticuerpos con la superficie de *N. meningitidis* encapsulada viva. La capacidad de los anticuerpos anti-GNA1870 para unirse a la superficie de *N. meningitidis* viva se determinó por detección citométrica de flujo de ensayo de fluorescencia indirecta, realizado como se ha descrito previamente (Granoff *et al*. J Immunol 2001; 167: 3487-3496). Los controles positivos incluyeron anticuerpos monoclonales de ratón específicos para la cápsula de polisacárido de grupo C (1076.1 (Garcia-Ojeda *et al*. Infect Immun 2000; 68: 239-46)), PorA P1.2 (Granoff *et al*. J Immunol 2001;167: 3487-3496) y GNA1870 variante 1 (JAR3) (Welsch *et al*. J Immunol 2004; 172: 5606-15) y una dilución 1:300 de IgG (H+L) de Cabra anti (Fab')2 de ratón conjugado con FITC (Jackson Immuno Research Laboratories, West Grove, PA).

Activación de deposición de complemento humano en la superficie de meningococos encapsulados vivos.

Se determinó la deposición dependiente de anticuerpo anti GNA1870 de C3b o iC3b en la superficie bacteriana de bacterias *N. meningitidis* vivas por citometría de flujo, realizada como se ha descrito previamente (Welsch *et al*. J. Infect Dis. 2003; 188: 1730-40). Se incubaron bacterias lavadas, de fase logarítmica, en una mezcla de reacción que contenía complemento humano 5 % (v/v) y diluciones en suero apropiadas en tampón de veranol. Se detectó la deposición del complemento con C3c de oveja anti complemento humano conjugado con FITC (BioDesign Intl., Saco, ME), que reacciona tanto con C3b como con iC3b. La fuente del complemento fue el mismo suero humano descrito anteriormente para el ensayo bactericida.

Protección pasiva en crías de rata. La capacidad del antisuero para conferir protección pasiva contra bacteriemia de *N. meningitidis* del grupo B se ensayó en crías de rata expuestas IP a la cepa del grupo B NZ98/254 Welsch *et al*. 2003, mencionado anteriormente; Moe *et al*. Infect Immun 1999; 67: 5664-75; Moe *et al*. Infect Immun 2001; 69: 3762-71). Brevemente, se redistribuyeron aleatoriamente crías de 4 días de edad de camadas de ratas Wistar exogámicas (Charles River, Hollister, CA) a las madres lactantes. En el tiempo 0, se administraron a grupos de ocho animales antisueros o anticuerpos IP que se habían diluido en PBS que contenía BSA 1 %. Dos horas después, los animales se expusieron IP a aproximadamente 6 x 10^4 UFC de bacterias de fase logarítmica lavadas que habían crecido en Mueller-Hinton complementado con glucosa 0,25 % y CMP-NANA 10 µM (Sigma, St. Louis, MO). De cuatro a seis horas después de la exposición bacteriana, se obtuvieron muestras de ensayo sanguíneas por punción cardiaca y se sembraron alícuotas de 1, 10 y 100 µl de sangre en palcas de agar chocolate para determinar la UFC/ml.

Ejemplo 1: accesibilidad a la superficie de GNA1870 en la cepa de *N. meningitidis* RM1090.

Para determinar si la proteína GNA180 expresada por la cepa RM1090 transformada con pFP12-GNA1870 es una parte integral de la membrana externa y se expone en la superficie celular, y para determinar si GNA1870 sobreexpresado en la cepa H44/76 está anclado y es accesible en superficie en la membrana externa, se midió la unión de anticuerpos anti GNA1870 y de control con células bacterianas encapsuladas vivas por citometría de flujo (Figura 1).

Como se muestra en la Figura 1A, los mAb de control positivo específicos para polisacárido capsular de grupo C (columna 2) o PorA (anti P1.2, columna 3) mostraron unión fuerte con la cepa RM1090 parental (fila B) y con las dos cepas mutantes RM1090: una con inactivación de GNA1870 transformada con el vector lanzadera sin el gen de GNA1870 (fila A), y con inactivación transformada con el vector lanzadera que codificaba la proteína GNA1870 variante 1 (fila C). Con las tres cepas no hubo ninguna unión significativa con una dilución 1:10 de un grupo de suero de control negativo de ratones inmunizados con fosfato de aluminio solamente (columna 1). Tampoco hubo ninguna unión significativa de anticuerpos monoclonales o policlonales anti GNA1870 con la cepa con inactivación de GNA1870 (fila A, columnas 5 y 6, respectivamente). La cepa RM1090 de tipo silvestre, que expresa de forma natural niveles bajos de una proteína GNA1870 v.2, no tuvo ninguna unión detectable con un mAb anti GNA1870 específico para una proteína v.1 (fila B, columna 4) y mostró unión mínima por encima del fondo con un antisuero de ratón policlonal (columnas 5 y 6) preparado contra proteínas GNA1870 v.1, 2 y 3 recombinantes (véase posteriormente). Por el contrario, la cepa transformada con el vector lanzadera que codificaba GNA1870 (variante 1) mostró unión fuerte con los anticuerpos anti GNA1870 tanto policlonales como monoclonales. Por lo tanto, GNA1870 se expone en la superficie de la cepa RM1090 transformada con el vector lanzadera pFP12-GNA1870.

Como se muestra en la Figura 1B, los anticuerpos monoclonales anticapsular y anti PorA (P1.16) de control positivo se unieron a la cepa de tipo silvestre H44/76 y a un mutante de la cepa H44/76 que sobreexpresa GNA1870 (ambos mostrados en la fila 1). Los anticuerpos de control positivo también se unieron con H44/76 ΔGNA1870 (mostrado en la fila 2). Como se esperaba, no hubo ninguna unión de los anticuerpos monoclonales o policlonales anti GNA1870 con la cepa mutante H44/76 en la que se había inactivado el gen que codificaba GNA1870 (columnas D a F). La incubación de la cepa de tipo silvestre con los anticuerpos anti GNA1870 mostraron buena unión, un resultado que reflejaba el nivel relativamente alto de expresión de GNA1870 natural en la cepa H4476. Hubo un aumento modesto en la unión con la cepa mutante que se había modificado técnicamente para sobreexpresar GNA1870, como se demuestra por un desplazamiento pequeño hacia la derecha de fluorescencia inmunitaria. Por lo tanto, la sobreexpresión de GNA1870 dio como resultado un aumento pequeño en la cantidad de la proteína en la membrana externa, y la proteína se expone en superficie.

Ejemplo 2. Análisis de vacuna de OMV

Las proteínas principales en las preparaciones de OMV de la cepa RM1090 y los mutantes respectivos se separaron por SDS-PAGE y se visualizaron por tinción con Azul de Coomasie (Figura 2A, Panel A). Como resulta típico de OMV preparada a partir de *N. meningitidis*, hubo un número limitado de proteínas principales que se resolvían con masas aparentes entre 29 kDa (Opa/Opc) y 43 kDa (PorA). La OMV preparada a partir de la cepa de tipo silvestre (carril 1) y cepa con inactivación de GNA1870 (carril 3) expresaba cantidades respectivas similares de cada una de estas proteínas. Por el contrario, OMV de las cepas transformadas con el vector lanzadera pFP12 que no contenía el gen que codificaba GNA1870 (carriles 2 y 4, respectivamente) mostraron expresión relativa reducida de tres proteínas que migraban con masas aparentes entre 38 y 43 kDa. Este resultado probablemente refleje en parte la expresión reducida de las proteínas porinas por selección antibiótica de la presencia de 5 µg/ml de cloranfenicol en

el medio de cultivo (Tommassen *et al*. Infect Immun 1990; 58: 1355-9). El carril 5 muestra OMV preparada a partir de la cepa RM1090 transformada con el vector lanzadera que codifica GNA1870. Para visualizar mejor las proteínas, este carril se cargó con 2 veces más proteína (aproximadamente 10 µg) que en los carriles 1 a 4. En comparación con las otras preparaciones de OMV, la OMV preparada a partir de la cepa transformada con el vector lanzadera que contenía el gen GNA1870 mostró expresión reducida de proteínas que se resolvían entre 29 y 32 kDa. Por SDS PAGE, GNA1870 no es fácilmente evidente en ninguna de las preparaciones de OMV incluyendo la OMV preparada a partir de la cepa mutante que sobreexpresa GNA1870 (carril 5). (Para comparación, se muestra 1 µg de la proteína variante GNA1870 recombinante en el Carril 6).

En la Figura 2A, se usó transferencia de Western con un antisuero de ratón policlonal inducido contra proteínas recombinantes GNA1870 v.1, 2 y 3 para evaluar la expresión de GNA1870 en las diferentes preparaciones de vacuna. Como se muestra en el Panel B, el antisuero fue ligeramente más reactivo con la proteína rGNA1870 v.2 que la proteína recombinante v.1. Incluso con este desvío, la OMV preparada a partir de RM1090 transformada con pFP12-GNA1870 mostró reactividad aumentada por transferencia de Western en comparación con la OMV preparada a partir de la cepa RM1090 de tipo silvestre que expresa de forma natural una proteína v.2 (Figura 2A, Panel C). Por el contrario, la OMV de control negativo del mutante con inactivación de GNA1870 (RM1090ΔGNA1870) no tuvo ninguna reactividad detectable. Los resultados de mediciones de densitometría indicaron que la expresión de la proteína GNA1870 v.1 en la cepa transformada con el vector lanzadera fue aproximadamente 10 veces mayor que la de la proteína v.2 expresada de forma natural por la cepa RM1090 parental de tipo silvestre.

Las preparaciones de H44/76 OMV se analizaron por transferencia de Western usando antisuero policlonal para GNA1870 (Figura 2B). La cantidad de OMV cargada en el gel se normalizó basándose en el contenido de proteínas total de las preparaciones. Como se esperaba, GNA1870 se expresó en las preparaciones de membrana de la cepa de tipo silvestre y aumentó en la preparación correspondiente del mutante modificado técnicamente para sobreexpresar esta proteína. Sin embargo, el aumento de GNA1870 fue modesto (aproximadamente 3 veces).

Ejemplo 3: análisis de respuestas de anticuerpo en suero

La Tabla 2 y la Figura 5 resumen las respuestas de anticuerpo anti GNA1870 en suero de los diferentes grupos de ratones como se mide por ELISA. Las respuestas de anticuerpo mayores a la proteína variante 1 en la Tabla 2 estuvieron en ratones inmunizados con la vacuna GNA1870 v.1 recombinante solamente, o con la vacuna GNA1870 v.1 recombinante proporcionada como una mezcla con una vacuna de OMV (títulos contra la proteína variante 1 de 1:120.000 y 1:300.000, respectivamente). Los ratones inmunizados con OMV preparada a partir de la cepa RM1090 que sobreexpresaba la variante 1 de GNA1870 tuvieron un título anti GNA 1870 de 4 a 10 veces menor (1:32.000). Resulta de interés que los ratones inmunizados con OMV preparados a partir de la cepa de RM1090 de tipo silvestre tuvieron respuestas de anticuerpos anti GNA1870 indetectables o insignificantes como se midió frente a las proteínas variante 1 o 2. Este resultado sugiere que en ausencia de sobreexpresión, GNA1870 en OMV de la cepa de tipo silvestre es escasamente inmunogénico.

Se inmunizaron grupos de ratones con H44/76 OMV (1,25 µg de proteína total) o 5 µg de rGNA1870 proporcionado con fosfato de aluminio. Se obtuvieron muestras de suero 3 semanas después de la tercera dosis y se agruparon (2 grupos por grupo de vacuna, cada grupo preparado a partir de 4 a 5 ratones). Como se muestra en la Figura 5, los ratones de control inmunizados con el adyuvante de aluminio solo no tuvieron ningún anticuerpo anti GNA1870 detectable (GMT <1:10, barra 1), mientras que los ratones inmunizados con rGNA1870 mostraron las respuestas más altas (GMT 1:23.500, barra 2). Los ratones inmunizados con OMV preparados a partir de H44/76 que sobreexpresaban GNA1870 tuvieron respuestas de anticuerpos anti GNA1870 aproximadamente 10 veces mayores que el grupo respectivo inmunizado con OMV de la cepa de tipo silvestre (compárese barras 5 y 3). Los ratones inmunizados con OMV preparada a partir de H44/76 ΔGNA1870 tuvieron respuestas de anticuerpo insignificantes (GMT <1:10, barra 4).

Tabla 2. Respuestas de anticuerpo anti GNA1870 de ratones como se mide por ELISA

	1/Título de Anticuerpo[b]	
Vacuna[a]	rGNA1870 Variante 1	rGNA1870 Variante 2
$Al_2(PO4)_3$ solamente	<50	<50
rGNA1870 (v.1)	120.000	3200
rGNA1870 (v.2)	ND	1.600.000
RM1090 OMV		
Tipo silvestre	55	<50
AGNA1870	<50	<50
Sobreexpresión GNA1870	32.000	1200
ΔGNA1870 + rGNA1870 v.1	300.000	4000

[a]Las vacunas consistieron en 5 µg de proteína total absorbida con $Al_2(PO4)_3$. La vacuna de OMV + rGNA1870 consistía en una mezcla de 2,5 µg de OMV y 2,5 µg de rGNA1870 (v.1).
[b]Dilución en suero en un ELISA que proporciona una DO de 0,5 después de 30 min de incubación con sustrato. Los datos mostrados son la media geométrica respectiva de títulos medidos en 2 grupos de suero de cada grupo de vacuna. Cada grupo contenía volúmenes iguales de sueros de 4 a 5 ratones inmunizados.

La Figura 3A resume las respuestas de anticuerpos bactericidas en suero de los diferentes grupos de ratones como se mide frente a cuatro de las cepas de ensayo. Los ratones inmunizados con la vacuna de proteína GNA1870 recombinante solamente, o con la vacuna GNA1870 recombinante en combinación con una vacuna de OMV, o con la OMV que sobreexpresaba GNA1870, desarrollaron títulos bactericidas altos contra la cepa Cu385 que no eran significativamente diferentes entre sí (compárese las barras 4, 5 y 6 del panel superior). Por el contrario, no hubo ninguna actividad bactericida detectable contra la cepa Cu385 en sueros de ratones de control inmunizados con vacunas de OMV preparadas a partir de las cepas RM1090 de tipo silvestre o con inactivación de GNA1870 (barras 2 y 3, respectivamente; títulos <1:10). Obsérvese que la cepa Cu385 expresa la proteína GNA1870 v.1 canónica (idéntica secuencia de aminoácidos a la de la cepa MC58, el gen usado para expresar la proteína GNA1870 recombinante), y se sabía por el estudio previo de los inventores que era altamente susceptible a actividad bactericida de anticuerpo inducida en ratones por la vacuna de GNA1870 recombinante (Tabla 1). Además, Cu385 tiene un serosubtipo de PorA heterólogo (P1.19,15) con respecto al de la cepa de vacuna RM1090 (P1.5,2) y, por lo tanto, se espera que la cepa Cu385 sea resistente a actividad bactericida de anticuerpos inducidos contra la vacuna de OMV de control que no sobreexpresaba GNA1870 variante 1 (Tappero *et al*. JAMA 1999; 281: 1520-7, Moe *et al*. 2002, mencionado anteriormente).

La Figura 3A también muestra los títulos bactericidas en suero correspondientes medidos frente a la cepa M6190 (segundo panel desde arriba) que expresa una subvariante de proteína GNA1870 v.1 en comparación con la de la cepa de vacuna modificada técnicamente. No hubo ninguna actividad bactericida detectable en sueros de ratones inmunizados con la proteína GNA1870 recombinante variante 1 (barra 6, media geométrica del título <1:10), un resultado idéntico al del estudio previo de los inventores (Tabla 1). Sin embargo, debido a que el serosubtipo de PorA (P1.5,2) de la cepa M6190 es homólogo del de la cepa de vacuna RM1090, los sueros de ratones inmunizados con cualquiera de las vacunas que contenían OMV eran altamente bactericidas (barras 2, 3, 4 o 5).

La Figura 3A (tercer y cuarto paneles desde arriba) muestra las respuestas bactericidas correspondientes contra cepas Z1092 y NZ98/254, respectivamente. Ambas cepas expresan moléculas de PorA que son heterólogas con la de la cepa de vacuna RM1090 (Tabla 1), y no se destruyeron por sueros de ratones inmunizados con vacunas de OMV preparadas a partir de las cepas RM1090 de tipo silvestre o de inactivación de GNA1870 (barras 2 y 3, media geométrica de los títulos <1:10). Sin embargo, los ratones inmunizados con vacuna de OMV preparada a partir de la cepa RM1090 que sobreexpresaba GNA1870 (barra 5) tuvieron una media geométrica del título de anticuerpo bactericida en suero significativamente mayor frente a la cepa Z1092 que la de ratones inmunizados con GNA1870 recombinante (barra 6, P<0,02), o con una mezcla de la proteína GNA1870 recombinante y vacuna de OMV (barra 4, P<0,04). Se observaron tendencias similares para las respuestas bactericidas en suero respectivas medidas contra la cepa NZ98/254 (panel inferior) o contra las cepas BZ198 y M1390 (datos no mostrados). Sin embargo, para estas tres últimas cepas, la magnitud de respuestas bactericidas en suero de ratones inmunizados con la vacuna de OMV con GNA1870 sobreexpresado fueron menores que las medidas contra la cepa Z1092. Además, la media geométrica de los títulos bactericidas en suero contra las cepas NZ98/294, BZ198 y M1390 de ratones inmunizados con OMV que sobreexpresaba GNA1870 no fue diferente en una medida estadísticamente significativa en comparación con las medias geométricas de títulos de los ratones en los otros grupos de vacuna (P>0,10).

La Figura 3B resume las respuestas de anticuerpos bactericidas en suero contra seis cepas, incluyendo H44/76, que se usaron para preparar la vacuna de OMV. Cinco de las seis cepas tienen serosubtipos de PorA heterólogos para el de H44/76. La cepa H44/76 también expresa una secuencia de proteína GNA1870 variante 1 idéntica a la de la cepa MC58, que contiene el gen usado para clonar y expresar la vacuna de proteína GNA1870 recombinante. Todas las preparaciones de vacuna excepto el adyuvante de aluminio de control negativo indujeron respuestas de anticuerpos bactericidas en suero altas cuando se midieron frente a la cepa de vacuna H44/76 (Figura 3B, Panel A). Por el contrario, cuando se midieron contra cepas heterólogas 4243 (Panel B), Z1092, NZ98/254 y BZ198 (Panel C) o M6190 (Panel D), sueros de ratones inmunizados con la vacuna de rGNA1870, o las vacunas de OMV preparadas a partir de las cepas H44/76 de tipo silvestre o H4476ΔGNA1870, tuvieron títulos bactericidas bajos o indetectables (barras 2, 3 y 4, respectivamente). Los ratones inmunizados con la vacuna de OMV con GNA1870 sobreexpresado (barra 5) tuvieron respuestas de anticuerpos bactericidas altas frente a la cepa 4243, respuestas bactericidas bajas pero detectables contra las cepas NZ98/254, BZ198 y Z1092, y ninguna actividad bactericida detectable contra M6190 (título <1:10). Aunque no se muestran en la Figura 3B, todas las cepas se destruyeron fácilmente por el complemento junto con anticuerpos de control positivo para las cápsulas de PorA y/o polisacárido respectivas.

Ejemplo 4: activación de deposición de complemento C3b en la superficie de células de *N. meningitidis* encapsuladas vivas.

En estudios previos se descubrió que ciertos anticuerpos anti meningocócicos de ratón que carecían de actividad bactericida conferían protección pasiva contra bacteriemia meningocócica en ausencia de actividad bactericida

(Welsch *et al*. J. Immunol 2004; 172: 5606-15; Welsch *et al*. 2003, mencionado anteriormente). La protección se correlacionaba con la capacidad de los anticuerpos para activar la deposición de componentes de complemento C3 en la superficie de meningococos encapsulados vivos como se mide por citometría de flujo. La presencia de C3b proporciona un ligando para opsonización, que es el mecanismo más probable que confiere protección en ausencia de actividad bactericida. Por lo tanto, se investigó la capacidad de los antisueros de ratones inmunizados con diferentes vacunas de OMV para activar la deposición de C3b humana (Figura 4). Se usaron dos cepas de *N. meningitidis* de ensayo, NZ98/254 (Figura 4A, fila A) y M1390 (Figura 4A, fila B) y cuatro cepas de *N. meningitidis* de ensayo, NZ98/254, BZ198, Z1092 y M6190 (Figura 4B) para estos experimentos. Estas fueron cepas para las que los antisueros de ratones inmunizados con la vacuna de OMV que sobreexpresaban GNA1870 no mostraban títulos bactericidas estadísticamente significativamente más altos que los otros grupos de vacuna.

No hubo ninguna prueba de deposición de complemento cuando las células bacterianas de una de las cepas de ensayo se incubaron con la fuente de complemento humana junto con una dilución 1:40 de un grupo de suero de control negativo de ratones inmunizados con fosfato de aluminio solamente (áreas rellenas de los paneles en la Figura 4A, columna 1). De forma similar, no hubo ninguna deposición de C3b detectable con complemento inactivado por calor más 5 µg/ml de un anticuerpo monoclonal de ratón para GNA1870 (JAR3) (áreas rellenas de paneles en la Figura 4A, columna 2). Por el contrario, la adición de complemento activo hasta 25 µg/ml de un anticuerpo anticapsular monoclonal de grupo B de control positivo (áreas abiertas de los paneles en la Figura 4A, columna 1), o 1 µg/ml de anticuerpo monoclonal anti GNA1870 (áreas abiertas de los paneles en la Figura 4A, columna 2), indujo una fuerte deposición de C3b en la superficie bacteriana de ambas cepas de ensayo, como se demuestra por un aumento en los porcentajes de bacterias que muestran fuerte inmunofluorescencia con el anticuerpo anti C3c, que reconoce tanto C3b como iC3bi.

Los paneles en las columnas 3 a 6 de la Figura 4A muestran el efecto de añadir complemento a diluciones de grupos de suero obtenidos de grupos de ratones inmunizados con las diferentes vacunas. La adición de complemento a una dilución 1:100 de suero de ratones inmunizados con GNA1870 recombinante (columna 3), u OMV preparada a partir de la cepa de tipo silvestre de RM1090 (columna 4), u OMV mezclada con el GNA1870 recombinante (columna 5), no activaron la deposición de C3b en ninguna de las cepas de ensayo. Por el contrario, las diluciones de 1:100 o 1:400 de un grupo de suero de ratones inmunizados con OMV preparados a partir de la cepa RM1090 que sobreexpresaba GNA1870 activaron fuerte deposición de C3b contra ambas cepas de ensayo (columna 6).

