

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 633 738**

51 Int. Cl.:

C07K 14/195	(2006