Como se muestra en la Figura 4B, los mAb anticapsulares de control positivo indujeron deposición de complemento en cada una de las cepas (áreas abiertas en la columna A), mientras que una dilución 1:100 si el antisuero de control negativo de ratones inmunizados con el adyuvante de aluminio solo era negativa (áreas rellenas en la columna A). Una dilución 1:100 de sueros de ratones inmunizados con la vacuna de rGNA1870 (áreas rellenas en la columna B) o vacuna de OMV H44/76 preparada a partir de la cepa de tipo silvestre (áreas rellenas en la columna C), tampoco indujeron deposición de complemento significativa en ninguna de las cepas. Por el contrario, un mAb anti rGNA1870 indujo deposición de complemento en las cepas NZ98/254, BZ198 y Z1092, pero no en la cepa M6190 (áreas abiertas en la columna B). De forma similar una dilución 1:100 de antisuero de ratones inmunizados con la vacuna de H44/76 con GNA1870 sobreexpresado activaron la deposición de C3 para las cepas Z 1092, NZ98/254 y BZ198 (áreas abiertas en la columna D), pero no para la cepa M6190.

Ejemplo 5. Definición de la diana antigénica de anticuerpos que son bactericidas o activan la deposición de C3b en cepas heterólogas

Se usó una columna de afinidad Ni-NTA cargada con GNA1870 recombinante marcado con His para absorber anticuerpos anti GNA1870 de un grupo de suero preparado a partir de ratones inmunizados con OMV H44/76 con GNA1870 sobreexpresado. Como se muestra en la Tabla 3, mediante ELISA, el 98 % de los anticuerpos anti GNA1870 se retiraron por esta columna en comparación con la de suero absorbido con una columna de control negativo que contenía solamente la matriz de Ni-NTA. Después de la absorción en la columna de control negativo, la actividad bactericida contra la cepa 4243 fue similar a la del grupo de suero no absorbido original, mientras que la adsorción de los anticuerpos anti GNA1870 dio como resultado pérdida completa de actividad bactericida.

El efecto de la absorción de anticuerpos anti GNA1870 en la deposición de C3 se analizó frente a las cepas Z1092, NZ98/254, BZ198 y M6190 (Tabla 3 y Figura 4B, Fila 4). Como se muestra en la Figura 4B, columna D, la retirada de los anticuerpos anti GNA1870 de sueros de ratones inmunizados con OMV H44/76 con GNA1870 sobreexpresado dio como resultado pérdida completa de la capacidad de los antisueros para activar la deposición del complemento en las tres cepas susceptibles de activación y deposición de iC3b/C3b (áreas rellenas de la Figura 4B). Estos resultados, así como los datos bactericidas sobre sueros absorbidos resumidos anteriormente indican que para cepas con proteínas PorA heterólogas para la de la cepa de vacuna H44/76, la activación de la deposición de C3 y actividad bactericida de antisueros preparados contra OMV H44/76 que contenía GNA1870 sobreexpresado están mediadas por anticuerpos anti GNA1870.

Tabla 3: actividad de sueros de ratones inmunizados con OMV con GNA1870 sobreexpresado después de absorción de anticuerpos anti GNA1870

	1/título de anticuerpo		
Ensayo, Cepa	Suero no absorbido	Suero absorbido con columna de control negativo	Suero absorbido con columna de rGNA1870
ELISA anti GNA1870	14000	8300	138
Bactericida 4243	50	45	<10
Deposición de complemento C3			
NZ98/294	≥ 100	≥ 100	<25
BZ198	≥ 100	≥ 100	<25
Z1092	≥ 100	≥ 100	<25

Se adsorbió un grupo preparado a partir de sueros de ratones inmunizados con OMV H44/76 con GNA1870 sobreexpresado en una columna que contenía una matriz de Ni-NTA (Qiagen) que se había incubado durante una noche con GNA1870 marcado con His recombinante 50 µg/ml. El flujo continuo se recogió y se concentró hasta el volumen original. La columna de control contenía matriz de Ni-NTA sin la proteína marcada con His.

Ejemplo 6. Papel del anticuerpo anti GNA1870 en la actividad funcional.

La vacuna de OMV preparada a partir de la cepa de *N. meningitidis* RM1090 que se modifica técnicamente para sobreexpresar GNA1870 mostró expresión reducida de varias otras proteínas de envoltura celular en comparación con las proteínas respectivas en OMV preparada a partir de la cepa RM1090 de vacuna de tipo silvestre, o la cepa con inactivación génica RM1090 ΔNA1870 (Figura 2A, panel A). Por lo tanto, fue posible que la mayor actividad funcional de los antisueros de ratones inmunizados con OMV que sobreexpresaba GNA1870 resultara de anticuerpos inducidos por antígenos distintos de GNA1870. Para investigar esta posibilidad, se absorbió un grupo de sueros de ratones inmunizados con OMV RM1090 que sobreexpresaba GNA1870 usando una columna de afinidad anti GNA1870. Por ELISA, se retiró el 99 % de los anticuerpos anti GNA1870. El antisuero absorbido resultante también perdió toda la capacidad para activar la deposición de C3b humano en la cepa de *N. meningitidis* NZ98/294 (Tabla 4). Por el contrario, no hubo ningún efecto en la deposición de C3b absorbiendo el grupo de suero en una columna de afinidad anti NadA, que actuó como un control negativo (Tabla 4).

Tabla 4. Actividad funcional de antisuero de ratones inmunizados con OMV que sobreexpresa GNA1870 después de agotamiento de anticuerpos anti GNA1870[a]

Ensayo	Suero No Absorbido	1/Título de Anticuerpo en Suero Absorbido con GNA1870	Suero Absorbido con NadA
ELISA anti GNA187	40.000	400	30.000
Deposición de complemento C3b (citometría de flujo)[b]	>400	<25	≥400
Actividad bactericida			
Cepa Cu385	2500	<10	3000
Cepa M6190	1000	600	600

[a]Se preparó un grupo de suero a partir de cinco ratones inmunizados con la vacuna de OMV de la cepa RM1090 modificada técnicamente para sobreexpresar GNA1870. El antisuero se absorbió en una columna de afinidad de GNA1870 recombinante o, como control negativo, una columna de afinidad que contenía NadA recombinante (véase métodos). Las fracciones de flujo continuo se combinaron y se concentraron hasta su volumen de suero original de filtración de membrana (véase métodos)

[b]Dilución en suero en el ensayo de activación de complemento por citometría de flujo que indujo un aumento 10 veces de la inmunofluorescencia en comparación con el suero de control negativo (véase Figura 4).

La Tabla 4 también resume los títulos bactericidas de los grupos de suero absorbidos como se mide frente a las cepas Cu385 y M6190. La absorción de los anticuerpos anti GNA1870 retiró completamente la actividad bactericida contra la cepa Cu385 pero no tuvo ningún efecto significativo en el título contra la cepa M6190. Este último resultado era esperado ya que la cepa M6190 expresa una PorA que tiene un serosubtipo homólogo de PorA expresado por la cepa de vacuna RM1090 y los anticuerpos anti PorA bactericidas no se retirarían por las columnas de afinidad de GNA1870 o NadA.

Ejemplo 8: protección pasiva en el modelo de bacteriemia meningocócica de cría de rata.

Las crías de rata se pretrataron con grupos de suero de los diferentes grupos de ratones, y se expusieron 2 horas después a la cepa de *N. meningitidis* NZ98/254. La Figura 6 muestra las medias geométricas de las UFC/ml en sangre obtenidas 4 a 6 horas después de la exposición. Las 10 ratas tratadas con una dilución 1:15 del grupo de

suero de ratones de control negativo inmunizados con fosfato de aluminio solamente tenían bacteriemia con una media geométrica de UFC/ml de ~10^5 (Panel A, barra 1). Por el contrario, el pretratamiento con 10 µg/rata de un anticuerpo anticapsular del grupo B de control positivo (barra 2) o un anticuerpo monoclonal anti GNA1870 (barra 3) dio como resultado una media geométrica de UFC/ml de 3 a 4 log menor (P<0,0001). En comparación con animales tratados con el suero de control negativo, no hubo actividad protectora pasiva significativa por grupos de suero de ratones inmunizados con la vacuna de OMV preparada a partir de la cepa nuligénica RM1090ΔGNA1870 (barra 4), o la vacuna de OMV mezclada con GNA1870 recombinante (barra 5). Por el contrario, el grupo de suero de ratones inmunizados con la vacuna de OMV que sobreexpresaba GNA1870 (barra 6) confirió protección (reducción 4 log de la media geométrica de UFC/ml, P<0,0001). El grupo de suero de ratones inmunizados con la vacuna de GNA1870 recombinante solamente (barra 7) confirió protección modesta (reducción ~2 log, P<0,0001) pero la actividad protectora fue menor que la del grupo de suero de los ratones inmunizados con OMV que sobreexpresaba GNA1870 (P <0,0001, en comparación con las medias geométricas respectivas de las UFC/ml).

Figura 6, Panel B muestra las medias geométricas correspondientes de las UFC/ml de ratas pretratadas con diluciones 1:60 de los grupos de suero. A esta dilución mayor, el grupo de suero de los ratones inmunizados con la vacuna de OMV que sobreexpresaba GNA1870 (barra 6) confirió protección (P<0,0002 en comparación con la media geométrica de ratas tratadas con una dilución 1:15 del suero de control negativo) pero no hubo ninguna actividad protectora significativa por la mayor dilución de los grupos de suero de los ratones inmunizados con cualquiera de los otros 3 grupos de vacuna ensayados, incluyendo el suero de ratones a los que se proporcionó la vacuna de GNA1870 recombinante (barra 7, P>0,10).

Ejemplo 9. La inmunización de ratones con una vacuna de vesícula preparada a partir de la cepa RM1090 que sobreexpresa proteína A de superficie de *Neisseria* (NSPA) no está asociada con respuestas de anticuerpos bactericidas en suero potenciadas.

Fue de interés determinar si la protección potenciada inducida por la vacuna de vesícula preparada a partir de la cepa RM1090 modificada técnicamente para sobreexpresar GNA1870 era específica para GNA1870, o también se produciría con una vacuna de vesícula preparada a partir de una cepa modificada técnicamente para sobreexpresar otra diana de vacuna. Por lo tanto, se preparó una vacuna de microvesícula a partir de la cepa RM1090 en la que el gen para NspA en la cepa de tipo silvestre se había inactivado. Se preparó una segunda vacuna de vesícula a partir de la cepa de inactivación de NspA RM1090 transformada con el vector lanzadera pFP12 que contiene el gen de NspA de la cepa 8047. Por SDS PAGE, las vesículas resultantes de la cepa transformada con el vector lanzadera contenían expresión aumentada 10 veces de la proteína NspA en comparación con la cepa de tipo silvestre RM1090 (datos no mostrados).

Se inmunizaron grupos de ratones con 3 dosis de las vacunas de vesícula proporcionadas con fosfato de aluminio y se recogió suero 3 semanas después de la última inmunización. La vacuna que sobreexpresaba NspA indujo altos títulos de anticuerpo anti NspA como se mide por ELISA (1:19.000 en comparación con un título de 1:700 en ratones inmunizados con la vacuna de vesícula preparada a partir de la cepa de inactivación de NspA, y un título de <1:50 de ratones inmunizados con fosfato de aluminio solamente). La Tabla 5 resume las respuestas de anticuerpos bactericidas en suero como se mide frente a cuatro cepas de ensayo, BZ198, NZ98/254, Cu385 y Z1090.

Tabla 5. Inmunización de ratones con vacunas de vesícula preparadas a partir de una cepa mutante RM1090 modificada por ingeniería genética para sobreexpresar la Proteína A de Superficie de *Neisseria* (NspA)

Cepa de *N. meningitidis*	Tipo de secuencia VR (PorA)	MAb anticapsular (BC_{50})[b] µg/ml	Ratones de Control Negativo inmunizados con fosfato de aluminio (1/Título)[c]	Ratones inmunizados con vesículas de la cepa de *N. meningitidis* RM1090[a]	
				Sobreexpresión de NspAd (1/Título)[c]	Inactivación de NspA (1/Título)[c]
BZ198	(7,4)	<6	<1:10	1:16	<1:4
NZ98/254	(7-2,4)	8	<1:10	<1:4	<1:4
Cu385	(19,15)	10	<1:10	<1:4	1:12
Z1092	(5-2,10)	<1	<1:10	1:12	1:250

[a]Se prepararon microvesículas como se describe en Moe *et al*. (Infection Immunity 2002: 70: 6021-6031) a partir de una inactivación de NspA, la cepa de inactivación transformada con el vector lanzadera pFP12 que contiene el gen de NspA de la cepa 8047. Los ratones se inmunizaron con tres inyecciones y se tomaron muestras de sangre ~3 semanas después de la última inyección. Los títulos mostrados son de suero agrupado de 9 a 10 ratones en cada grupo de vacuna. Los títulos de anticuerpo anti NspA respectivos como se mide por ELISA fueron <1:50 (grupo de fosfato de aluminio), 1:700 (vesículas de la cepa de inactivación de NspA RM1090) y 1:19.000 (vesículas de la cepa RM1090 que sobreexpresa NspA).
[b]Menor concentración que proporciona 50 % de destrucción de bacterias después de 1 h de incubación con complemento humano
[c]Mayor dilución de suero que proporciona 50 % de destrucción de bacterias después de 1 h de incubación con complemento humano
[d]Expresado en el fondo de inactivación de NspA

Las cuatro cepas expresaron una PorA heteróloga en comparación con la de la cepa de vacuna RM1090. Con la cepa BZ198, que se seleccionó para ensayar actividad bactericida en este experimento basándose en datos previos que mostraban alta susceptibilidad a actividad bactericida de antisueros anti NspA preparados contra NspA recombinante expresado en vesículas de *E. coli* (Moe *et al*., Infection and Immunity 1999; 67: 5664-5675), hubo pruebas de actividad bactericida aumentada en el antisuero de ratones inmunizados con la vacuna de vesícula derivada de la cepa que sobreexpresa NspA. Sin embargo, contra la cepa NZ98/254 no hubo ningún aumento en la actividad bactericida, y para las cepas de Cu385 y Z1090 hubo pruebas de que la inmunización con una vacuna de vesícula que sobreexpresaba NspA inducía respuestas de anticuerpos bactericidas en suero de 3 a 10 veces menores que las inducidas por una vacuna de vesícula de control preparada a partir de la cepa de inactivación de NspA correspondiente. Por lo tanto, a diferencia de las vacunas de vesícula que sobreexpresan GNA1870, una vacuna de vesícula que sobreexpresa NspA no proporcionó uniformemente respuestas de anticuerpos bactericidas potenciadas, y parece tener respuestas de anticuerpos bactericidas suprimidas para algunas cepas.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> CHILDREN'S HOSPITAL & RESEARCH CENTER AT OAKLAND

<120> VACUNAS DE VESÍCULAS BASADAS EN GNA1870 PARA PROTECCIÓN DE AMPLIO ESPECTRO CONTRA ENFERMEDADES PROVOCADAS POR *NEISSERIA MENINGITIDIS*

<130> AHB/FP6903330

<140>
<141> 23-01-2006

<150> 06733859.0
<151> 23-01-2006

<150> PCT/US2006/002523
<151> 23-01-2006

<150> US 60/647.911
<151> 27-01-2005

<160> 255

<170> FastSEQ para Windows Versión 4.0

<210> 1
<211> 274
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 1

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

Tyr Ser Leu Gly Ile Phe Gly Gly Lys Ala Gln Glu Val Ala Gly Ser
                245                 250                 255
Ala Glu Val Lys Thr Val Asn Gly Ile Arg His Ile Gly Leu Ala Ala
            260                 265                 270
Lys Gln
```

<210> 2
<211> 274
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 2

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

<210> 3
<211> 274
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 3

```
Met Asn Arg Thr Ala Phe Cys Cys Phe Ser Leu Thr Ala Ala Leu Ile
 1               5                  10                  15
Leu Thr Ala Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly
            20                  25                  30
Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp Lys
```

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

<210> 4
<211> 274
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 4

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


Ala Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Ser Pro Glu Leu
        195                 200                 205
Asn Val Glu Leu Ala Thr Ala Tyr Ile Lys Pro Asp Glu Lys His His
    210                 215                 220
Ala Val Ile Ser Gly Ser Val Leu Tyr Asn Gln Asp Glu Lys Gly Ser
225                 230                 235                 240
Tyr Ser Leu Gly Ile Phe Gly Gly Gln Ala Gln Glu Val Ala Gly Ser
                245                 250                 255
Ala Glu Val Glu Thr Ala Asn Gly Ile His His Ile Gly Leu Ala Ala
            260                 265                 270
Lys Gln
```

<210> 5
<211> 279
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 5

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

<210> 6
<211> 274
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 6

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

<210> 7
<211> 274
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 7

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

Lys Arg Gln Phe Arg Ile Gly Asp Ile Ala Gly Glu His Thr Ser Phe
145                 150                 155                 160
Asp Lys Leu Pro Glu Gly Gly Arg Ala Thr Tyr Arg Gly Thr Ala Phe
                165                 170                 175
Gly Ser Asp Asp Ala Ser Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala
            180                 185                 190
Ala Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Ser Pro Glu Leu
        195                 200                 205
Asn Val Asp Leu Ala Ala Ser Asp Ile Lys Pro Asp Lys Lys Arg His
    210                 215                 220
Ala Val Ile Ser Gly Ser Val Leu Tyr Asn Gln Ala Glu Lys Gly Ser
225                 230                 235                 240
Tyr Ser Leu Gly Ile Phe Gly Gly Gln Ala Gln Glu Val Ala Gly Ser
                245                 250                 255
Ala Glu Val Glu Thr Ala Asn Gly Ile Arg His Ile Gly Leu Ala Ala
            260                 265                 270
Lys Gln
```

<210> 8
<211> 274
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 8

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

<210> 9
<211> 274
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 9

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

<210> 10
<211> 273
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 10

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


Phe Ile Arg Gln Ile Glu Val Asp Gly Gln Leu Ile Thr Leu Glu Ser
            100                 105                 110
Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Gln Asp His Ser Ala Val Val Ala Leu
        115                 120                 125
Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys Ile Asp Ser Leu Ile Asn
    130                 135                 140
Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly Gly Glu His Thr Ala Phe
145                 150                 155                 160
Asn Gln Leu Pro Asp Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser
                165                 170                 175
Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala Ala
            180                 185                 190
Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Thr Pro Glu Gln Asn
        195                 200                 205
Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala
    210                 215                 220
Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser Glu Glu Lys Gly Thr Tyr
225                 230                 235                 240
His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala
                245                 250                 255
Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys
            260                 265                 270
Gln
```

<210> 11
<211> 273
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 11

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

                245                 250                 255
Thr Val Lys Ile Arg Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys
            260                 265                 270
Gln
```

<210> 12
<211> 273
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 12

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

<210> 13
<211> 273
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 13

```
Met Asn Arg Thr Ala Phe Cys Cys Leu Ser Leu Thr Ala Ala Leu Ile
 1               5                  10                  15
Leu Thr Ala Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly
            20                  25                  30
Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp Lys
        35                  40                  45
```

```
Ser Leu Gln Ser Leu Thr Leu Asp Gln Ser Val Arg Lys Asn Glu Lys
    50                  55                  60
Leu Lys Leu Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Tyr Gly Asn Gly Asp
65                  70                  75                  80
Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Val Ser Arg Phe Asp
                85                  90                  95
Phe Ile Arg Gln Ile Glu Val Asp Gly Gln Leu Ile Thr Leu Glu Ser
            100                 105                 110
Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Gln Asp His Ser Ala Val Val Ala Leu
        115                 120                 125
Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys Ile Asp Ser Leu Ile Asn
    130                 135                 140
Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly Gly Glu His Thr Ala Phe
145                 150                 155                 160
Asn Gln Leu Pro Ser Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser
                165                 170                 175
Ser Asp Asp Pro Asn Gly Arg Leu His Tyr Ser Ile Asp Phe Thr Lys
            180                 185                 190
Lys Gln Gly Tyr Gly Arg Ile Glu His Leu Lys Thr Pro Glu Gln Asn
        195                 200                 205
Val Glu Leu Ala Ser Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala
    210                 215                 220
Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Gly Glu Glu Lys Gly Thr Tyr
225                 230                 235                 240
His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala
                245                 250                 255
Thr Val Lys Ile Arg Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys
            260                 265                 270
Gln
```

<210> 14
<211> 273
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 14

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

        195                 200                 205
Val Glu Leu Ala Ser Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala
    210                 215                 220
Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser Glu Glu Lys Gly Thr Tyr
225                 230                 235                 240
His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala
                245                 250                 255
Thr Val Lys Ile Arg Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys
            260                 265                 270
Gln
```

<210> 15
<211> 273
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 15

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

<210> 16
<211> 273
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 16

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

<210> 17
<211> 273
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 17

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

145                 150                 155                 160
Asn Gln Leu Pro Asp Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser
                165                 170                 175
Ser Asp Asp Pro Asn Gly Arg Leu His Tyr Ser Ile Asp Phe Thr Lys
            180                 185                 190
Lys Gln Gly Tyr Gly Arg Ile Glu His Leu Lys Thr Pro Glu Gln Asn
        195                 200                 205
Val Glu Leu Ala Ser Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala
    210                 215                 220
Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Gly Glu Glu Lys Gly Thr Tyr
225                 230                 235                 240
His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala
                245                 250                 255
Thr Val Lys Ile Arg Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys
            260                 265                 270
Gln
```

<210> 18
<211> 281
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 18

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

<210> 19
<211> 281
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 19

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

<210> 20
<211> 281
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 20

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

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

<210> 21
<211> 279
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 21

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

Glu Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu
            260                 265                 270
Ile Gly Ile Ala Gly Lys Gln
        275
```

<210> 22
<211> 281
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 22

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

<210> 23
<211> 279
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 23

```
Met Asn Arg Thr Thr Phe Cys Cys Leu Ser Leu Thr Ala Gly Pro Asp
 1               5                  10                  15
Ser Asp Arg Leu Gln Gln Arg Arg Gly Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala
            20                  25                  30
Asp Ile Gly Thr Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His
        35                  40                  45
Lys Asp Lys Gly Leu Lys Ser Leu Thr Leu Glu Ala Ser Ile Pro Gln
```

```
    50                  55                  60
Asn Gly Thr Leu Thr Leu Ser Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Phe Lys
65                  70                  75                  80
Ala Gly Gly Lys Asp Asn Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp
                85                  90                  95
Lys Ile Ser Arg Phe Asp Phe Val Gln Lys Ile Glu Val Asp Gly Gln
            100                 105                 110
Thr Ile Thr Leu Ala Ser Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Gln Asp His
        115                 120                 125
Ser Ala Val Val Ala Leu Arg Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys
    130                 135                 140
Ile Asp Ser Leu Ile Asn Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser Asp Leu Gly
145                 150                 155                 160
Gly Glu His Thr Ala Phe Asn Gln Leu Pro Asp Gly Lys Ala Glu Tyr
                165                 170                 175
His Gly Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp Ala Asp Gly Lys Leu Thr Tyr
            180                 185                 190
Thr Ile Asp Phe Ala Ala Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu
        195                 200                 205
Lys Thr Pro Glu Gln Asn Val Glu Leu Ala Ser Ala Glu Leu Lys Ala
    210                 215                 220
Asp Glu Lys Ser His Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Gly
225                 230                 235                 240
Glu Glu Lys Gly Thr Tyr Arg Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln
                245                 250                 255
Glu Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu
            260                 265                 270
Ile Gly Ile Ala Asp Lys Gln
        275
```

<210> 24
<211> 255
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 24

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

Ser Gly Ser Val Leu Tyr Asn Gln Ala Glu Lys Gly Ser Tyr Ser Leu
    210                 215                 220
Gly Ile Phe Gly Gly Lys Ala Gln Glu Val Ala Gly Ser Ala Glu Val
225                 230                 235                 240
Lys Thr Val Asn Gly Ile Arg His Ile Gly Leu Ala Ala Lys Gln
                245                 250                 255
```

<210> 25
<211> 255
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 25

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

<210> 26
<211> 255
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 26

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

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

<210> 27
<211> 255
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 27

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

<210> 28
<211> 260
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 28

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

<210> 29
<211> 255
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 29

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

```
                100                 105                 110
Gln Val Gln Asp Ser Glu His Ser Gly Lys Met Val Ala Lys Arg Gln
            115                 120                 125
Phe Arg Ile Gly Asp Ile Ala Gly Glu His Thr Ser Phe Asp Lys Leu
        130                 135                 140
Pro Glu Gly Gly Arg Ala Thr Tyr Arg Gly Thr Ala Phe Gly Ser Asp
145                 150                 155                 160
Asp Ala Ser Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala Ala Lys Gln
                165                 170                 175
Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Ser Pro Glu Leu Asn Val Asp
            180                 185                 190
Leu Ala Ala Ser Asp Ile Lys Pro Asp Lys Lys Arg His Ala Val Ile
            195                 200                 205
Ser Gly Ser Val Leu Tyr Asn Gln Ala Glu Lys Gly Ser Tyr Ser Leu
        210                 215                 220
Gly Ile Phe Gly Gly Gln Ala Gln Glu Val Ala Gly Ser Ala Glu Val
225                 230                 235                 240
Glu Thr Ala Asn Gly Ile Arg His Ile Gly Leu Ala Ala Lys Gln
                245                 250                 255
```

<210> 30
<211> 255
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 30

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

<210> 31
<211> 255
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 31

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

<210> 32
<211> 255
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 32

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

145                 150                 155                 160
Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala Ala Lys Gln
                165                 170                 175
Gly Tyr Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Ser Pro Glu Leu Asn Val Asp
            180                 185                 190
Leu Ala Ala Ala Asp Ile Lys Pro Asp Glu Lys His His Ala Val Ile
        195                 200                 205
Ser Gly Ser Val Leu Tyr Asn Gln Asp Glu Lys Gly Ser Tyr Ser Leu
    210                 215                 220
Gly Ile Phe Gly Gly Glu Ala Gln Glu Val Ala Gly Ser Ala Glu Val
225                 230                 235                 240
Lys Thr Ala Asn Gly Ile His His Ile Gly Leu Ala Ala Lys Gln
                245                 250                 255
```

<210> 33
<211> 254
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 33

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

<210> 34
<211> 254
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 34

```
Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly Ala Gly Leu
 1               5                  10                  15
```

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

<210> 35
<211> 254
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 35

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

        195                 200                 205
Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Gly Glu Glu Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala
    210                 215                 220
Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys
225                 230                 235                 240
Ile Arg Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys Gln
                245                 250
```

<210> 36
<211> 254
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 36

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

<210> 37
<211> 254
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 37

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

```
Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Val Ser Arg Phe Asp Phe Ile Arg
65                  70                  75                  80
Gln Ile Glu Val Asp Gly Gln Leu Ile Thr Leu Glu Ser Gly Glu Phe
                85                  90                  95
Gln Ile Tyr Lys Gln Asp His Ser Ala Val Val Ala Leu Gln Ile Glu
            100                 105                 110
Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys Ile Asp Ser Leu Ile Asn Gln Arg Ser
        115                 120                 125
Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly Gly Glu His Thr Ala Phe Asn Gln Leu
    130                 135                 140
Pro Gly Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp
145                 150                 155                 160
Pro Asn Gly Arg Leu His Tyr Ser Ile Asp Phe Thr Lys Lys Gln Gly
                165                 170                 175
Tyr Gly Arg Ile Glu His Leu Lys Thr Pro Glu Gln Asn Val Glu Leu
            180                 185                 190
Ala Ser Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala Val Ile Leu
        195                 200                 205
Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser Glu Glu Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala
    210                 215                 220
Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys
225                 230                 235                 240
Ile Arg Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys Gln
                245                 250
```

<210> 38
<211> 254
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 38

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

                245                 250
```

<210> 39
<211> 254
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 39

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

<210> 40
<211> 254
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 40

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

```
Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys Ile Asp Ser Leu Ile Asn Gln Arg Ser
        115                 120                 125
Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly Gly Glu His Thr Ala Phe Asn Gln Leu
    130                 135                 140
Pro Asp Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp
145                 150                 155                 160
Pro Asn Gly Arg Leu His Tyr Ser Ile Asp Phe Thr Lys Lys Gln Gly
                165                 170                 175
Tyr Gly Arg Ile Glu His Leu Lys Thr Pro Glu Gln Asn Val Glu Leu
            180                 185                 190
Ala Ser Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala Val Ile Leu
        195                 200                 205
Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Gly Glu Glu Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala
    210                 215                 220
Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys
225                 230                 235                 240
Ile Arg Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys Gln
                245                 250
```

<210> 41
<211> 262
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 41

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

<210> 42
<211> 262
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 42

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

<210> 43
<211> 262
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 43

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

Asp Ser Leu Ile Asn Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly Gly
    130                 135                 140
Glu His Thr Ala Phe Asn Gln Leu Pro Gly Gly Lys Ala Glu Tyr His
145                 150                 155                 160
Gly Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr
                165                 170                 175
Ile Asp Phe Ala Ala Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys
            180                 185                 190
Thr Pro Glu Gln Asn Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala Asp
        195                 200                 205
Glu Lys Ser His Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser Glu
    210                 215                 220
Glu Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu
225                 230                 235                 240
Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu Ile
                245                 250                 255
Gly Ile Ala Gly Lys Gln
            260
```

<210> 44
<211> 260
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 44

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

<210> 45
<211> 262
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 45

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

<210> 46
<211> 12
<212> PRT
<213> *Neisseria gonorrhoeae*

<400> 46

```
Gly Pro Asp Ser Asp Arg Leu Gln Gln Arg Arg Gly
 1               5                  10
```

<210> 47
<211> 30
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 47
cgcggatccc atatggtcgc cgccgacatc 30

<210> 48
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Cebador de amplificación

<400> 48
cccgctcgag ttgcttggcg gcaaggc 27

<210> 49
<211> 65
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 49

cgcggatccc atatgggccc tgattctgac cgcctgcagc agcggagggt cgccgccgac 60
atcgg 65

<210> 50
<211> 28
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 50
cccgctcgag ctgtttgccg gcgatgcc 28

<210> 51
<211> 65
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 51

cgcggatccc atatgggccc tgattctgac cgcctgcagc agcggagggg aggggtggt 60
gtcgc 65

<210> 52
<211> 28
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 52
gcccaagctt ctgtttgccg gcgatgcc 28

<210> 53
<211> 37
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 53
cgcggatccc atatgaatcg aactgccttc tgctgcc 37

<210> 54
<211> 30
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 54
cccgctcgag ttattgcttg gcggcaaggc 30

<210> 55
<211> 17
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 55
gacctgcctc attgatg 17

<210> 56
<211> 25
<212> ADN
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 56
cggtaaatta tcgtgttcgg acggc 25

<210> 57
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 57
caaatcgaag tggacgggca g 21

<210> 58
<211> 23
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 58
tgttcgattt tgccgtttcc ctg 23

<210> 59
<211> 24
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 59
gctctagacc agccaggcgc atac 24

<210> 60
<211> 29
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 60
tcccccgggg acggcatttt gtttacagg 29

<210> 61
<211> 28
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 61
tcccccgggc gccaagcaat aaccattg 28

<210> 62
<211> 28
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 62
cccgctcgag cagcgtatcg aaccatgc 28

<210> 63
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 63
gctctagatt ctttcccaag aactctc 27

<210> 64
<211> 26
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 64
tcccccgggc ccgtatcatc caccac 26

<210> 65
<211> 26
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 65
tcccccggga tccacgcaaa tacccc 26

<210> 66
<211> 28
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 66
cccgctcgag atataagtgg aagacgga 28

<210> 67
<211> 6
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 67

Leu Asn Gln Ile Val Lys
1 5

<210> 68
<211> 20
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 68

Val Asn Arg Thr Ala Phe Cys Cys Leu Ser Leu Thr Thr Ala Leu Ile
1 5 10 15
Leu Thr Ala Cys
20

<210> 69
<211> 240
<212> ADN
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 69

aattgaacca aatcgtcaaa taacaggttg cctgtaaaca aaatgccgtc tgaaccgccg 60
ttcggacgac atttgatttt tgcttctttg acctgcctca ttgatgcggt atgcaaaaaa 120
agataccata accaaaatgt ttatatatta tctattctgc gtatgactag gagtaaacct 180
gtgaatcgaa ctgccttctg ctgccttttct ctgaccactg ccctgattct gaccgcctgc 240

<210> 70
<211> 5
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 70

Thr Arg Ser Lys Pro
1 5

<210> 71
<211> 6
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 71

Thr Arg Ser Lys Pro Val
1 5

<210> 72
<211> 7
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 72

Pro Ser Glu Pro Pro Phe Gly
1 5

<210> 73
<211> 4
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Tetrapéptido Gly4

<400> 73

Gly Gly Gly Gly
1

<210> 74
<211> 19
<212> ADN
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 74
cataaccaaa atgtttata 19

<210> 75
<211> 19
<212> ADN
<213> *Escherichia coli*

<400> 75
gataatgata atcattatc 19

<210> 76
<211> 179
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 76

```
Val Ser Ala Val Ile Gly Ser Ala Ala Val Gly Ala Lys Ser Ala Val
 1               5                  10                  15
Asp Arg Arg Thr Thr Gly Ala Gln Thr Asp Asp Asn Val Met Ala Leu
            20                  25                  30
Arg Ile Glu Thr Thr Ala Arg Ser Tyr Leu Arg Gln Asn Asn Gln Thr
        35                  40                  45

Lys Gly Tyr Thr Pro Gln Ile Ser Val Val Gly Tyr Asn Arg His Leu
    50                  55                  60
Leu Leu Leu Gly Gln Val Ala Thr Glu Gly Glu Lys Gln Phe Val Gly
65                  70                  75                  80
Gln Ile Ala Arg Ser Glu Gln Ala Ala Glu Gly Val Tyr Asn Tyr Ile
                85                  90                  95
Thr Val Ala Ser Leu Pro Arg Thr Ala Gly Asp Ile Ala Gly Asp Thr
            100                 105                 110
Trp Asn Thr Ser Lys Val Arg Ala Thr Leu Leu Gly Ile Ser Pro Ala
        115                 120                 125
Thr Gln Ala Arg Val Lys Ile Val Thr Tyr Gly Asn Val Thr Tyr Val
    130                 135                 140
Met Gly Ile Leu Thr Pro Glu Glu Gln Ala Gln Ile Thr Gln Lys Val
145                 150                 155                 160
Ser Thr Thr Val Gly Val Gln Lys Val Ile Thr Leu Tyr Gln Asn Tyr
                165                 170                 175
Val Gln Arg
```

<210> 77
<211> 436
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Proteína híbrida de meningococo

<400> 77

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

Leu Ala Ser Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Gln Asn His Ser Ala Val
        275                 280                 285
Val Ala Leu Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys Thr Asp Ser
    290                 295                 300
Leu Ile Asn Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly Gly Glu His
305                 310                 315                 320
Thr Ala Phe Asn Gln Leu Pro Gly Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly Lys
                325                 330                 335
Ala Phe Ser Ser Asp Asp Pro Asn Gly Arg Leu His Tyr Ser Ile Asp
            340                 345                 350
Phe Thr Lys Lys Gln Gly Tyr Gly Arg Ile Glu His Leu Lys Thr Leu
        355                 360                 365
Glu Gln Asn Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys
    370                 375                 380
Ser His Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser Glu Glu Lys
385                 390                 395                 400
Gly Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala
                405                 410                 415
Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile
            420                 425                 430
Ala Gly Lys Gln
        435
```

<210> 78
<211> 13
<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> enlazador sintético

<400> 78

Gly Ser Gly Pro Asp Ser Asp Arg Leu Gln Gln Arg Arg
1 5 10

<210> 79
<211> 508
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Proteína en tándem de meningococo

<400> 79

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

```
    130                 135                 140
Tyr Arg Gly Thr Ala Phe Gly Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr
145                 150                 155                 160
Tyr Thr Ile Asp Phe Ala Ala Lys Gln Gly Asn Gly Lys Ile Glu His
                165                 170                 175
Leu Lys Ser Pro Glu Leu Asn Val Asp Leu Ala Ala Ala Asp Ile Lys
            180                 185                 190
Pro Asp Gly Lys Arg His Ala Val Ile Ser Gly Ser Val Leu Tyr Asn
        195                 200                 205
Gln Ala Glu Lys Gly Ser Tyr Ser Leu Gly Ile Phe Gly Gly Lys Ala
    210                 215                 220
Gln Glu Val Ala Gly Ser Ala Glu Val Lys Thr Val Asn Gly Ile Arg
225                 230                 235                 240
His Ile Gly Leu Ala Ala Lys Gln Gly Ser Gly Pro Asp Ser Asp Arg
                245                 250                 255
Leu Gln Gln Arg Arg Val Ala Ala Asp Ile Gly Ala Gly Leu Ala Asp
            260                 265                 270
Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp Lys Ser Leu Gln Ser Leu
        275                 280                 285
Thr Leu Asp Gln Ser Val Arg Lys Asn Glu Lys Leu Lys Leu Ala Ala
    290                 295                 300
Gln Gly Ala Glu Lys Thr Tyr Gly Asn Gly Asp Ser Leu Asn Thr Gly
305                 310                 315                 320
Lys Leu Lys Asn Asp Lys Val Ser Arg Phe Asp Phe Ile Arg Gln Ile
                325                 330                 335
Glu Val Asp Gly Gln Leu Ile Thr Leu Glu Ser Gly Glu Phe Gln Ile
            340                 345                 350
Tyr Lys Gln Asp His Ser Ala Val Val Ala Leu Gln Ile Glu Lys Ile
        355                 360                 365
Asn Asn Pro Asp Lys Ile Asp Ser Leu Ile Asn Gln Arg Ser Phe Leu
    370                 375                 380
Val Ser Gly Leu Gly Gly Glu His Thr Ala Phe Asn Gln Leu Pro Asp
385                 390                 395                 400
Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp Ala Gly
                405                 410                 415
Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala Ala Lys Gln Gly His Gly
            420                 425                 430
Lys Ile Glu His Leu Lys Thr Pro Glu Gln Asn Val Glu Leu Ala Ala
        435                 440                 445
Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala Val Ile Leu Gly Asp
    450                 455                 460
Thr Arg Tyr Gly Ser Glu Glu Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe
465                 470                 475                 480
Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly
                485                 490                 495
Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys Gln
            500                 505
```

<210> 80
<211> 248
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 80

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

Lys Val Ser Arg Phe Asp Phe Ile Arg Gln Ile Glu Val Asp Gly Gln
65                  70                  75                  80
Leu Ile Thr Leu Glu Ser Gly Glu Phe Gln Val Tyr Lys Gln Ser His
                85                  90                  95
Ser Ala Leu Thr Ala Phe Gln Thr Glu Gln Ile Gln Asp Ser Glu His
            100                 105                 110
Ser Gly Lys Met Val Ala Lys Arg Gln Phe Arg Ile Gly Asp Ile Ala
        115                 120                 125
Gly Glu His Thr Ser Phe Asp Lys Leu Pro Glu Gly Gly Arg Ala Thr
    130                 135                 140
Tyr Arg Gly Thr Ala Phe Gly Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr
145                 150                 155                 160
Tyr Thr Ile Asp Phe Ala Ala Lys Gln Gly Asn Gly Lys Ile Glu His
                165                 170                 175
Leu Lys Ser Pro Glu Leu Asn Val Asp Leu Ala Ala Ala Asp Ile Lys
            180                 185                 190
Pro Asp Gly Lys Arg His Ala Val Ile Ser Gly Ser Val Leu Tyr Asn
        195                 200                 205
Gln Ala Glu Lys Gly Ser Tyr Ser Leu Gly Ile Phe Gly Gly Lys Ala
    210                 215                 220
Gln Glu Val Ala Gly Ser Ala Glu Val Lys Thr Val Asn Gly Ile Arg
225                 230                 235                 240
His Ile Gly Leu Ala Ala Lys Gln
                245
```

<210> 81
<211> 247
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 81

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

245

<210> 82
<211> 501
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Proteína en tándem de meningococo

<400> 82

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

```
                405                 410                 415
Asp Phe Ala Ala Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Thr
            420                 425                 430
Pro Glu Gln Asn Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu
        435                 440                 445
Lys Ser His Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser Glu Glu
    450                 455                 460
Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile
465                 470                 475                 480
Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu Ile Gly
                485                 490                 495
Ile Ala Gly Lys Gln
            500
```

<210> 83
<211> 511
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Proteína en tándem de meningococo

<400> 83

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

```
305                 310                 315                 320
Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Ile Ser Arg Phe Asp Phe Val
                325                 330                 335
Gln Lys Ile Glu Val Asp Gly Gln Thr Ile Thr Leu Ala Ser Gly Glu
            340                 345                 350
Phe Gln Ile Tyr Lys Gln Asn His Ser Ala Val Val Ala Leu Gln Ile
        355                 360                 365
Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys Thr Asp Ser Leu Ile Asn Gln Arg
    370                 375                 380
Ser Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly Gly Glu His Thr Ala Phe Asn Gln
385                 390                 395                 400
Leu Pro Gly Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser Ser Asp
                405                 410                 415
Asp Pro Asn Gly Arg Leu His Tyr Ser Ile Asp Phe Thr Lys Lys Gln
            420                 425                 430
Gly Tyr Gly Arg Ile Glu His Leu Lys Thr Leu Glu Gln Asn Val Glu
        435                 440                 445
Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala Val Ile
    450                 455                 460
Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser Glu Glu Lys Gly Thr Tyr His Leu
465                 470                 475                 480
Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val
                485                 490                 495
Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys Gln
            500                 505                 510
```

<210> 84
<211> 250
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 84

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

                Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys Gln
                245                 250
```

<210> 85
<211> 504
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Proteína en tándem de meningococo

<400> 85

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

```
Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp Pro Asn Gly Arg Leu His
                405                 410                 415
Tyr Ser Ile Asp Phe Thr Lys Lys Gln Gly Tyr Gly Arg Ile Glu His
            420                 425                 430
Leu Lys Thr Leu Glu Gln Asn Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys
        435                 440                 445
Ala Asp Glu Lys Ser His Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly
    450                 455                 460
Ser Glu Glu Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala
465                 470                 475                 480
Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His
                485                 490                 495
Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys Gln
            500
```

<210> 86
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> enlazador sintético

<400> 86

```
Gly Pro Asp Ser Asp Arg Leu Gln Gln Arg Arg
 1               5                  10
```

<210> 87
<211> 521
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Proteína en tándem de meningococo

<400> 87

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

```
         195                 200                 205
Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser Glu Glu Lys Gly Thr
    210                 215                 220
Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser
225                 230                 235                 240
Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly
                245                 250                 255
Lys Gln Gly Ser Gly Pro Asp Ser Asp Arg Leu Gln Gln Arg Arg Val
            260                 265                 270
Ala Ala Asp Ile Gly Thr Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu
        275                 280                 285
Asp His Lys Asp Lys Gly Leu Lys Ser Leu Thr Leu Glu Asp Ser Ile
    290                 295                 300
Pro Gln Asn Gly Thr Leu Thr Leu Ser Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr
305                 310                 315                 320
Phe Lys Ala Gly Asp Lys Asp Asn Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys
                325                 330                 335
Asn Asp Lys Ile Ser Arg Phe Asp Phe Val Gln Lys Ile Glu Val Asp
            340                 345                 350
Gly Gln Thr Ile Thr Leu Ala Ser Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Gln
        355                 360                 365
Asn His Ser Ala Val Val Ala Leu Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro
    370                 375                 380
Asp Lys Thr Asp Ser Leu Ile Asn Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser Gly
385                 390                 395                 400
Leu Gly Gly Glu His Thr Ala Phe Asn Gln Leu Pro Gly Gly Lys Ala
                405                 410                 415
Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp Pro Asn Gly Arg Leu
            420                 425                 430
His Tyr Ser Ile Asp Phe Thr Lys Lys Gln Gly Tyr Gly Arg Ile Glu
        435                 440                 445
His Leu Lys Thr Leu Glu Gln Asn Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu
    450                 455                 460
Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr
465                 470                 475                 480
Gly Ser Glu Glu Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg
                485                 490                 495
Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val
            500                 505                 510
His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys Gln
        515                 520
```

<210> 88
<211> 514
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Proteína en tándem de meningococo

<400> 88

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

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

<210> 89
<211> 521
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Proteína en tándem de meningococo

<400> 89

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

```
Gly Ser Glu Glu Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg
                485                 490                 495
Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val
            500                 505                 510
His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys Gln
        515                 520
```

<210> 90
<211> 514
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Proteína en tándem de meningococo

<400> 90

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

```
Leu Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys Ile Asp Ser Leu Ile
    370                 375                 380
Asn Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly Gly Glu His Thr Ala
385                 390                 395                 400
Phe Asn Gln Leu Pro Asp Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe
                405                 410                 415
Ser Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala
            420                 425                 430
Ala Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Thr Pro Glu Gln
        435                 440                 445
Asn Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His
    450                 455                 460
Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser Glu Glu Lys Gly Thr
465                 470                 475                 480
Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser
                485                 490                 495
Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly
            500                 505                 510
Lys Gln
```

<210> 91
<211> 440
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Proteína híbrida de meningococo

<400> 91

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

Asp Lys Val Ser Arg Phe Asp Phe Ile Arg Gln Ile Glu Val Asp Gly
            260                 265                 270
Gln Leu Ile Thr Leu Glu Ser Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Gln Asp
        275                 280                 285
His Ser Ala Val Val Ala Leu Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp
    290                 295                 300
Lys Ile Asp Ser Leu Ile Asn Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser Gly Leu
305                 310                 315                 320
Gly Gly Glu His Thr Ala Phe Asn Gln Leu Pro Asp Gly Lys Ala Glu
                325                 330                 335
Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr
            340                 345                 350
Tyr Thr Ile Asp Phe Ala Ala Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His
        355                 360                 365
Leu Lys Thr Pro Glu Gln Asn Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys
    370                 375                 380
Ala Asp Glu Lys Ser His Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly
385                 390                 395                 400
Ser Glu Glu Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala
                405                 410                 415
Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His
            420                 425                 430
Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys Gln
        435                 440
```

<210> 92
<211> 433
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Proteína híbrida de meningococo

<400> 92

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

```
Leu Lys Leu Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Tyr Gly Asn Gly Asp
225                 230                 235                 240
Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Val Ser Arg Phe Asp
                245                 250                 255
Phe Ile Arg Gln Ile Glu Val Asp Gly Gln Leu Ile Thr Leu Glu Ser
            260                 265                 270
Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Gln Asp His Ser Ala Val Val Ala Leu
        275                 280                 285
Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys Ile Asp Ser Leu Ile Asn
    290                 295                 300
Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly Gly Glu His Thr Ala Phe
305                 310                 315                 320
Asn Gln Leu Pro Asp Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser
                325                 330                 335
Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala Ala
            340                 345                 350
Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Thr Pro Glu Gln Asn
        355                 360                 365
Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala
    370                 375                 380
Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser Glu Glu Lys Gly Thr Tyr
385                 390                 395                 400
His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala
                405                 410                 415
Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys
            420                 425                 430
Gln
```

<210> 93
<211> 443
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Proteína híbrida de meningococo

<400> 93

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

Arg Val Ala Ala Asp Ile Gly Thr Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala
        195                 200                 205
Pro Leu Asp His Lys Asp Lys Gly Leu Lys Ser Leu Thr Leu Glu Asp
    210                 215                 220
Ser Ile Pro Gln Asn Gly Thr Leu Thr Leu Ser Ala Gln Gly Ala Glu
225                 230                 235                 240
Lys Thr Phe Lys Ala Gly Asp Lys Asp Asn Ser Leu Asn Thr Gly Lys
                245                 250                 255
Leu Lys Asn Asp Lys Ile Ser Arg Phe Asp Phe Val Gln Lys Ile Glu
            260                 265                 270
Val Asp Gly Gln Thr Ile Thr Leu Ala Ser Gly Glu Phe Gln Ile Tyr
        275                 280                 285
Lys Gln Asn His Ser Ala Val Val Ala Leu Gln Ile Glu Lys Ile Asn
    290                 295                 300
Asn Pro Asp Lys Thr Asp Ser Leu Ile Asn Gln Arg Ser Phe Leu Val
305                 310                 315                 320
Ser Gly Leu Gly Gly Glu His Thr Ala Phe Asn Gln Leu Pro Gly Gly
                325                 330                 335
Lys Ala Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp Pro Asn Gly
            340                 345                 350
Arg Leu His Tyr Ser Ile Asp Phe Thr Lys Lys Gln Gly Tyr Gly Arg
        355                 360                 365
Ile Glu His Leu Lys Thr Leu Glu Gln Asn Val Glu Leu Ala Ala Ala
    370                 375                 380
Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr
385                 390                 395                 400
Arg Tyr Gly Ser Glu Glu Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly
                405                 410                 415
Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu
            420                 425                 430
Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys Gln
        435                 440
```

<210> 94
<211> 436
<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Proteína híbrida de meningococo

<400> 94

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

```
Val Ser Thr Thr Val Gly Val Gln Lys Val Ile Thr Leu Tyr Gln Asn
                165                 170                 175
Tyr Val Gln Arg Gly Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly
            180                 185                 190
Thr Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp Lys
        195                 200                 205
Gly Leu Lys Ser Leu Thr Leu Glu Asp Ser Ile Pro Gln Asn Gly Thr
    210                 215                 220
Leu Thr Leu Ser Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Phe Lys Ala Gly Asp
225                 230                 235                 240
Lys Asp Asn Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Ile Ser
                245                 250                 255
Arg Phe Asp Phe Val Gln Lys Ile Glu Val Asp Gly Gln Thr Ile Thr
            260                 265                 270
Leu Ala Ser Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Gln Asn His Ser Ala Val
        275                 280                 285
Val Ala Leu Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys Thr Asp Ser
    290                 295                 300
Leu Ile Asn Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly Gly Glu His
305                 310                 315                 320
Thr Ala Phe Asn Gln Leu Pro Gly Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly Lys
                325                 330                 335
Ala Phe Ser Ser Asp Asp Pro Asn Gly Arg Leu His Tyr Ser Ile Asp
            340                 345                 350
Phe Thr Lys Lys Gln Gly Tyr Gly Arg Ile Glu His Leu Lys Thr Leu
        355                 360                 365
Glu Gln Asn Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys
    370                 375                 380
Ser His Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser Glu Glu Lys
385                 390                 395                 400
Gly Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala
                405                 410                 415
Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile
            420                 425                 430
Ala Gly Lys Gln
        435
```

<210> 95
<211> 26
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 95
cgcggatccg gccctgattc tgaccg 26

<210> 96
<211> 28
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 96
cccgctcgag ctgtttgccg gcgatgcc 28

<210> 97
<211> 25
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 97
cgcggatccg gagggggtgg tgtcg 25

<210> 98
<211> 28
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 98
cccgctcgag ctgtttgccg gcgatgcc 28

<210> 99
<211> 26
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 99
cgcggatccg gccctgattc tgaccg 26

<210> 100
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 100
cccaagcttc tgtttgccgg cgatgcc 27

<210> 101
<211> 25
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 101
cgcggatccg gagggggtgg tgtcg 25

<210> 102
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 102
cccaagcttc tgtttgccgg cgatgcc 27

<210> 103
<211> 26
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 103
cgcggatccg gccctgattc tgaccg 26

<210> 104
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 104
cccaagcttc tgtttgccgg cgatgcc 27

<210> 105
<211> 25
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 105
cgcggatccg gaggggggtgg tgtcg 25

<210> 106
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 106
cccaagcttc tgtttgccgg cgatgcc 27

<210> 107
<211> 26
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 107
cgcggatccg gccctgattc tgaccg 26

<210> 108
<211> 28
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 108
cccgctcgag ctgtttgccg gcgatgcc 28

<210> 109
<211> 25
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 109
cgcggatccg gaggggtgg tgtcg 25

<210> 110
<211> 28
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 110
cccgctcgag ctgtttgccg gcgatgcc 28

<210> 111
<211> 26
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 111
cgcggatccg gccctgattc tgaccg 26

<210> 112
<211> 28
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 112
cccgctcgag ctgtttgccg gcgatgcc 28

<210> 113
<211> 25
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 113
cgcggatccg gaggggtgg tgtcg 25

<210> 114
<211> 28
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 114
cccgctcgag ctgtttgccg gcgatgcc 28

<210> 115
<211> 26
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 115
cgcggatccg gccctgattc tgaccg 26

<210> 116
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 116
cccaagcttc tgtttgccgg cgatgcc 27

<210> 117
<211> 25
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 117
cgcggatccg gaggggtgg tgtcg 25

<210> 118
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 118
cccaagcttc tgtttgccgg cgatgcc 27

<210> 119
<211> 32
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 119
cgcggatccc atatgggccc tgattctgac cg 32

<210> 120
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 120
cgcggatccc tgtttgccgg cgatgcc 27

<210> 121
<211> 32
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 121
cgcggatccc atatgggccc tgattctgac cg 32

<210> 122
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de amplificación

<400> 122
cgcggatccc tgtttgccgg cgatgcc 27

<210> 123
<211> 274
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 123

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

Asn Val Asp Leu Ala Ala Ser Asp Ile Lys Pro Asp Lys Lys Arg His
    210                 215                 220
Ala Val Ile Ser Gly Ser Val Leu Tyr Asn Gln Ala Glu Lys Gly Ser
225                 230                 235                 240
Tyr Ser Leu Gly Ile Phe Gly Gly Gln Ala Gln Glu Val Ala Gly Ser
                245                 250                 255
Ala Glu Val Glu Thr Ala Asn Gly Ile Arg His Ile Gly Leu Ala Ala
            260                 265                 270
Lys Gln
```

<210> 124
<211> 274
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 124

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

<210> 125
<211> 274
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 125

```
Met Asn Arg Thr Ala Phe Cys Cys Leu Ser Leu Thr Thr Ala Leu Ile
```

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

<210> 126
<211> 274
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 126

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

Asp Lys Leu Pro Lys Gly Asp Ser Ala Thr Tyr Arg Gly Thr Ala Phe
                165                 170                 175
Gly Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala
            180                 185                 190
Ala Lys Gln Gly Tyr Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Ser Pro Glu Leu
        195                 200                 205
Asn Val Asp Leu Ala Ala Ala Tyr Ile Lys Pro Asp Glu Lys His His
    210                 215                 220
Ala Val Ile Ser Gly Ser Val Leu Tyr Asn Gln Asp Glu Lys Gly Ser
225                 230                 235                 240
Tyr Ser Leu Gly Ile Phe Gly Gly Gln Ala Gln Glu Val Ala Gly Ser
                245                 250                 255
Ala Glu Val Lys Thr Ala Asn Gly Ile Arg His Ile Gly Leu Ala Ala
            260                 265                 270
Lys Gln
```

<210> 127
<211> 274
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 127

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

<210> 128
<211> 274
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 128

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

<210> 129
<211> 274
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 129

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

```
Gly Glu Phe Gln Val Tyr Lys Gln Ser His Ser Ala Leu Thr Ala Leu
        115                 120                 125
Gln Thr Glu Gln Val Gln Asp Ser Glu Asp Ser Gly Lys Met Val Ala
    130                 135                 140
Lys Arg Gln Phe Arg Ile Gly Asp Ile Ala Gly Glu His Thr Ser Phe
145                 150                 155                 160
Asp Lys Leu Pro Lys Gly Gly Ser Ala Thr Tyr Arg Gly Thr Ala Phe
                165                 170                 175
Gly Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala
            180                 185                 190
Ala Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Ser Pro Glu Leu
        195                 200                 205
Asn Val Glu Leu Ala Thr Ala Tyr Ile Lys Pro Asp Glu Lys Arg His
    210                 215                 220
Ala Val Ile Ser Gly Ser Val Leu Tyr Asn Gln Asp Glu Lys Gly Ser
225                 230                 235                 240
Tyr Ser Leu Gly Ile Phe Gly Gly Gln Ala Gln Glu Val Ala Gly Ser
                245                 250                 255
Ala Glu Val Glu Thr Ala Asn Gly Ile His His Ile Gly Leu Ala Ala
            260                 265                 270
Lys Gln
```

<210> 130
<211> 274
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 130

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

                260                 265                 270
    Lys Gln
```

<210> 131
<211> 273
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 131

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

<210> 132
<211> 273
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 132

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

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

<210> 133
<211> 273
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 133

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

    210                 215                 220
Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser Glu Glu Lys Gly Thr Tyr
225                 230                 235                 240
His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala
                245                 250                 255
Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys
            260                 265                 270
Gln
```

<210> 134
<211> 273
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 134

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

<210> 135
<211> 273
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 135

```
Met Asn Arg Thr Ala Phe Cys Cys Leu Ser Leu Thr Thr Ala Leu Ile
 1               5                  10                  15
```

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

<210> 136
<211> 273
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 136

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

                165                 170                 175
Phe Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala Ala
            180                 185                 190
Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Thr Pro Glu Gln Asn
        195                 200                 205
Val Glu Leu Ala Ser Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala
    210                 215                 220
Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Gly Glu Glu Lys Gly Thr Tyr
225                 230                 235                 240
His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala
                245                 250                 255
Thr Val Lys Ile Arg Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys
            260                 265                 270
Gln
```

<210> 137
<211> 273
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 137

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

<210> 138
<211> 281
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 138

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

<210> 139
<211> 250
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 139

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

```
          115                 120                 125
Gln Thr Glu Gln Ile Gln Asp Ser Glu His Ser Gly Lys Met Val Ala
    130                 135                 140
Lys Arg Gln Phe Arg Ile Gly Asp Ile Ala Gly Glu His Thr Ser Phe
145                 150                 155                 160
Asp Lys Leu Pro Glu Gly Gly Arg Ala Thr Tyr Arg Gly Thr Ala Phe
                165                 170                 175
Gly Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala
            180                 185                 190
Ala Lys Gln Gly Asn Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Ser Pro Glu Leu
        195                 200                 205
Asn Val Asp Leu Ala Ala Ala Asp Ile Lys Pro Asp Gly Lys Arg His
    210                 215                 220
Ala Val Ile Ser Gly Ser Val Leu Tyr Asn Gln Ala Glu Lys Gly Ser
225                 230                 235                 240
Tyr Ser Leu Gly Ile Phe Gly Gly Lys Ala
                245                 250
```

<210> 140
<211> 282
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 140

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

<210> 141
<211> 275
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 141

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

<210> 142
<211> 757
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Proteína en tándem de meningococo

<400> 142

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

```
Leu Ile Thr Leu Glu Ser Gly Glu Phe Gln Val Tyr Lys Gln Ser His
                85                  90                  95
Ser Ala Leu Thr Ala Phe Gln Thr Glu Gln Ile Gln Asp Ser Glu His
            100                 105                 110
Ser Gly Lys Met Val Ala Lys Arg Gln Phe Arg Ile Gly Asp Ile Ala
        115                 120                 125
Gly Glu His Thr Ser Phe Asp Lys Leu Pro Glu Gly Gly Arg Ala Thr
    130                 135                 140
Tyr Arg Gly Thr Ala Phe Gly Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr
145                 150                 155                 160
Tyr Thr Ile Asp Phe Ala Ala Lys Gln Gly Asn Gly Lys Ile Glu His
                165                 170                 175
Leu Lys Ser Pro Glu Leu Asn Val Asp Leu Ala Ala Ala Asp Ile Lys
            180                 185                 190
Pro Asp Gly Lys Arg His Ala Val Ile Ser Gly Ser Val Leu Tyr Asn
        195                 200                 205
Gln Ala Glu Lys Gly Ser Tyr Ser Leu Gly Ile Phe Gly Gly Lys Ala
    210                 215                 220
Gln Glu Val Ala Gly Ser Ala Glu Val Lys Thr Val Asn Gly Ile Arg
225                 230                 235                 240
His Ile Gly Leu Ala Ala Lys Gln Gly Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala
                245                 250                 255
Ala Asp Ile Gly Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp
            260                 265                 270
His Lys Asp Lys Ser Leu Gln Ser Leu Thr Leu Asp Gln Ser Val Arg
        275                 280                 285
Lys Asn Glu Lys Leu Lys Leu Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Tyr
    290                 295                 300
Gly Asn Gly Asp Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Val
305                 310                 315                 320
Ser Arg Phe Asp Phe Ile Arg Gln Ile Glu Val Asp Gly Gln Leu Ile
                325                 330                 335
Thr Leu Glu Ser Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Gln Asp His Ser Ala
            340                 345                 350
Val Val Ala Leu Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys Ile Asp
        355                 360                 365
Ser Leu Ile Asn Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly Gly Glu
    370                 375                 380
His Thr Ala Phe Asn Gln Leu Pro Asp Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly
385                 390                 395                 400
Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile
                405                 410                 415
Asp Phe Ala Ala Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Thr
            420                 425                 430
Pro Glu Gln Asn Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu
        435                 440                 445
Lys Ser His Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser Glu Glu
    450                 455                 460
Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile
465                 470                 475                 480
Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu Ile Gly
                485                 490                 495
Ile Ala Gly Lys Gln Gly Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile
            500                 505                 510
Gly Thr Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp
        515                 520                 525
Lys Gly Leu Lys Ser Leu Thr Leu Glu Asp Ser Ile Pro Gln Asn Gly
    530                 535                 540
Thr Leu Thr Leu Ser Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Phe Lys Ala Gly
545                 550                 555                 560
Asp Lys Asp Asn Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Ile
                565                 570                 575
Ser Arg Phe Asp Phe Val Gln Lys Ile Glu Val Asp Gly Gln Thr Ile
```

```
                580                 585                 590
Thr Leu Ala Ser Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Gln Asn His Ser Ala
        595                 600                 605
Val Val Ala Leu Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys Thr Asp
    610                 615                 620
Ser Leu Ile Asn Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly Gly Glu
625                 630                 635                 640
His Thr Ala Phe Asn Gln Leu Pro Gly Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly
                645                 650                 655
Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp Pro Asn Gly Arg Leu His Tyr Ser Ile
            660                 665                 670
Asp Phe Thr Lys Lys Gln Gly Tyr Gly Arg Ile Glu His Leu Lys Thr
        675                 680                 685
Leu Glu Gln Asn Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu
    690                 695                 700
Lys Ser His Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser Glu Glu
705                 710                 715                 720
Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile
                725                 730                 735
Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu Ile Gly
            740                 745                 750
Ile Ala Gly Lys Gln
        755
```

<210> 143
<211> 405
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 143

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

Ala Asp Ile Ala Thr Asn Lys Asp Asn Ile Ala Lys Lys Ala Asn Ser
            260                 265                 270
Ala Asp Val Tyr Thr Arg Glu Glu Ser Asp Ser Lys Phe Val Arg Ile
        275                 280                 285
Asp Gly Leu Asn Ala Thr Thr Glu Lys Leu Asp Thr Arg Leu Ala Ser
    290                 295                 300
Ala Glu Lys Ser Ile Thr Glu His Gly Thr Arg Leu Asn Gly Leu Asp
305                 310                 315                 320
Arg Thr Val Ser Asp Leu Arg Lys Glu Thr Arg Gln Gly Leu Ala Glu
                325                 330                 335
Gln Ala Ala Leu Ser Gly Leu Phe Gln Pro Tyr Asn Val Gly Arg Phe
            340                 345                 350
Asn Val Thr Ala Ala Val Gly Gly Tyr Lys Ser Glu Ser Ala Val Ala
        355                 360                 365
Ile Gly Thr Gly Phe Arg Phe Thr Glu Asn Phe Ala Ala Lys Ala Gly
    370                 375                 380
Val Ala Val Gly Thr Ser Ser Gly Ser Ser Ala Ala Tyr His Val Gly
385                 390                 395                 400
Val Asn Tyr Glu Trp
                405
```

<210> 144
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Enlazador de glicina

<400> 144

Gly Ser Gly Gly Gly Gly
1 5

<210> 145
<211> 29
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador sintético

<400> 145
atcggcatgc gccgttcgga cgacatttg 29

<210> 146
<211> 30
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador sintético

<400> 146
aagaaggcct ttattgcttg gcggcaaggc 30

<210> 147
<211> 274
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 147

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

<210> 148
<211> 273
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 148

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

145                 150                 155                 160
Asn Gln Leu Pro Asp Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser
                165                 170                 175
Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala Ala
            180                 185                 190
Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Thr Pro Glu Gln Asn
        195                 200                 205
Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala
    210                 215                 220
Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser Glu Glu Lys Gly Thr Tyr
225                 230                 235                 240
His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala
                245                 250                 255
Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys
            260                 265                 270
Gln
```

<210> 149
<211> 281
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 149

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

<210> 150
<211> 274
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 150

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

<210> 151
<211> 274
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 151

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

```
                100                 105                 110
Gly Glu Phe Gln Val Tyr Lys Gln Ser His Ser Ala Leu Thr Ala Leu
        115                 120                 125
Gln Thr Glu Gln Val Gln Asp Ser Glu Asp Ser Gly Lys Met Val Ala
    130                 135                 140
Lys Arg Gln Phe Arg Ile Gly Asp Ile Ala Gly Glu Glu Thr Ser Phe
145                 150                 155                 160
Asp Lys Leu Pro Lys Gly Gly Ser Ala Thr Tyr Arg Gly Thr Ala Phe
                165                 170                 175
Gly Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala
            180                 185                 190
Ala Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Ser Pro Glu Leu
        195                 200                 205
Asn Val Glu Leu Ala Thr Ala Tyr Ile Lys Pro Asp Glu Lys His His
    210                 215                 220
Ala Val Ile Ser Gly Ser Val Leu Tyr Asn Gln Asp Glu Lys Gly Ser
225                 230                 235                 240
Tyr Ser Leu Gly Ile Phe Gly Gly Gln Ala Gln Glu Val Ala Gly Ser
                245                 250                 255
Ala Glu Val Glu Thr Ala Asn Gly Ile His His Ile Gly Leu Ala Ala
            260                 265                 270
Lys Gln
```

<210> 152
<211> 274
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 152

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

Ala Glu Val Glu Thr Ala Asn Gly Ile His His Ile Gly Leu Ala Ala
            260                 265                 270
Lys Gln
```

<210> 153
<211> 274
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 153

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

<210> 154
<211> 279
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 154

```
Met Asn Arg Thr Thr Phe Phe Cys Leu Ser Leu Thr Ala Ala Leu Ile
 1               5                  10                  15
Leu Thr Ala Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Val
            20                  25                  30
Ala Ala Asp Ile Gly Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu
        35                  40                  45
Asp His Lys Asp Lys Gly Leu Gln Ser Leu Thr Leu Asp Gln Ser Val
```

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

<210> 155
<211> 274
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 155

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

Asn Val Asp Leu Ala Ala Ser Asp Ile Lys Pro Asp Lys Lys Arg Arg
    210                 215                 220
Ala Val Ile Ser Gly Ser Val Leu Tyr Asn Gln Ala Glu Lys Gly Ser
225                 230                 235                 240
Tyr Ser Leu Gly Ile Phe Gly Gly Gln Ala Gln Glu Val Ala Gly Ser
                245                 250                 255
Ala Glu Val Glu Thr Ala Asn Gly Ile Arg His Ile Gly Leu Ala Ala
            260                 265                 270
Lys Gln
```

<210> 156
<211> 274
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 156

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

<210> 157
<211> 274
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 157

```
Met Asn Arg Thr Ala Phe Cys Cys Leu Ser Leu Thr Thr Ala Leu Ile
```

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

<210> 158
<211> 274
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 158

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

Asp Lys Leu Arg Glu Gly Gly Arg Ala Thr Tyr Arg Gly Thr Ala Phe
                165                 170                 175
Gly Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala
            180                 185                 190
Ala Lys Gln Gly Tyr Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Ser Pro Glu Leu
        195                 200                 205
Asn Val Asp Leu Ala Ala Ala Asp Ile Lys Pro Asp Glu Lys His His
    210                 215                 220
Ala Val Ile Ser Gly Ser Val Leu Tyr Asn Gln Asp Glu Lys Gly Ser
225                 230                 235                 240
Tyr Ser Leu Gly Ile Phe Gly Gly Glu Ala Gln Glu Val Ala Gly Ser
                245                 250                 255
Ala Glu Val Lys Thr Ala Asn Gly Ile His His Ile Gly Leu Ala Ala
            260                 265                 270
Lys Gln
```

<210> 159
<211> 273
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 159

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

<210> 160
<211> 273
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 160

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

<210> 161
<211> 273
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 161

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

```
Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Gln Asp His Ser Ala Val Val Ala Leu
        115                 120                 125
Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys Ile Asp Ser Leu Ile Asn
    130                 135                 140
Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly Gly Glu His Thr Ala Phe
145                 150                 155                 160
Asn Gln Leu Pro Ser Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser
                165                 170                 175
Ser Asp Asp Pro Asn Gly Arg Leu His Tyr Ser Ile Asp Phe Thr Lys
            180                 185                 190
Lys Gln Gly Tyr Gly Arg Ile Glu His Leu Lys Thr Pro Glu Gln Asn
        195                 200                 205
Val Glu Leu Ala Ser Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala
    210                 215                 220
Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Gly Glu Glu Lys Gly Thr Tyr
225                 230                 235                 240
His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala
                245                 250                 255
Thr Val Lys Ile Arg Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys
            260                 265                 270
Gln
```

<210> 162
<211> 273
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 162

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

                260                 265                 270
    Gln
```

<210> 163
<211> 273
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 163

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

<210> 164
<211> 273
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 164

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

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

<210> 165
<211> 273
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 165

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

    210                 215                 220
Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Gly Glu Glu Lys Gly Thr Tyr
225                 230                 235                 240
His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala
                245                 250                 255
Thr Val Lys Ile Arg Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys
            260                 265                 270
Gln
```

<210> 166
<211> 273
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 166

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

<210> 167
<211> 281
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 167

```
Met Asn Arg Thr Ala Phe Cys Cys Leu Ser Leu Thr Thr Ala Leu Ile
 1               5                  10                  15
```

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

<210> 168
<211> 281
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 168

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

                165                 170                 175
Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu
            180                 185                 190
Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala Ala Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu
        195                 200                 205
His Leu Lys Thr Pro Glu Gln Asn Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu
    210                 215                 220
Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr
225                 230                 235                 240
Gly Ser Glu Glu Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg
                245                 250                 255
Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val
            260                 265                 270
His Glu Ile Ser Ile Ala Gly Lys Gln
        275                 280
```

<210> 169
<211> 281
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 169

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

<210> 170
<211> 279
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 170

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

<210> 171
<211> 281
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 171

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

```
        115                 120                 125
Asp His Ser Ala Val Val Ala Leu Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro
    130                 135                 140
Asp Lys Thr Asp Ser Leu Ile Asn Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser Gly
145                 150                 155                 160
Leu Gly Gly Glu His Thr Ala Phe Asn Gln Leu Pro Gly Gly Lys Ala
                165                 170                 175
Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp Pro Asn Gly Arg Leu
            180                 185                 190
His Tyr Thr Ile Asp Phe Thr Asn Lys Gln Gly Tyr Gly Arg Ile Glu
        195                 200                 205
His Leu Lys Thr Pro Glu Gln Asn Val Glu Leu Ala Ser Ala Glu Leu
    210                 215                 220
Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr
225                 230                 235                 240
Gly Ser Glu Glu Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg
                245                 250                 255
Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val
            260                 265                 270
His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys Gln
        275                 280
```

<210> 172
<211> 279
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 172

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

Ile Gly Ile Ala Asp Lys Gln
        275
```

<210> 173
<211> 255
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 173

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

<210> 174
<211> 255
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 174

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

```
                100                 105                 110
Gln Val Gln Asp Ser Glu Asp Ser Gly Lys Met Val Ala Lys Arg Gln
        115                 120                 125
Phe Arg Ile Gly Asp Ile Ala Gly Glu His Thr Ser Phe Asp Lys Leu
    130                 135                 140
Pro Lys Gly Gly Ser Ala Thr Tyr Arg Gly Thr Ala Phe Gly Ser Asp
145                 150                 155                 160
Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala Ala Lys Gln
                165                 170                 175
Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Ser Pro Glu Leu Asn Val Glu
            180                 185                 190
Leu Ala Thr Ala Tyr Ile Lys Pro Asp Glu Lys His His Ala Val Ile
        195                 200                 205
Ser Gly Ser Val Leu Tyr Asn Gln Asp Glu Lys Gly Ser Tyr Ser Leu
    210                 215                 220
Gly Ile Phe Gly Gly Gln Ala Gln Glu Val Ala Gly Ser Ala Glu Val
225                 230                 235                 240
Glu Thr Ala Asn Gly Ile His His Ile Gly Leu Ala Ala Lys Gln
                245                 250                 255
```

<210> 175
<211> 255
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 175

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

<210> 176
<211> 255
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 176

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

<210> 177
<211> 260
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 177

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

145                 150                 155                 160
Ala Phe Gly Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp
                165                 170                 175
Phe Ala Val Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Ser Pro
            180                 185                 190
Glu Leu Asn Val Asp Leu Ala Ala Ala Tyr Ile Lys Pro Asp Lys Lys
        195                 200                 205
Arg His Ala Val Ile Ser Gly Ser Val Leu Tyr Asn Gln Asp Glu Lys
    210                 215                 220
Gly Ser Tyr Ser Leu Gly Ile Phe Gly Gly Gln Ala Gln Glu Val Ala
225                 230                 235                 240
Gly Ser Ala Glu Val Glu Thr Ala Asn Gly Ile His His Ile Gly Leu
                245                 250                 255
Ala Ala Lys Gln
            260
```

<210> 178
<211> 255
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 178

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

<210> 179
<211> 254
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 179

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

<210> 180
<211> 255
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 180

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

            180                 185                 190
Leu Ala Ala Ala Tyr Ile Lys Pro Asp Glu Lys His His Ala Val Ile
        195                 200                 205
Ser Gly Ser Val Leu Tyr Asn Gln Ala Glu Lys Gly Ser Tyr Ser Leu
    210                 215                 220
Gly Ile Phe Gly Gly Lys Ala Gln Glu Val Ala Gly Ser Ala Glu Val
225                 230                 235                 240
Lys Thr Val Asn Gly Ile Arg His Ile Gly Leu Ala Ala Lys Gln
                245                 250                 255
```

<210> 181
<211> 255
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 181

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

<210> 182
<211> 254
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 182

```
Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly Ala Gly Leu
 1               5                  10                  15
Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp Lys Ser Leu Gln
            20                  25                  30
Ser Leu Thr Leu Asp Gln Ser Val Arg Lys Asn Glu Lys Leu Lys Leu
        35                  40                  45
```

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

<210> 183
<211> 254
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 183

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

225                 230                 235                 240
Ile Arg Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys Gln
                245                 250
```

<210> 184
<211> 254
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 184

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

<210> 185
<211> 254
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 185

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

```
Gln Ile Tyr Lys Gln Asp His Ser Ala Val Val Ala Leu Gln Ile Glu
                100                 105                 110
Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys Ile Asp Ser Leu Ile Asn Gln Arg Ser
            115                 120                 125
Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly Gly Glu His Thr Ala Phe Asn Gln Leu
        130                 135                 140
Pro Ser Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp
145                 150                 155                 160
Pro Asn Gly Arg Leu His Tyr Ser Ile Asp Phe Thr Lys Lys Gln Gly
                165                 170                 175
Tyr Gly Arg Ile Glu His Leu Lys Thr Pro Glu Gln Asn Val Glu Leu
            180                 185                 190
Ala Ser Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala Val Ile Leu
        195                 200                 205
Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Gly Glu Glu Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala
    210                 215                 220
Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys
225                 230                 235                 240
Ile Arg Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys Gln
                245                 250
```

<210> 186
<211> 254
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 186

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

<210> 187

<211> 254
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 187

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

<210> 188
<211> 254
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 188

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

Pro Asp Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp
145                 150                 155                 160
Pro Asn Gly Arg Leu His Tyr Ser Ile Asp Phe Thr Lys Lys Gln Gly
                165                 170                 175
Tyr Gly Arg Ile Glu His Leu Lys Thr Pro Glu Gln Asn Val Glu Leu
            180                 185                 190
Ala Ser Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala Val Ile Leu
        195                 200                 205
Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Gly Glu Glu Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala
    210                 215                 220
Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys
225                 230                 235                 240
Ile Arg Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys Gln
                245                 250
```

<210> 189
<211> 254
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 189

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

<210> 190
<211> 262
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 190

```
Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp
```

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

<210> 191
<211> 262
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 191

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

Ile Asp Phe Ala Ala Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys
            180                 185                 190
Thr Pro Glu Gln Asn Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala Asp
        195                 200                 205
Glu Lys Ser His Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser Glu
    210                 215                 220
Glu Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu
225                 230                 235                 240
Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu Ile
                245                 250                 255
Ser Ile Ala Gly Lys Gln
            260
```

<210> 192
<211> 262
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 192

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

<210> 193
<211> 260
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 193

```
Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ile Ala Ala Asp Ile Gly
```

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

<210> 194
<211> 262
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 194

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

Ile Asp Phe Thr Asn Lys Gln Gly Tyr Gly Arg Ile Glu His Leu Lys
            180                 185                 190
Thr Pro Glu Gln Asn Val Glu Leu Ala Ser Ala Glu Leu Lys Ala Asp
        195                 200                 205
Glu Lys Ser His Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser Glu
    210                 215                 220
Glu Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu
225                 230                 235                 240
Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu Ile
                245                 250                 255
Gly Ile Ala Gly Lys Gln
            260
```

<210> 195
<211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia N terminal para expresión

<400> 195

```
Gly Pro Asp Ser Asp Arg Leu Gln Gln Arg Arg Gly
 1               5                  10
```

<210> 196
<211> 31
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de PCR

<400> 196
cgcggatccc atatggtcgc cgccgacatc g 31

<210> 197

<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de PCR

<400> 197
cccgctcgag ttgcttggcg gcaaggc 27

<210> 198
<211> 65
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de PCR

<400> 198

cgcggatccc atatgggccc tgattctgac cgcctgcagc agcggagggt cgccgccgac 60
atcgg 65

<210> 199
<211> 274
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 199

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

<210> 200
<211> 274
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 200

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

```
         115                 120                 125
Gln Thr Glu Gln Glu Gln Asp Pro Glu His Ser Gly Lys Met Val Ala
    130                 135                 140
Lys Arg Arg Phe Lys Ile Gly Asp Ile Ala Gly Glu His Thr Ser Phe
145                 150                 155                 160
Asp Lys Leu Pro Lys Asp Val Met Ala Thr Tyr Arg Gly Thr Ala Phe
                165                 170                 175
Gly Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala
            180                 185                 190
Ala Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Ser Pro Glu Leu
        195                 200                 205
Asn Val Glu Leu Ala Thr Ala Tyr Ile Lys Pro Asp Glu Lys His His
    210                 215                 220
Ala Val Ile Ser Gly Ser Val Leu Tyr Asn Gln Asp Glu Lys Gly Ser
225                 230                 235                 240
Tyr Ser Leu Gly Ile Phe Gly Gly Gln Ala Gln Glu Val Ala Gly Ser
                245                 250                 255
Ala Glu Val Glu Thr Ala Asn Gly Ile His His Ile Gly Leu Ala Ala
            260                 265                 270
Lys Gln
```

<210> 201
<211> 274
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 201

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

Lys Gln
```

<210> 202
<211> 274
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 202

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

<210> 203
<211> 274
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 203

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

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

<210> 204
<211> 274
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 204

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

Ala Val Ile Ser Gly Ser Val Leu Tyr Asn Gln Asp Glu Lys Gly Ser
225                 230                 235                 240
Tyr Ser Leu Gly Ile Phe Gly Gly Gln Ala Gln Glu Val Ala Gly Ser
                245                 250                 255
Ala Glu Val Glu Thr Ala Asn Gly Ile His His Ile Gly Leu Ala Ala
            260                 265                 270
Lys Gln
```

<210> 205
<211> 274
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 205

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

<210> 206
<211> 274
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 206

```
Met Asn Arg Thr Ala Phe Cys Cys Leu Ser Leu Thr Ala Ala Leu Ile
 1               5                  10                  15
Leu Thr Ala Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly
```

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

<210> 207
<211> 273
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 207

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

Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala Ala
            180                 185                 190
Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Thr Pro Glu Gln Asn
        195                 200                 205
Val Glu Leu Ala Ser Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala
    210                 215                 220
Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser Glu Glu Lys Gly Thr Tyr
225                 230                 235                 240
His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala
                245                 250                 255
Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys
            260                 265                 270
Gln
```

<210> 208
<211> 273
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 208

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

<210> 209
<211> 273
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 209

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

<210> 210
<211> 273
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 210

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

```
Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys Ile Asp Ser Leu Ile Asn
    130                 135                 140
Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly Gly Glu His Thr Ala Phe
145                 150                 155                 160
Asn Gln Leu Pro Asp Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser
                165                 170                 175
Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala Ala
            180                 185                 190
Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Thr Pro Glu Gln Asn
        195                 200                 205
Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala
    210                 215                 220
Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser Glu Glu Lys Gly Thr Tyr
225                 230                 235                 240
His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala
                245                 250                 255
Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys
            260                 265                 270
Gln
```

<210> 211
<211> 273
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 211

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

<210> 212
<211> 273
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 212

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

<210> 213
<211> 273
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 213

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

```
Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Val Ser Arg Phe Asp
                85                  90                  95
Phe Ile Arg Gln Ile Glu Val Asp Gly Gln Leu Ile Thr Leu Glu Ser
            100                 105                 110
Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Gln Asp His Ser Ala Val Val Ala Leu
        115                 120                 125
Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys Ile Asp Ser Leu Ile Asn
    130                 135                 140
Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly Gly Glu His Thr Ala Phe
145                 150                 155                 160
Asn Gln Leu Pro Ser Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser
                165                 170                 175
Ser Asp Asp Pro Asn Gly Arg Leu His Tyr Ser Ile Asp Phe Thr Lys
            180                 185                 190
Lys Gln Gly Tyr Gly Arg Ile Glu His Leu Lys Thr Pro Glu Gln Asn
        195                 200                 205
Val Glu Leu Ala Ser Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala
    210                 215                 220
Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Gly Glu Glu Lys Gly Thr Tyr
225                 230                 235                 240
His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala
                245                 250                 255
Thr Val Lys Ile Arg Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys
            260                 265                 270
Gln
```

<210> 214
<211> 281
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 214

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

225                 230                 235                 240
Gly Ser Glu Glu Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg
                245                 250                 255
Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val
            260                 265                 270
His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys Gln
        275                 280
```

<210> 215
<211> 250
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 215

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

<210> 216
<211> 282
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 216

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

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

<210> 217
<211> 275
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 217

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

    210                 215                 220
His Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Gly Glu Glu Lys Gly
225                 230                 235                 240
Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly
                245                 250                 255
Ser Ala Thr Val Lys Ile Arg Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala
            260                 265                 270
Gly Lys Gln
        275
```

<210> 218
<211> 757
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 218

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

```
Ser Leu Ile Asn Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly Gly Glu
    370                 375                 380
His Thr Ala Phe Asn Gln Leu Pro Asp Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly
385                 390                 395                 400
Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile
                405                 410                 415
Asp Phe Ala Ala Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Thr
            420                 425                 430
Pro Glu Gln Asn Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu
        435                 440                 445
Lys Ser His Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser Glu Glu
    450                 455                 460
Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile
465                 470                 475                 480
Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu Ile Gly
                485                 490                 495
Ile Ala Gly Lys Gln Gly Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile
            500                 505                 510
Gly Thr Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp
        515                 520                 525
Lys Gly Leu Lys Ser Leu Thr Leu Glu Asp Ser Ile Pro Gln Asn Gly
    530                 535                 540
Thr Leu Thr Leu Ser Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Phe Lys Ala Gly
545                 550                 555                 560
Asp Lys Asp Asn Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Ile
                565                 570                 575
Ser Arg Phe Asp Phe Val Gln Lys Ile Glu Val Asp Gly Gln Thr Ile
            580                 585                 590
Thr Leu Ala Ser Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Gln Asn His Ser Ala
        595                 600                 605
Val Val Ala Leu Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys Thr Asp
    610                 615                 620
Ser Leu Ile Asn Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly Gly Glu
625                 630                 635                 640
His Thr Ala Phe Asn Gln Leu Pro Gly Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly
                645                 650                 655
Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp Pro Asn Gly Arg Leu His Tyr Ser Ile
            660                 665                 670
Asp Phe Thr Lys Lys Gln Gly Tyr Gly Arg Ile Glu His Leu Lys Thr
        675                 680                 685
Leu Glu Gln Asn Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu
    690                 695                 700
Lys Ser His Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser Glu Glu
705                 710                 715                 720
Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile
                725                 730                 735
Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu Ile Gly
            740                 745                 750
Ile Ala Gly Lys Gln
        755
```

<210> 219
<211> 405
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 219

```
Met Lys His Phe Pro Ser Lys Val Leu Thr Thr Ala Ile Leu Ala Thr
 1               5                  10                  15
Phe Cys Ser Gly Ala Leu Ala Ala Thr Asn Asp Asp Asp Val Lys Lys
            20                  25                  30
Ala Ala Thr Val Ala Ile Ala Ala Ala Tyr Asn Asn Gly Gln Glu Ile

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

<210> 220
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Enlazador de glicina

<400> 220

```
Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 1               5
```

<210> 221
<211> 274
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 221

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

<210> 222
<211> 274
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 222

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

Gly Glu Phe Gln Val Tyr Lys Gln Ser His Ser Ala Leu Thr Ala Leu
        115                 120                 125
Gln Thr Glu Gln Val Gln Asp Ser Glu Asp Ser Gly Lys Met Val Ala
    130                 135                 140
Lys Arg Gln Phe Arg Ile Gly Asp Ile Ala Gly Glu His Thr Ser Phe
145                 150                 155                 160
Asp Lys Leu Pro Lys Asp Val Met Ala Thr Tyr Arg Gly Thr Ala Phe
                165                 170                 175
Gly Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala
            180                 185                 190
Ala Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Ser Pro Glu Leu
        195                 200                 205
Asn Val Asp Leu Ala Ala Ala Tyr Ile Lys Pro Asp Glu Lys His His
    210                 215                 220
Ala Val Ile Ser Gly Ser Val Leu Tyr Asn Gln Ala Glu Lys Gly Ser
225                 230                 235                 240
Tyr Ser Leu Gly Ile Phe Gly Gly Lys Ala Gln Glu Val Ala Gly Ser
                245                 250                 255
Ala Glu Val Lys Thr Val Asn Gly Ile Arg His Ile Gly Leu Ala Ala
            260                 265                 270
Lys Gln
```

<210> 223
<211> 274
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 223

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

                260                 265                 270
    Lys Gln
```

<210> 224
<211> 274
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 224

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

<210> 225
<211> 274
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 225

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

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

<210> 226
<211> 274
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 226

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

    210                 215                 220
Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser Glu Glu Lys Gly Thr
225                 230                 235                 240
Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser
                245                 250                 255
Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly
            260                 265                 270
Lys Gln
```

<210> 227
<211> 274
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 227

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

<210> 228
<211> 274
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 228

```
Met Asn Arg Thr Ala Phe Cys Cys Leu Ser Leu Thr Ala Ala Leu Ile
 1               5                  10                  15
```

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

<210> 229
<211> 12
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 229

```
Pro Leu Gln Asn Ile Gln Pro Gln Val Thr Lys Arg
 1               5                  10
```

<210> 230
<211> 20
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 230

```
Ala Gln Ala Ala Asn Gly Gly Ala Ser Gly Gln Val Lys Val Thr Lys
 1               5                  10                  15
Val Thr Lys Ala
            20
```

<210> 231
<211> 18
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 231

Lys Leu Ser Ser Thr Asn Ala Lys Thr Gly Asn Lys Val Glu Val Thr
1 5 10 15
Lys Ala

<210> 232
<211> 14
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 232

Pro Pro Gln Lys Asn Gln Ser Gln Pro Val Val Thr Lys Ala
1 5 10

<210> 233
<211> 14
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 233

Pro Pro Ser Lys Gly Gln Thr Gly Asn Lys Val Thr Lys Gly
1 5 10

<210> 234
<211> 14
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 234

Pro Pro Ser Lys Ser Gln Pro Gln Val Lys Val Thr Lys Ala
1 5 10

<210> 235
<211> 18
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 235

Gln Pro Gln Thr Ala Asn Thr Gln Gln Gly Gly Lys Val Lys Val Thr
1 5 10 15
Lys Ala

<210> 236
<211> 18
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 236

Gln Pro Gln Val Thr Asn Gly Val Gln Gly Asn Gln Val Lys Val Thr
1 5 10 15
Lys Ala

<210> 237
<211> 18
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 237

Gln Pro Ser Lys Ala Gln Gly Gln Thr Asn Asn Gln Val Lys Val Thr
1 5 10 15
Lys Ala

<210> 238
<211> 20
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 238

Pro Pro Ser Ser Asn Gln Gly Lys Asn Gln Ala Gln Thr Gly Asn Thr
1 5 10 15
Val Thr Lys Ala
20

<210> 239
<211> 13
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 239

Tyr Val Ala Val Glu Asn Gly Val Ala Lys Lys Val Ala
1 5 10

<210> 240
<211> 15
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 240

His Phe Val Gln Gln Thr Pro Lys Ser Gln Pro Thr Leu Val Pro
1 5 10 15

<210> 241
<211> 14
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 241

Thr Leu Ala Asn Gly Ala Asn Asn Thr Ile Ile Arg Val Pro
1 5 10

<210> 242

<211> 13
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 242

```
His Val Val Val Asn Asn Lys Val Ala Thr His Val Pro
 1               5                  10
```

<210> 243
<211> 10
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 243

```
Tyr Val Asp Glu Gln Ser Lys Tyr His Ala
 1               5                  10
```

<210> 244
<211> 15
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 244

```
His Phe Val Gln Asn Lys Gln Asn Gln Arg Pro Thr Leu Val Pro
 1               5                  10                  15
```

<210> 245
<211> 18
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 245

```
Tyr Trp Thr Thr Val Asn Thr Gly Ser Ala Thr Thr Thr Thr Thr Phe
 1               5                  10                  15
Val Pro
```

<210> 246
<211> 10
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 246

```
Tyr Val Asp Glu Lys Lys Met Val His Ala
 1               5                  10
```

<210> 247
<211> 13
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 247

His Tyr Thr Arg Gln Asn Asn Ala Asp Val Phe Val Pro
1 5 10

<210> 248
<211> 14
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 248

Tyr Tyr Thr Lys Asp Thr Asn Asn Asn Leu Thr Leu Val Pro
1 5 10

<210> 249
<211> 17
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 249

His Trp Asn Thr Val Tyr Asn Thr Asn Gly Thr Thr Thr Thr Phe Val
1 5 10 15
Pro

<210> 250
<211> 14
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 250

Thr Tyr Thr Val Asp Ser Ser Gly Val Val Thr Pro Val Pro
1 5 10

<210> 251
<211> 14
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 251

His Phe Val Ala Asp Ser Gln Gly Lys Ile Thr Arg Val Pro
1 5 10

<210> 252
<211> 17
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 252

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

<210> 253
<211> 17
<212> PRT

<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 253

```
His Tyr Thr Thr Val Tyr Asn Ala Thr Thr Thr Thr Thr Phe Val
 1               5                  10                  15
Pro
```

<210> 254
<211> 11
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 254

```
Tyr Val Asp Asp Gln Gly Lys Val Lys Gly Pro
 1               5                  10
```

<210> 255
<211> 13
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 255

```
Thr Phe Thr Leu Glu Ser Asn Gln Met Lys Pro Val Pro
 1               5                  10
```

REIVINDICACIONES

1. Una composición para uso en un método para inducir en un sujeto mamífero anticuerpos anti polipéptido GNA1870 bactericidas contra al menos tres cepas de *Neisseria meningitidis* que son heterólogas para PorA, comprendiendo la composición:

vesículas antigénicas aisladas preparadas a partir de una primera bacteria *Neisseria meningitidis*, en donde la bacteria *Neisseria meningitidis* está modificada genéticamente para sobreexpresar un polipéptido GNA1870 a un nivel que es más de tres veces mayor que un nivel del polipéptido GNA1870 expresado en una cepa parental a partir de la que deriva la primera bacteria *Neisseria meningitidis*, y un vehículo farmacéuticamente aceptable,
en donde cuando las vesículas se administran a dicho sujeto, inducen dichos anticuerpos anti polipéptido GNA1870 bactericidas para al menos tres cepas de *Neisseria meningitidis* que son heterólogas para PorA.

2. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que las vesículas son vesículas de membrana externa (OMV), microvesículas (MV) o una mezcla de OMV y MV.

3. La composición para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en la que la primera bacteria *Neisseria meningitidis* está modificada genéticamente para proporcionar la expresión del polipéptido GNA1870 sobreexpresado a partir de un promotor heterólogo.

4. La composición para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en la que la primera bacteria *Neisseria meningitidis* está modificada genéticamente para alterar la producción de un polipéptido GNA1870 endógeno.

5. La composición para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en la que el polipéptido GNA1870 sobreexpresado es heterólogo para la primera bacteria *Neisseria meningitidis*.

6. La composición para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde la composición comprende un antígeno de *Neisseria* aislado.

7. La composición para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en la que la primera bacteria *Neisseria meningitidis* está modificada genéticamente para expresar antígenos adicionales de interés.

8. La composición para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en la que la primera bacteria *Neisseria meningitidis* está modifica genéticamente para proporcionar actividad tóxica reducida o no detectable del lípido A.

9. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 8, en la que la primera bacteria *Neisseria meningitidis* está modificada genéticamente en la biosíntesis de lípido A, incluyendo en un gen responsable de la modificación terminal del lípido A.

10. La composición para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en la que las vesículas se preparan sin usar detergente.

11. La composición para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en la que la primera bacteria *Neisseria meningitidis* es la cepa de *Neisseria meningitidis* H44/76.

12. La composición para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en donde la composición comprende, además:

vesículas antigénicas aisladas preparadas a partir de una segunda bacteria *Neisseria meningitidis*, en donde la segunda bacteria *Neisseria meningitidis* produce un nivel de un polipéptido GNA1870 suficiente para proporcionar la producción de vesículas que, cuando se administran a un sujeto, inducen anticuerpos anti GNA1870, y en donde la segunda bacteria *Neisseria meningitidis* es genéticamente distinta a la primera bacteria *Neisseria meningitidis*.

13. La composición para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en la que la primera bacteria de la especie *Neisseria meningitidis* está modificada genéticamente para producir al menos dos polipéptidos GNA1870 diferentes de diferentes grupos variantes de polipéptido GNA1870 seleccionados de v.1, v.2 y v.3.

14. La composición para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en la que el polipéptido GNA1870 está sobreexpresado a un nivel que es más de cuatro veces mayor que el nivel del polipéptido GNA1870 expresado en la cepa parental de la que deriva la primera bacteria *Neisseria meningitidis*.

15. La composición para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en la que el polipéptido GNA1870 está sobreexpresado a un nivel que es más de cinco veces mayor que el nivel del polipéptido GNA1870

expresado en la cepa parental de la que deriva la primera bacteria *Neisseria meningitidis*.

16. La composición para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en la que el polipéptido GNA1870 está sobreexpresado a un nivel que es más de ocho veces mayor que el nivel del polipéptido GNA1870 expresado en la cepa parental de la que deriva la primera bacteria *Neisseria meningitidis*.

17. La composición para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en la que el polipéptido GNA1870 está sobreexpresado a un nivel que es más de diez veces mayor de el nivel del polipéptido GNA1870 expresado en la cepa parental de la que deriva la primera bacteria *Neisseria meningitidis*.

FIGURA 1A

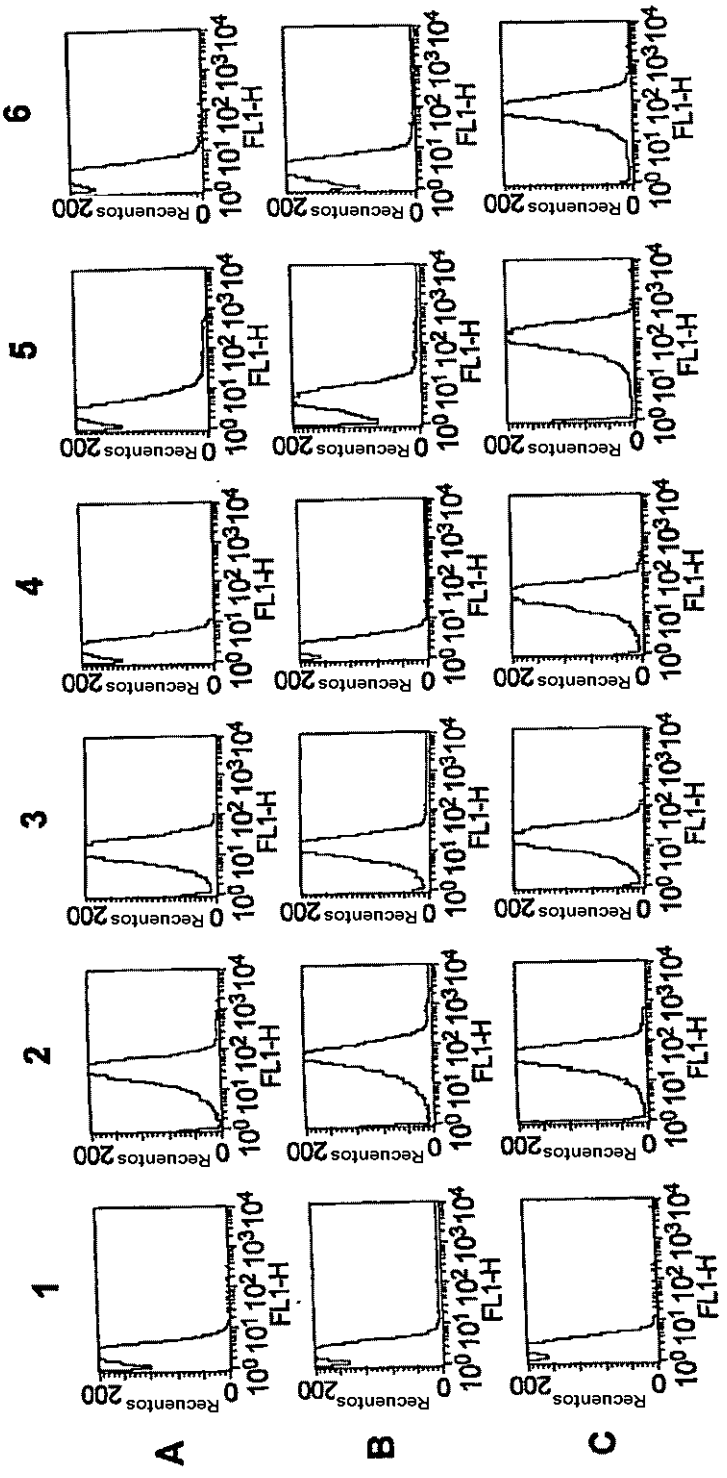


FIGURA 1B

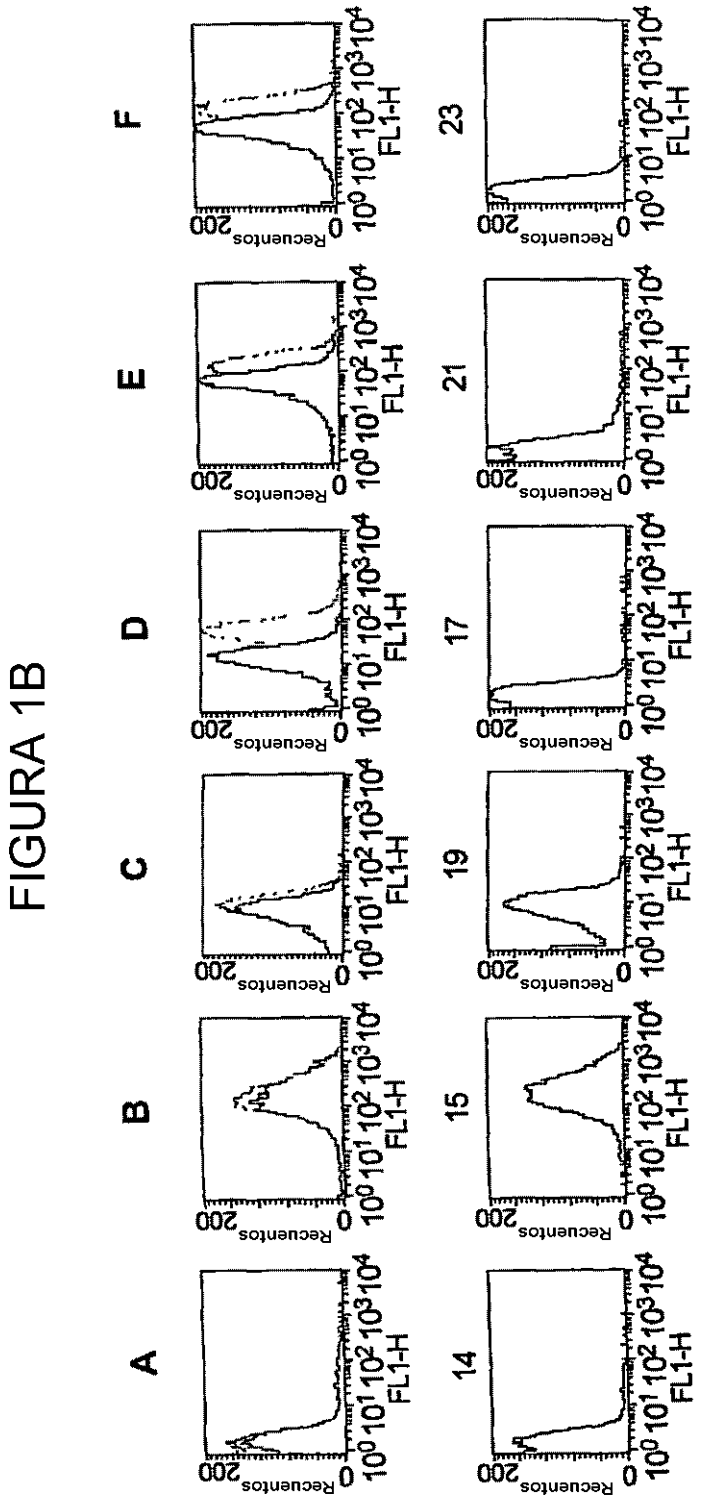


FIGURA 2A

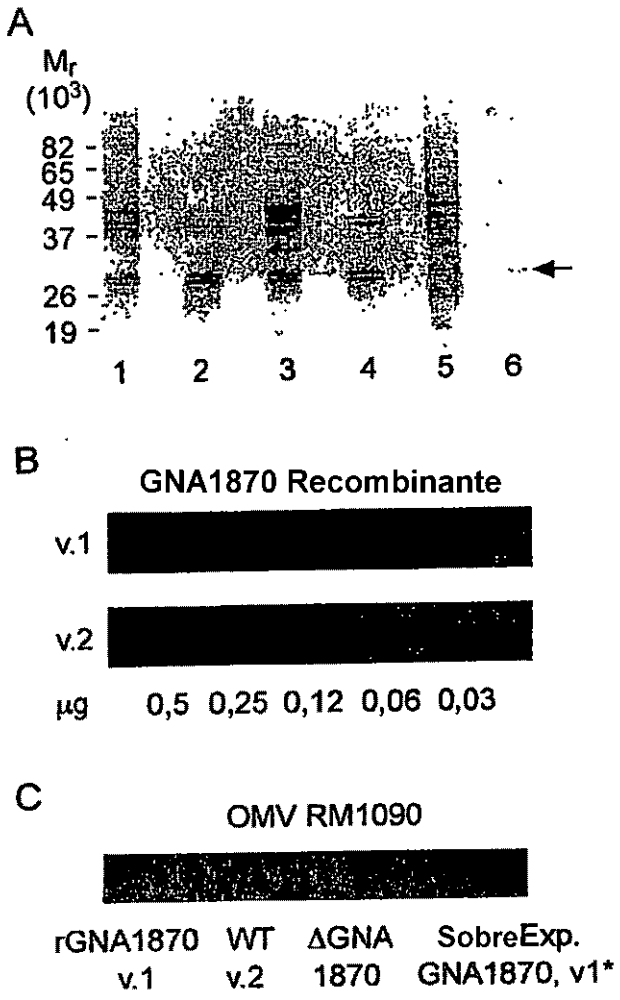

A
Mr
(10³)
82
65
49
37
26
19
1
2
3
4
5
6
B
GNA1870 Recombinante
v.1
v.2
µg
0,5
0,25
0,12
0,06
0,03
C
OMV RM1090
rGNA1870 v.1
WT v.2
ΔGNA 1870
SobreExp. GNA1870, v1*

FIGURA 2B

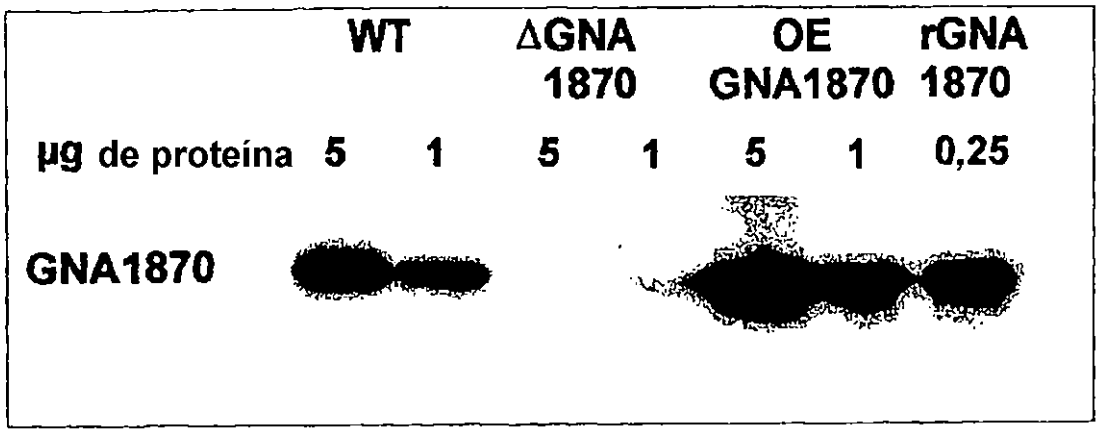

WT
ΔGNA 1870
OE GNA1870
rGNA 1870
µg de proteína 5 1 5 1 5 1 0,25
GNA1870

FIGURA 3A

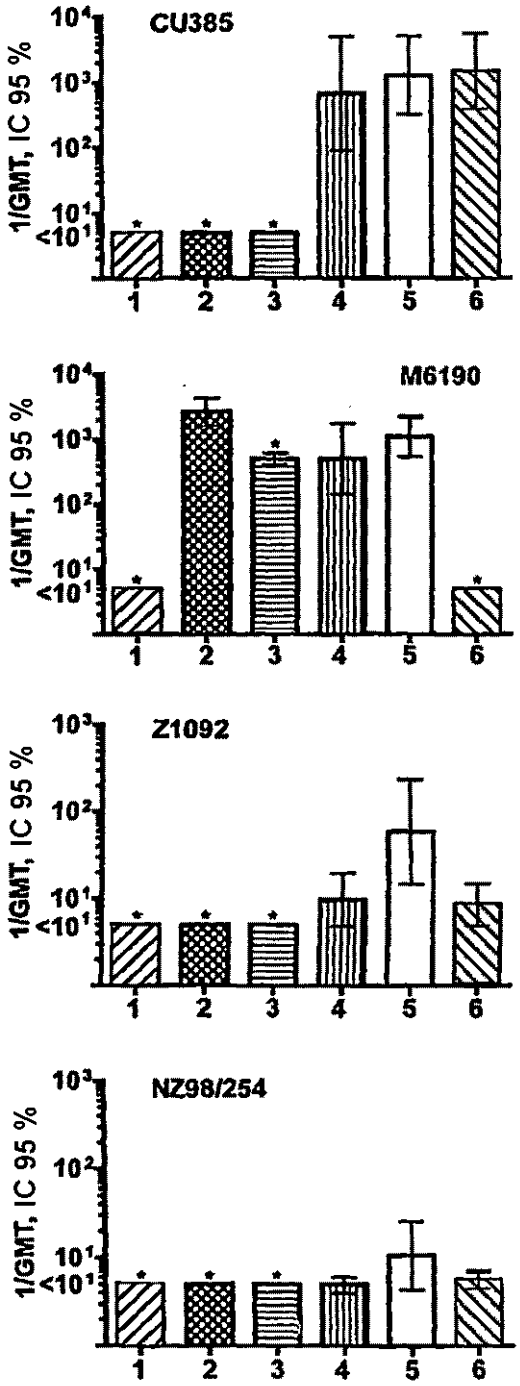

CU385
M6190
Z1092
NZ98/254
1/GMT, IC 95 %
10^4
10^3
10^2
10^1
<10^1
1
2
3
4
5
6

FIGURA 3B

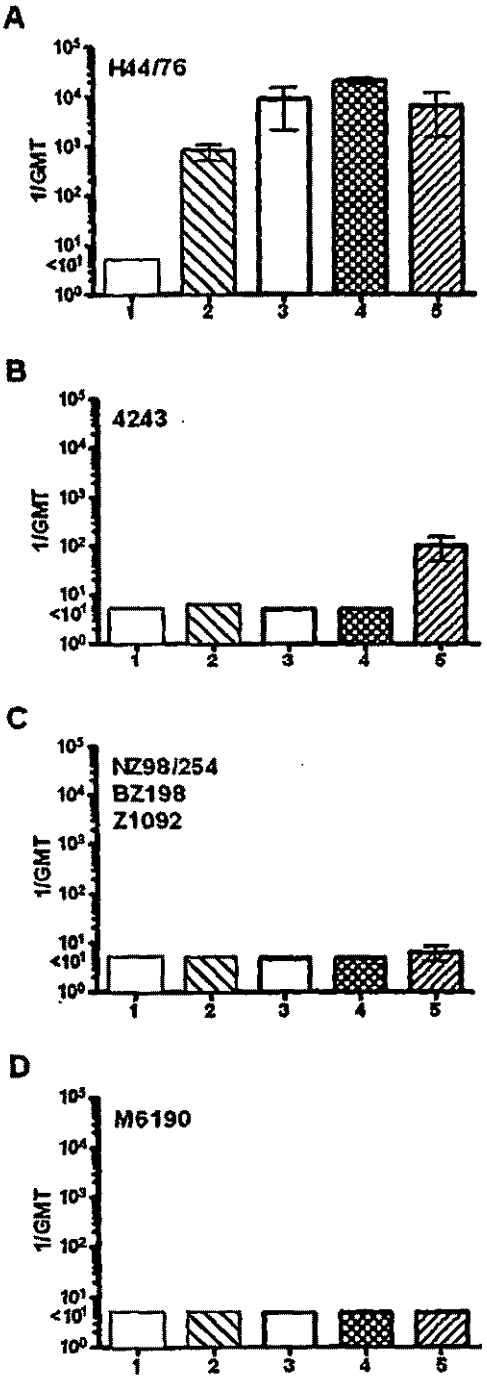
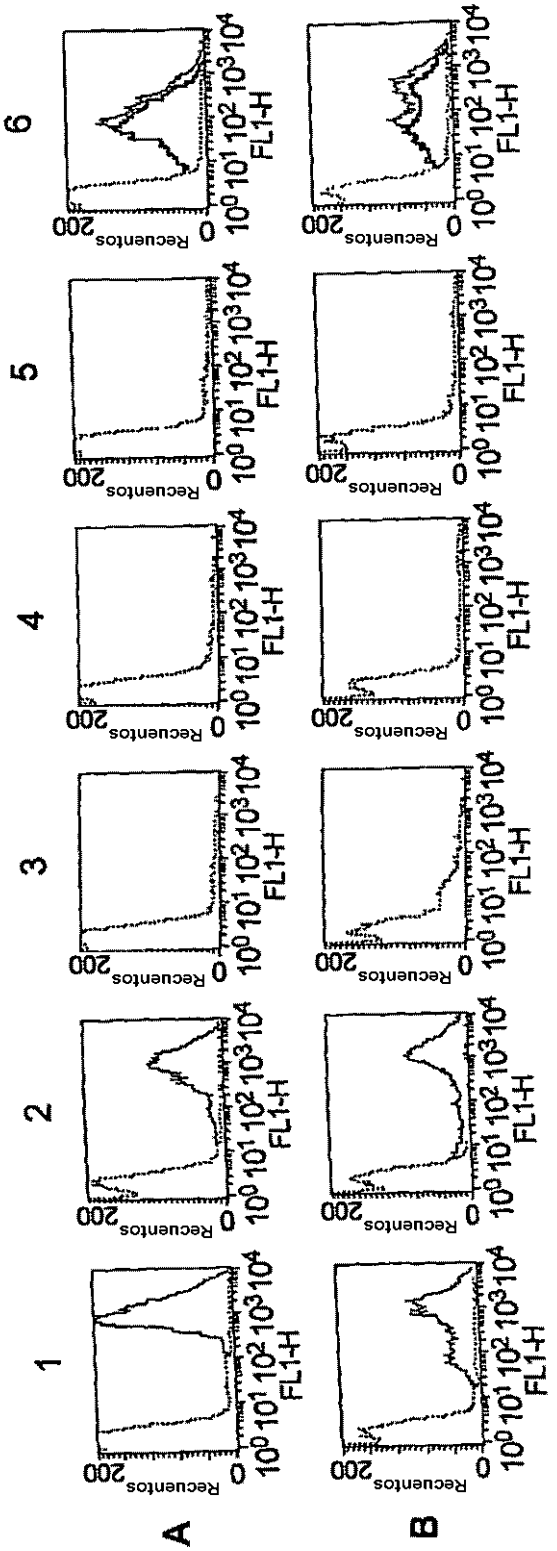


FIGURA 4A



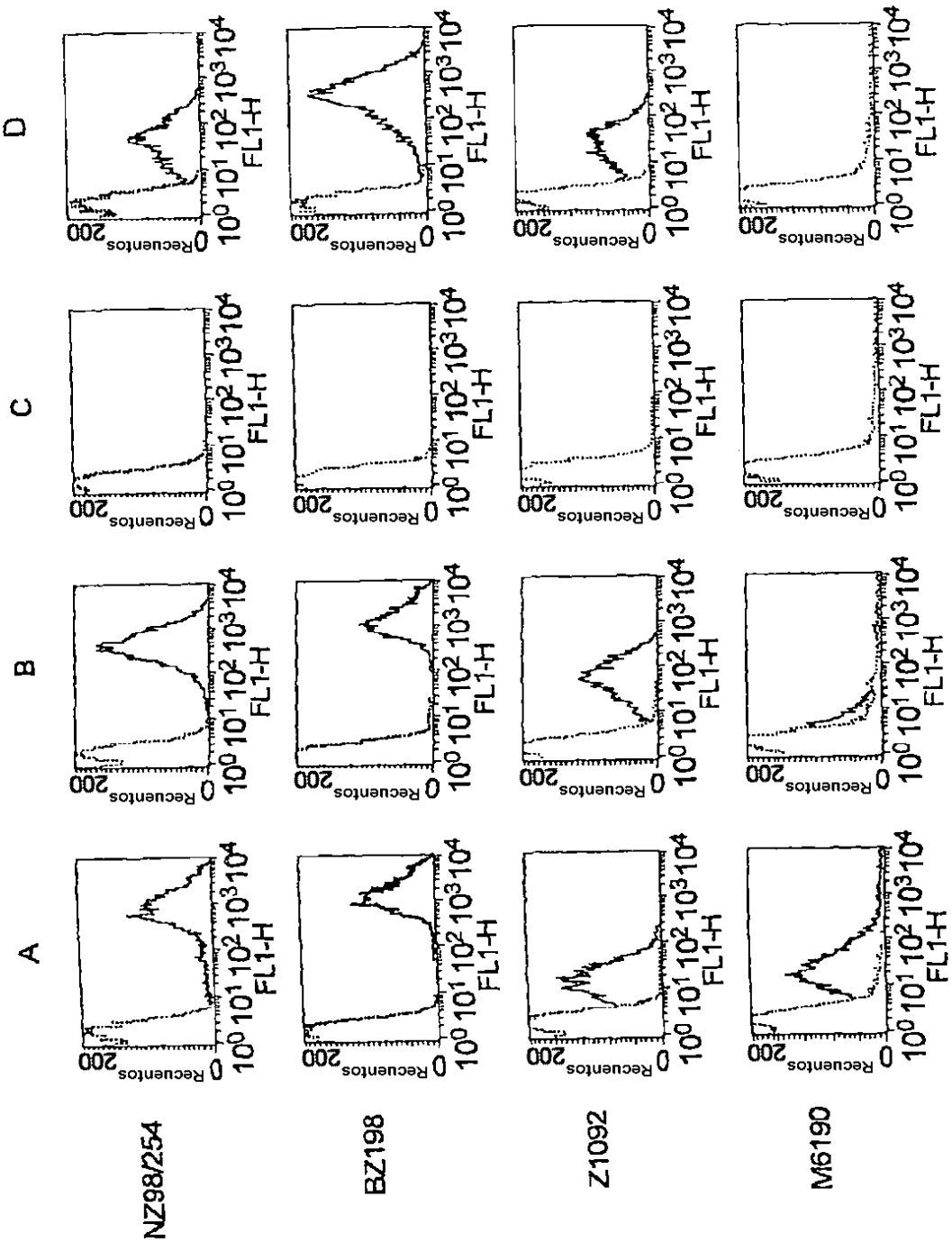


FIGURA 4B

FIGURA 5

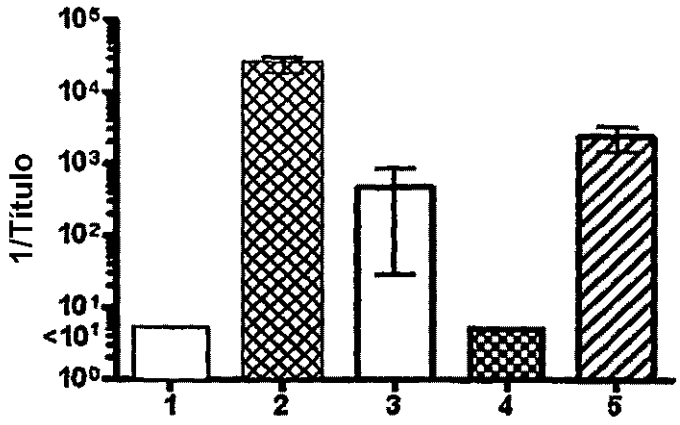


FIGURA 6

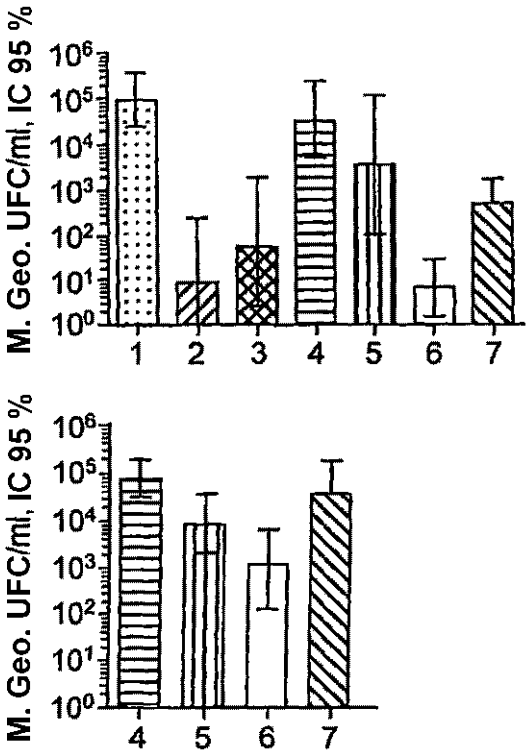

M. Geo. UFC/ml, IC 95 %
10^6
10^5
10^4
10^3
10^2
10^1
10^0
1 2 3 4 5 6 7
M. Geo. UFC/ml, IC 95 %
10^6
10^5
10^4
10^3
10^2
10^1
10^0
4 5 6 7

FIGURA 7


1
tipo 1 -19: VNRTAFCCLSLTTALILTACS.....SGGGGVAADIGAGLADALTAPLDH: 26
tipo 2 -19: VNRTAFCCLSLTAALILTACS.....SGGGGVAADIGAGLADALTAPLDH: 26
tipo 3 -19: VNRTAFCCLSLTTALILTACSSGGGGSGGGGVAADIGTGLADALTAPLDH: 31
tipo 1 -27: KDKGLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGD...SLNTGKLKNDKV: 73
tipo 2 -27: KDKSLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGD...SLNTGKLKNDKV: 73
tipo 3 32: KDKSLKSLTLFDSIPQNGTLTLSAQGAEKTFKAGDKDNSLNTGKLKNDKI: 81
tipo 1 74: SRFDFIRQIEVDGQLITLESGEFQVYKQSHSALTAFQTEQIQDSEHSGKM: 123
tipo 2 74: SRFDFIRQIEVDGQLITLESGEFQIYKQDHSAVVAEQTEKINNPDKIDSL: 123
tipo 3 82: SRFDFVQKIEVDGQTITLASGEFQIYKQNHSAVVALQIEKINNPDKTDSL: 131
tipo 1 124: VAKRQFRIGDIAGEHTSFDKLPEGGRATYRGTAFGSDDAGGKLTYTIDFA: 173
tipo 2 124: INQRSFLVSGLGGEHTAFNQLP.DGKAEYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFA: 172
tipo 3 132: INQRSFLVSGLGGEHTAFNQLP.GGKAEYHGKAFSSDDPNGRLHYSIDFT: 180
tipo 1 174: AKQGNGKIEHLKSPELNVDLAAADIKPDGKRHAVISGSVLYNQAEKGSYS: 223
tipo 2 173: AKQGHGKIEHLKTPEQNVELAAAELKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYH: 222
tipo 3 181: KKQGYGRIEHLKTLEQNVELAAAELKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYH: 230
tipo 1 224: LGIFGGKAQEVAGSAEVKTVNGIRHIGLAAKQ: 255
tipo 2 223: LALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ: 254
tipo 3 231: LALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ: 262

FIGURA 8A

SEQ ID NO: 1 – cepa MC58 [WO99/57280]
MNRTAFCCLSLTTALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKGLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFD
FIRQIEVDGQLITLESGEFQVYKQSHSALTAFQTEQIQDSEHSGKMVAKRQFRIGDIAGEHTSFDKLPEGGRATYRGTAFGSDDAGGKLTYTIDFA
AKQGNGKIEHLKSPELNVDLAAADIKPDGKRHAVISGSVLYNQAEKGSYSLGIFGGKAQEVAGSAEVRTVNGIRHIGLAAKQ

SEQ ID NO: 2 – cepa gb185
MNRTAFCCLSLTTALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKGLQSLMLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFD
FIRQIEVDGKLITLESGEFQVYKQSHSALTALQTEQVQDSEDSGKMVAKRQFRIGDIAGEHTSFDKLPKGGSATYRGTAFGSDDAGGKLTYTIDFA
AKQGHGKIEHLKSPELNVELATAYIKPDEKHHAVISGSVLYNQDEKGSYSLGIFGGQAQEVAGSAEVETANGIHHIGLAAKQ

SEQ ID NO: 3 – cepa m4030
MNRTAFCCFSLTAALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFD
FIRQIEVDGQLITLESGEFQVYKQSHSALTALQTEQVQDSEDSGKMVAKRQFRIGDIAGEHTSFDKLPKGGSATYRGTAFGSDDAGGKLTYTIDFA
AKQGHGKIEHLKSPELNVELATAYIKPDEKRHAVISGSVLYNQDEKGSYSLGIFGGQAQEVAGSAEVETANGIHHIGLAAKQ

SEQ ID NO: 4 – cepa iss1001
MNRTAFCCFSLTAALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFD
FIRQIEVDGQLITLESGEFQVYKQSHSALTALQTEQEQDPEHSGKMVAKRRFKIGDIAGEHTSFDKLPKDVMATYRGTAFGSDDAGGKLTYTIDFA
AKQGHGKIEHLKSPELNVELATAYIKPDEKRHAVISGSVLYNQDEKGSYSLGIFGGQAQEVAGSAEVETANGIHHIGLAAKQ

SEQ ID NO: 5 – cepa inp17592
MNRTTFFCLSLTAALILTACSSGGGGSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKGLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDK
VSRFDFIRQIEVDGQLITLESGEFQVYKQSHSALTALQTEQVQDSEDSGKMVAKRQFRIGDIAGEHTSFDKLPKGGSATYRGTAFGSDDAGGKLTY
TIDFAVKQGHGKIEHLKSPELNVDLAAAYIKPDKKRHAVISGSVLYNQDEKGSYSLGIFGGQAQEVAGSAEVETANGIRHIGLAAKQ

SEQ ID NO: 6 – cepa f6124
MNRTAFCCLSLTAALILTACSSGGGGVAADIGAVLADALTAPLDHKDKSLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFD
FIRQIEVDGQLITLESGEFQVYKQSHSALTALQTEQVQDSEHSGKMVAKRQFRIGDIAGEHTSFDKLPEGGRATYRGTAFGSDDASGKLTYTIDFA
AKQGHGKIEHLKSPELNVDLAASDIKPDKKRHAVISGSVLYNQAEKGSYSLGIFGGQAQEVAGSAEVETANGIRHIGLAAKQ

SEQ ID NO: 7 – cepa m198172
MNRTAFCCLSLTAALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFD
FIRQIEVDGQLITLESGEFQVYKQSHSALTALQTEQVQDSEHSGKMVAKRQFRIGDIAGEHTSFDKLPEGGRATYRGTAFGSDDASGKLTYTIDFA
AKQGHGKIEHLRSPELNVDLAASDIKPDKKRHAVISGSVLYNQAEKGSYSLGIFGGQAQEVAGSAEVETANGIRHIGLAAKQ

SEQ ID NO: 8 – cepa m2197
MNRTAFCCLSLTTALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKGLQSLMLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFD
FIRQIEVDGQLITLESGEFQVYKQSHSALTALQTEQVQDSEHSGKMVAKRQFRIGDIAGEHTSFDKLPEGGRATYRGTAFGSDDAGGKLIYTIDFA
AKQGHGKIEHLKSPELNVDLAAAYIKPDEKHHAVISGSVLYNQAEKGSYSLGIFGGKAQEVAGSAEVKTVNGIRHIGLAAKQ

SEQ ID NO: 9 – cepa m2937
MNRTAFCCLSLTAALILTACSSCGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKGLRSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFD
FIRQIEVDGQLITLESGEFQVYKQSHSALTALQTEQEQDLEHSGKMVAKRRFRIGDIAGEHTSFDKLREGGRATYRGTAFGSDDAGGKLTYTIDFA
AKQGYGKIEHLKSPELNVDLAAADIKPDEKHHAVISGSVLYNQDERGSYSLGIFGGEAQEVAGSAEVKTANGIHHIGLAAKQ

SEQ ID NO: 10 – cepa 961-5945
MNRTAFCCLSLTAALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFD
FIRQIEVDGQLITLESGEFQIYKQDHSAVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPDGKAEYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAA
KQGHGKIEHLKTPEQNVELAAAELKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

SEQ ID NO: 11 – cepa gb013
MNRTAFCCLSLTAALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFD
FIRQIEVDGQLITLESGEFQIYKQDHSAVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPSGKAEYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAA
KQGHGKIEHLKTPEQNVELASAELKADEKSHAVILGDTRYGGEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIREKVHEIGIAGKQ

FIGURA 8B

SEQ ID NO: 12 – cepa 860800

MNRTAFCCLSLTAALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKGLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFD
FIRQIEVDGQLITLESGEFQIYKQDHSAVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPSGKAEYHGKAFSSDDPNGRLHYSIDFTK
KQGYGRIEHLKTPEQNVELASAELKADEKSHAVILGDTRYGGEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIREKVHEIGIAGKQ

SEQ ID NO: 13 – cepa 95n477

MNRTAFCCLSLTAALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFD
FIRQIEVDGQLITLESGEFQIYKQDHSAVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPSGKAEYHGKAFSSDDPNGRLHYSIDFTK
KQGYGRIEHLKTPEQNVELASAELKADEKSHAVILGDTRYGGEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIREKVHEIGIAGKQ

SEQ ID NO: 14 – cepa m2671

MNRTAFCCLSLTAALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFD
FIRQIEVDGQLITLESGEFQIYKQDHSAVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPGGKAEYHGKAFSSDDPNGRLHYSIDFTK
KQGYGRIEHLKTPEQNVELASAELKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIREKVHEIGIAGKQ

SEQ ID NO: 15 – cepa 1000

MNRTAFCCLSLTAALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTTPLDHKDKSLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFD
FIRQIEVDGQTITLASGEFQIYKQNHSAVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPDGKAEYHGKAFSSDDPNGRLHYSIDFTK
KQGYGRIEHLKTPEQNVELASAELKADEKSHAVILGDTRYGGEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIREKVHEIGIAGKQ

SEQ ID NO: 16 – cepa m3279

MNRTAFCCLSLTAALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFD
FIRQIEVDGQTITLASGEFQIYKQNHSAVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPDGKAEYHGKAFSSDDPNGRLHYSIDFTK
KQGYGRIEHLKTPEQNVELASAELKADEKSHAVILGDTRYGGEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIREKVHEIGIAGKQ

SEQ ID NO: 17 – cepa 193-4286

MNRTAFCCLSLTTALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKGLQSLMLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFD
FIRQIEVDGQTITLASGEFQIYKQNHSAVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPDGKAEYHGKAFSSDDPNGRLHYSIDFTK
KQGYGRIEHLKTPEQNVELASAELKADEKSHAVILGDTRYGGEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIREKVHEIGIAGKQ

SEQ ID NO: 18 – cepa m1239

MNRTAFCCLSLTTALILTACSSGGGGSGGGGVAADIGTGLADALTAPLDHKDKGLKSLTLEDSIPQNGTLTLSAQGAEKTFKAGDKDNSLNTGKLK
NDKISRFDFVQKIEVDGQTITLASGEFQIYKQNHSAVVALQIEKINNPDKTDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPGGKAEYHGKAFSSDDPNGRL
HYSIDFTKKQGYGRIEHLKTLEQNVELAAAELKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

SEQ ID NO: 19 – cepa 16889

MNRTAFCCLFLTTALILTACSSGGGGSGGGGVAADIGTGLADALTAPLDHKDKGLKSLTLEDSIPQNGTLTLSAQGAEKTFKAGDKDNSLNTGKLK
NDKISRFDFVQKIEVDGQTITLASGEFQIYKQDHSAVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPGGKAEYHGKAFSSDDAGGKL
TYTIDFAAKQGHGKIEHLKTPEQNVELAAAELKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEISIAGKQ

SEQ ID NO: 20 – cepa gb355

MNRTAFCCLFLTTALILTACSSGGGGSGSGGVAADIGTGLADALTTPLDHKDKGLKSLTLEDSIPQNGTLTLSAQGAEKTFKAGDKDNSLNTGKLK
NDKISRFDFVQKIEVDGQTITLASGEFQIYKQDHSAVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPGGKAEYHGKAFSSDDAGGKL
TYTIDFAAKQGHGKIEHLKTPEQNVELAAAELKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEISIAGKQ

SEQ ID NO: 21 – cepa m3813

MNRTAFCCLFLTTALILTACSSGGGGSGGIAADIGTGLADALTAPLDHKDKGLKSLTLEDSIPQNGTLTLSAQGAEKTFKAGDKDNSLNTGKLKND
KISRFDFVQKIEVDGQTITLASGEFQIYKQDHSAVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPGGKAEYHGKAFSSDDAGGKLTY
TIDFAAKQGHGKIEHLKTPEQNVELAAAELKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

SEQ ID NO: 22 – cepa ngp165

MNRTTFCCLSLTTALILTACSSGGGGSGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKGLKSLTLEDSIPQNGTLTLSAQGAEKTFKAGGKDNSLNTGKLK
NDKISRFDFVQKIEVDGQTITLASGEFQIYKQDHSAVVALQIEKINNPDKTDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPGGKAEYHGKAFSSDDPNGRL
HYTIDFTNKQGYGRIEHLKTPEQNVELASAELKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

SEQ ID NO: 23 – cepa fa1090

MNRTTFCCLSLTAGPDSDRLQQRRGGGGGVAADIGTGLADALTAPLDHKDKGLKSLTLEASIPQNGTLTLSAQGAEKTFKAGGKDNSLNTGKLKND
KISRFDFVQKIEVDGQTITLASGEFQIYKQDHSAVVALRIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSDLGGEHTAFNQLPDGKAEYHGKAFSSDDADGKLTY
TIDFAARQGHGKIEHLKTPEQNVELASAELKADEKSHAVILGDTRYGGEEKGTYRLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIADKQ

FIGURA 8C

SEQ ID NO: 24 – cepa MC58
CSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKGLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFDFIRQIEVDGQLITLESGEF
QVYKQSHSALTAFQTEQIQDSEHSGKMVAKRQFRIGDIAGEHTSFDKLPEGGRATYRGTAFGSDDAGGKLTYTIDFAAKQGNGKIEHLKSPELNVD
LAAADIKPDGKRHAVISGSVLYNQAEKGSYSLGIFGGKAQEVAGSAEVKTVNGIRHIGLAAKQ

SEQ ID NO: 25 – cepa gb185
CSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKGLQSLMLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFDFIRQIEVDGKLITLESGEF
QVYKQSHSALTALQTEQVQDSEDSGKMVAKRQFRIGDIAGEHTSFDKLPKGGSATYRGTAFGSDDAGGKLTYTIDFAAKQGHGKIEHLKSPELNVE
LATAYIKPDEKRHAVISGSVLYNQDEKGSYSLGIFGGQAQEVAGSAEVETANGIHHIGLAAKQ

SEQ ID NO: 26 – cepa m4030
CSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFDFIRQIEVDGQLITLESGEF
QVYKQSHSALTALQTEQVQDSEDSGKMVAKRQFRIGDIAGEHTSFDKLPKGGSATYRGTAFGSDDAGGKLTYTIDFAAKQGHGKIEHLKSPELNVE
LATAYIKPDEKRHAVISGSVLYNQDEKGSYSLGIFGGQAQEVAGSAEVETANGIHHIGLAAKQ

SEQ ID NO: 27 – cepa iss1001
CSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFDFIRQIEVDGQLITLESGEF
QVYKQSHSALTALQTEQEQDPEHSGKMVAKRRFRIGDIAGEHTSFDKLPKDVMATYRGTAFGSDDAGGKLTYTIDFAAKQGHGKIEHLKSPELNVE
LATAYIKPDEKRHAVISGSVLYNQDEKGSYSLGIFGGQAQEVAGSAEVETANGIHHIGLAAKQ

SEQ ID NO: 28 – cepa lmp17592
CSSGGGGSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKGLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFDFIRQIEVDGQLITL
ESGEFQVYKQSHSALTALQTEQVQDSEDSGKMVAKRQFRIGDIAGEHTSFDKLPKGGSATYRGTAFGSDDAGGKLTYTIDFAVKQGHGKIEHLKSP
ELNVDLAAAYIKPDKKRHAVISGSVLYNQDEKGSYSLGIFGGQAQEVAGSAEVETANGIHHIGLAAKQ

SEQ ID NO: 29 – cepa f6124
CSSGGGGVAADIGAVLADALTAPLDHKDKSLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFDFIRQIEVDGQLITLESGEF
QVYKQSHSALTALQTEQVQDSEHSGKMVAKRQFRIGDIAGEHTSFDKLPEGGRATYRGTAFGSDDASGKLTYTIDFAAKQGHGKIEHLKSPELNVD
LAASDIKPDKKRHAVISGSVLYNQAEKGSYSLGIFGGQAQEVAGSAEVETANGIRHIGLAAKQ

SEQ ID NO: 30 – cepa m198172
CSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFDFIRQIEVDGQLITLESGEF
QVYKQSHSALTALQTEQVQDSEHSGKMVAKRQFRIGDIAGEHTSFDKLPEGGRATYRGTAFGSDDASGKLTYTIDFAAKQGHGKIEHLKSPELNVD
LAASDIKPDKKRHAVISGSVLYNQAEKGSYSLGIFGGQAQEVAGSAEVETANGIRHIGLAAKQ

SEQ ID NO: 31 – cepa m2197
CSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKGLQSLMLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFDFIRQIEVDGQLITLESGEF
QVYKQSHSALTALQTEQVQDSEHSGKMVAKRQFRIGDIAGEHTSFDKLPEGGRATYRGTAFGSDDAGGKLIYTIDFAAKQGHGKIEHLKSPELNVD
LAAAYIKPDEKRHAVISGSVLYNQAEKGSYSLGIFGGKAQEVAGSAEVKTVNGIRHIGLAAKQ

SEQ ID NO: 32 – cepa m2937
CSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKGLRSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFDFIRQIEVDGQLITLESGEF
QVYKQSHSALTALQTEQEQDLEHSGKMVAKRRFRIGDIAGEHTSFDKLREGGRATYRGTAFGSDDAGGKLTYTIDFAAKQGYGKIEHLKSPELNVD
LAAADIKPDEKRHAVISGSVLYNQDEKGSYSLGIFGGEAQEVAGSAEVKTANGIHHIGLAAKQ

SEQ ID NO: 33 – cepa 961-5945
CSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFDFIRQIEVDGQLITLESGEF
QIYKQDHSAVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPDGKAEYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAAKQGHGKIEHLKTPEQNVEL
AAAELKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

SEQ ID NO: 34 – cepa gb013
CSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFDFIRQIEVDGQLITLESGEF
QIYKQDHSAVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPSGKAEYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAAKQGHGKIEHLKTPEQNVEL
ASAELKADEKSHAVILGDTRYGGEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIREKVHEIGIAGKQ

SEQ ID NO: 35 – cepa 860800
CSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKGLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFDFIRQIEVDGQLITLESGEF
QIYKQDHSAVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPSGKAEYHGKAFSSDDPNGRLHYSIDFTKKQGYGRIEHLKTPEQNVEL
ASAELKADEKSHAVILGDTRYGGEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIREKVHEIGIAGKQ

FIGURA 8D

SEQ ID NO: 36 – cepa 95n477
CSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFDFIRQIEVDGQLITLESGEF
QIYKQDHSAVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPSGKAEYHGKAFSSDDPNGRLHYSIDFTKKQGYGRIEHLKTPEQNVEL
ASAELKADEKSHAVILGDTRYGGEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIREKVHEIGIAGKQ

SEQ ID NO: 37 – cepa m2671
CSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFDFIRQIEVDGQLITLESGEF
QIYKQDHSAVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPGGKAEYHGKAFSSDDPNGRLHYSIDFTKKQGYGRIEHLKTPEQNVEL
ASAELKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIREKVHEIGIAGKQ

SEQ ID NO: 38 – cepa 1000
CSSGGGGVAADIGAGLADALTTPLDHRDKSLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFDFIRQIEVDGQTITLASGEF
QIYKQNHSAVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPDGKAEYHGKAFSSDDPNGRLHYSIDFTKKQGYGRIEHLKTPEQNVEL
ASAELKADEKSHAVILGDTRYGGEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIREKVHEIGIAGKQ

SEQ ID NO: 39 – cepa m3279
CSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFDFIRQIEVDGQTITLASGEF
QIYKQNRSAVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPDGKAEYHGKAFSSDDPNGRLHYSIDFTKKQGYGRIEHLKTPEQNVEL
ASAELKADEKSHAVILGDTRYGGEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIREKVHEIGIAGKQ

SEQ ID NO: 40 – cepa 193-4286
CSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHRDKGLQSLMLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFDFIRQIEVDGQTITLASGEF
QIYKQNHSAVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPDGKAEYHGKAFSSDDPNGRLHYSIDFTKKQGYGRIEHLKTPEQNVEL
ASAELKADEKSHAVILGDTRYGGEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIREKVHEIGIAGKQ

SEQ ID NO: 41 – cepa m1239
CSSGGGGSGGGGVAADIGTGLADALTAPLDHKDKGLKSLTLEDSIPQNGTLTLSAQGAEKTFKAGDKDNSLNTGKLKNDKISRFDFVQKIEVDGQT
ITLASGEFQIYKQNHSAVVALQIEKINNPDKTDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPGGKAEYHGKAFSSDDPNGRLHYSIDFTKKQGYGRIEHLK
TLEQNVELAAAELKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

SEQ ID NO: 42 – cepa 16889
CSSGGGGSGGGGVAADIGTGLADALTAPLDHKCKGLKSLTLEDSIPQNGTLTLSAQGAEKTFKAGDKDNSLNTGKLKNDKISRFDFVQKIEVDGQT
ITLASGEFQIYKQDHSAVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPGGKAEYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAAKQGHGKIEHLK
TPEQNVELAAAELKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEISIAGKQ

SEQ ID NO: 43 – cepa gb355
CSSGGGGSGSGGVAADIGTGLADALTTPLDHKDKGLKSLTLEDSIPQNGTLTLSAQGAEKTFKAGDKDNSLNTGKLKNDKISRFDFVQKIEVDGQT
ITLASGEFQIYKQDHSAVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPGGKAEYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAAKQGHGKIEHLK
TPEQNVELAAAELKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

SEQ ID NO: 44 – cepa m3813
CSSGGGGSGGIAADIGTGLADALTAPLDHKDKGLKSLTLEDSIPQNGTLTLSAQGAEKTFKAGDKDNSLNTGKLKNDKISRFDFVQKIEVDGQTIT
LASGEFQIYKQDHSAVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPGGKAEYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAAKQGHGKIEHLKTP
EQNVELAAAELKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

SEQ ID NO: 45 – cepa ngp165
CSSGGGGSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKGLKSLTLEDSIPQNGTLTLSAQGAEKTFKAGGKDNSLNTGKLKNDKISRFDFVQKIEVDGQT
ITLASGEFQIYKQDHSAVVALQIEKINNPDKTDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPGGKAEYHGKAFSSDDPNGRLHYTIDFTNKQGYGRIEHLK
TPEQNVELASAELKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

SEQ ID NO: 46 – secuencia N terminal para expresión
GPDSDRLQQRRG

SEQ ID NO: 47 – cebador de PCR
CGCGGATCCCATATGGTCGCCGCCGACATCG

SEQ ID NO: 48 – cebador de PCR
CCCGCTCGAGTTGCTTGGCGGCAAGGC

SEQ ID NO: 49 – cebador de PCR
CGCGGATCCCATATGGGCCCTGATTCTGACCGCCTGCAGCAGCGGAGGGTCGCCGCCGACATCGG

FIGURA 8E

SEQ ID NO: 123 – cepa ***FN131217***

MNRTAFCCLSLTAALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFD
FIRQIEVDGQLITLESGEFQVYKQSHSALTALQTEQVQDSEHSGKMVAKRQFRIGDIAGEHTSFDKLPEGGRATYRGTAFGSDDASGKLTYTIDFA
AKQGHGKIEHLKSLELNVDLAASDIKPDKKRHAVISGSVLYNQAEKGSYSLGIFGGQAQEVAGSAEVETANGIRHIGLAAKQ

SEQ ID NO: 124 – cepa ***ES14933***

MNRTAFCCFSLTAALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFD
FIRQIEVDGQLITLESGEFQIYKQDHSALTALQTEQEQDPEHSGKMVAKRRFKIGDIAGEHTSFDKLPKDVMATYRGTAFGSDDAGGKLTYTIDFA
AKQGHGKIEHLKSPELNVELATAYIKPDEKHHAVISGSVLYNQDEKGSYSLGIFGGQAQEVAGSAEVETANGIHHIGLAAKQ

SEQ ID NO: 125 – cepa ***GB0993***

MNRTAFCCLSLTTALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKGLQSLMLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFD
FIRQIEVDGQLITLESGEFQVYKQSHSALTALQTEQVQDSEDSGKMVAKRQFRIGDIAGEHTSFDKLPKDVMATYRGTAFGSDDAGGKLTYTIDFA
AKQGHGKIEHLKSPELNVELAAAYIKPDEKHHAVISGSVLYNQDEKGSYSLGIFGGQAQEVAGSAEVETANGIQHIGLAAKQ

SEQ ID NO: 126 – cepa ***M6190***

MNRTTFCCLSLTAALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKGLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFD
FIRQIEVNGQLITLESGEFQVYKQSHSALTALQTEQVQDSEHSRKMVAKRQFRIGDIAGEHTSFDKLPKGDSATYRGTAFGSDDAGGKLTYTIDFA
AKQGYGKIEHLKSPELNVDLAAAYIKPDEKHHAVISGSVLYNQDEKGSYSLGIFGGQAQEVAGSAEVKTANGIRHIGLAAKQ

FIGURA 8F

SEQ ID NO: 127 – cepa F19324

MNRTAFCCLSLTAALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFD
FIRQIEVDGQLITLESGEFQVYKQSHSALTAFQTEQIQDSEHSGKMVAKRQFRIGDIAGEHTSFDKLPEGGRATYRGTAFGSDDAGGKLTYTIDFA
AKQGNGKIEHLKSPELNVDLAAADIKPDGKRHAVISGSVLYNQAEKGSYSLGIFGGKAQEVAGSAEVKTVNGIRHIGLAAKQ

SEQ ID NO: 128 – cepa ISS1113

MNRTAFCCLSLTTALILTACSSGGGGVTADIGTGLADALTAPLDHKDKGLKSLTLEDSISQNGTLTLSAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFD
FIRQIEVDGKLITLESGEFQVYKQSHSALTALQTEQVQDSEDSGKMVAKRQFRIGDIAGEHTSFDKLPKGGSATYRGTAFGSDDAGGKLTYTIDFA
AKQGHGKIEHLKSPELNVELATAYIKPDEKRHAVISGSVLYNQDEKGSYSLGIFGGQAQEVAGSAEVETANGIHHIGLAAKQ

SEQ ID NO: 129 – cepa gb0345

MNRTAFCCFSLTAALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKGLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFD
FIRQIEVDGKLITLESGEFQVYKQSHSALTALQTEQVQDSEDSGKMVAKRQFRIGDIAGEHTSFDKLPKGGSATYRGTAFGSDDAGGKLTYTIDFA
AKQGHGKIEHLKSPELNVELATAYIKPDEKRHAVISGSVLYNQDEKGSYSLGIFGGQAQEVAGSAEVETANGIHHIGLAAKQ

SEQ ID NO: 130 – cepa M0445

MNRTAFCCLSLTAALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKGLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFD
FIRQIEVDGQLITLESGEFQVYKQSHSALTALQTEQVQDSEDSGKMVAKRQFRIGDIAGEHTSFDKLPKGGSATYRGTAFSSDDAGGKLTYTIDFA
AKQGHGKIEHLKSPELNVELATAYIKPDEKRHAVISGSVLYNQDEKGSYSLGIFGGQAQEVAGSAEVETANGIQHIGLAAKQ

SEQ ID NO: 131 – cepa MK82

MNRTAFCCLSLTAALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFD
FIRQIEVDGQLITLESGEFQIYKQDHSAVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPVDKAEYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAA
KQGHGKIEHLKTPEQNVELASAELKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

SEQ ID NO: 132 – cepa 8047

MNRTAFCCLSLTAALILTACSSGGGGVAADIGARLADALTAPLDHRDRSLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFD
FIRQIEVDGQLITLESGEFQIYKQDHSAVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPDGKAEYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAA
KQGHGKIEHLKTPEQNVELAAAELKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

SEQ ID NO: 133 – cepa C4678

MNRTAFCCLSLTTALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFD
FIRQIEVDGQLITLESGEFQIYKQDHSAVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPGGKAEYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAA
KQGHGKIEHLKTPEQNVELAAAELKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

SEQ ID NO: 134 – cepa ISS1133

MNRTAFCCLSLTTALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKGLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFD
FIRQIEVDGQLITLESGEFQIYKQDHSAVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPDGKAEYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAA
KQGHGKIEHLKTPEQNVELAAAELKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

SEQ ID NO: 135 – cepa NG6/88

MNRTAFCCLSLTTALILTACSSGGGGVAADIGTGLADALTAPLDHKDKGLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFD
FIRQIEVDGQLITLESGEFQIYKQDHSAVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPSGKAEYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAA
KQGHGKIEHLKTPEQNVELASAELKADEKSHAVILGDTRYGGEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIREKVHEIGIAGKQ

SEQ ID NO: 136 – cepa M0579

MNRTAFCCLSLTAALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFD
FIRQIEVDGQLITLESGEFQIYKQDHSAVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPSGKAEYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAA
KQGHGKIEHLKTPEQNVELASAELKADEKSHAVILGDTRYGGEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIREKVHEIGIAGKQ

SEQ ID NO: 137 – cepa F16325

MNRTAFCCFSLTAALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKGLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFD
FIRQIEVDGQLITLESGEFQIYKQDHSAVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPSGKAEYHGKAFSSDDPNGRLRYSIDFTK
KQGYGRIEHLKTPEQNVELASAELKADEKSHAVILGDTRYGGEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIREKVHEIGIAGKQ

SEQ ID NO: 138 – cepa gb988

MNRTTFCCLSLTAALILTACSSGGGGSGGGGVAADIGTGLADALTAPLDHKDKGLKSLTLEDSIPQNGTLTLSAQGAEKTFRAGDKDNSLNTGKLK
NDKISRFDFVQRIEVDGQTITLASGEFQIYKQNHSAVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPGDKAEYHGKAFSSDDPNGRL
HYTIDFTNKQGYGRIEHLKTPELNVDLASAELKADERSHAVILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

FIGURA 8G

SEQ ID NO: 139 – *cepa 220173i*

MNRTAFCCLSLTTALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKGLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFD
FIRQIEVDGQLITLESGEFQVYKQSHSALTAFQTEQIQDSEHSGKMVAKRQFRIGDIAGEHTSFDKLPEGGRATYRGTAFGSDDAGGKLTYTIDFA
AKQGNGKIEHLKSPELNVDLAAADIKPDGKRHAVISGSVLYNQAEKGSYSLGIFGGKA

SEQ ID NO: 140 – *cepa gb101*

MNRTTFCCLSLTAALILTACSSGGGGSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKGLKSLTLEDSISQNGTLTLSAQGAERTFKAGDKDNSLNTGKLK
NDKISRFDFIRQIEVDGQLITLESGEFQVYKQSHSALTALQTEQVQDSEHSGKMVAKRQFRIGDIVGEHTSFGKLPKDVMATYRGTAFGSDDAGGK
LTYTIDFAAKQGHGKIEHLKSPELNVDLAAADIKPDEKHHAVISGSVLYNQAEKGSYSLGIFGGQAQEVAGSAEVETANGIRHIGLAAKQ

SEQ ID NO: 141 – *cepa nge31*

MNRTAFCCLSLTAALILTACSSGSGGGGVAADIGTGLAYALTAPLDHKDKSLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSR
FDFIRQIEVDGQLITLESGEFQIYKQDHSAVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPGGKAEYHGKAFSSDDPNGRLHYSIDF
TKKQGYGRIEHLKTPEQNVELASAELKADEKSHAVILGDTRYGGEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIREKVHEIGIAGKQ

SEQ ID 142 – *Triple tándem de MB1870 (MC58, 2996 y m1239)*

VAADIGAGLADALTAPLDHKDKGLQSLTLDQSVRKNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFDFIRQIEVDGQLITLESGEFQVYKQSH
SALTAFQTEQIQDSEHSGKMVAKRQFRIGDIAGEHTSFDKLPEGGRATYRGTAFGSDDAGGKLTYTIDFAAKQGNGKIEHLKSPELNVDLAAADIK
PDGKRHAVISGSVLYNQAEKGSYSLGIFGGKAQEVAGSAEVKTVNGIRHIGLAAKQGSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSLTLDQSVR
KNEKLKLAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRFDFIRQIEVDGQLITLESGEFQIYKQDHSAVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSGLGGE
HTAFNQLPDGKAEYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAAKQGHGKIEHLKTPEQNVELAAAELKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEI
AGSATVKIGEKVHEIGIAGKQGSGGGGVAADIGTGLADALTAPLDHKDKGLKSLTLEDSIPQNGTLTLSAQGAEKTFKAGDKDNSLNTGKLKNDKI
SRFDFVQKIEVDGQTITLASGEFQIYKQNHSAVVALQIEKINNPDKTDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPGGKAEYHGKAFSSDDPNGRLHYSI
DFTKKQGYGRIEHLKTLEQNVELAAAELKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

SEQ ID 143 – ***NadA*** *de cepas Haji*

MKHFPSKVLTTAILATFCSGALAATNDDDVKKAATVAIAAAYNNGQEINGFKAGETIYDIDEDGTITKKDATAADVEADDFKGLGLKKVVTNLTKT
VNENKQNVDAKVKAAESEIEKLTTKLADTDAALADTDAALDATTNALNKLGENITTFAEETKTNIVKIDEKLEAVADTVDKHAEAFNDIADSLDET
NTKADEAVKTANEAKQTAEETKQNVDAKVKAAETAAGKAEAAAGTANTAADKAEAVAAKVTDIKADIATNKDNIAKKANSADVYTREESDSKFVRI
DGLNATTEKLDTRLASAEKSITEHGTRLNGLDRTVSDLRKETRQGLAEQAALSGLFQPYNVGRFNVTAAVGGYKSESAVAIGTGFRFTENFAAKAG
VAVGTSSGSSAAYHVGVNYEW

SEQ ID NO: 144 – *enlazador de glicina*

GSGGGG

FIGURA 8H

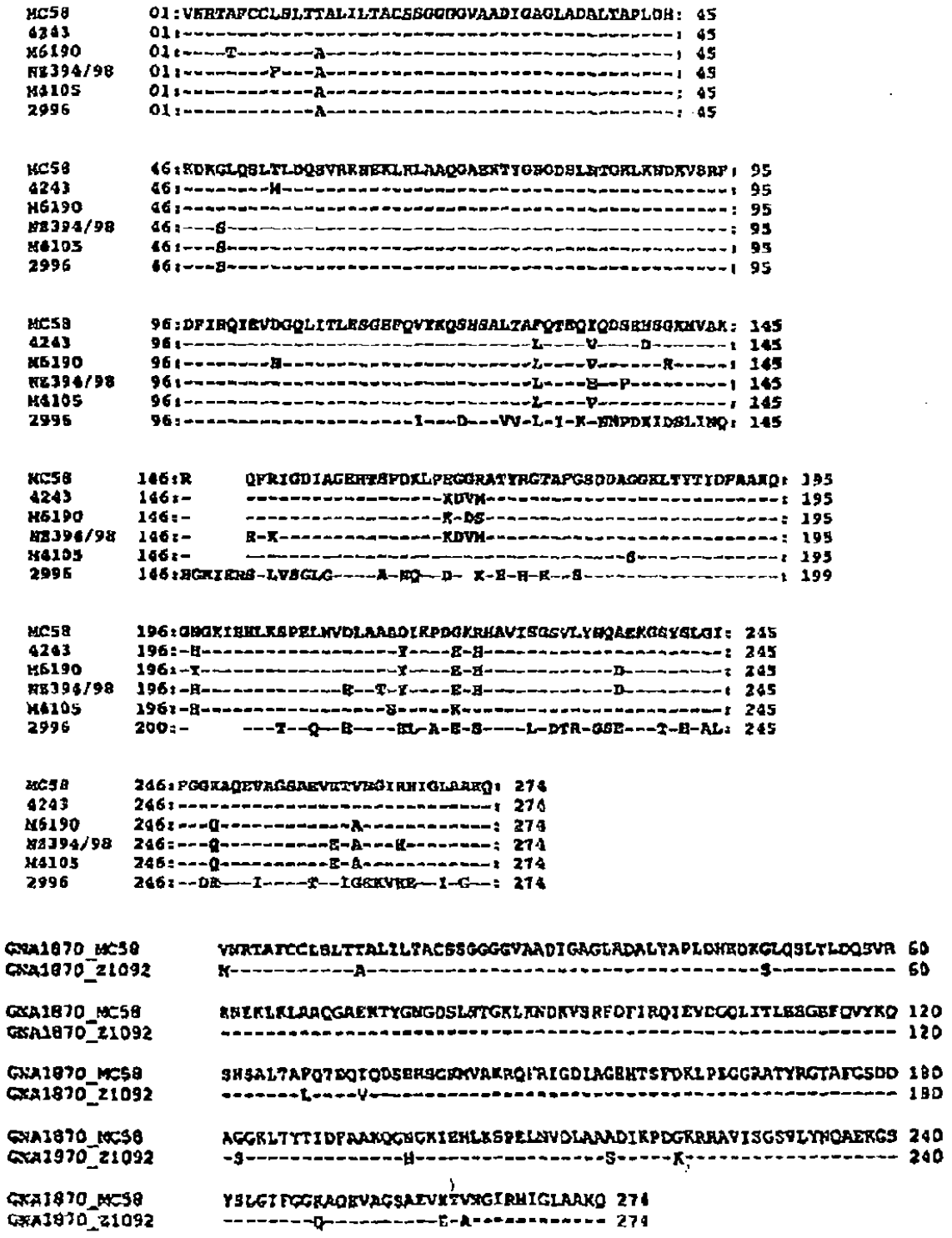

MC58
4243
M6190
NZ394/98
M4105
2996
GNA1870_MC58
GNA1870_Z1092

FIGURA 9

A

```
VR1 5     PLQ--NIQ-P ---------- ---QVTK R
VR1 7     AQAA-NGG-- -----ASGQV KVTKVTK A
VR1 12    KLSSTNAK-- --TGN----- KVE-VTK A
VR1 17    PPQK-NQSQP ---------- -V--VTK A
VR1 18    PPSK--G-Q- --TGN----- ---KVTK G
VR1 19    PPSK---SQP ---------- QV-KVTK A
VR1 20    QPQTANT--- -QQGG----- KV-KVTK A
VR1 21    QPQVTNG--- -VQGN----- QV-KVTK A
VR1 22    QPSKAQG-Q- --TNN----- QV-KVTK A
VR1 31    PPSSNQGKNQ AQTGNT---- ----VTK A
```

B

```
VR2 1       YV-AVENGV- ---------- AKKVA
VR2 2       HF-VQQTP-- -------KSQ PTLVP
VR2 3       TL-ANGANNT II-------- --RVP
VR2 4       HV-VVNNK-- ---------V ATHVP
VR2 9       YV-DEQ---- ---------- SKYHA
VR2 10      HF-VQNK--- ------QNQR PTLVP
VR2 13      YW-TTV-NTG SATTTTT--- --FVP
VR2 14      YV-DEKK--- ---------- -MVHA
VR2 15      HY-TRQNN-- ---------A DVFVP
VR2 16      YY-TKDT--- -------NNN LTLVP
VR2 23      HW-NTVYNTN GTTTT----- --FVP
VR2 25      TY-TVDSS-- --------GV VTPVP
VR2 26      HF-VADS--- -------QGK ITRVP
VR2 28      YYYTTATNSS TSTT------ --FVP
VR2 30      HY-TTVYN-- -ATTTTTT-- --FVP
VR2 34      YV-DDQGK-- ---------- -VKGP
VR2 35      TF-TLESN----------QMK --PVP
```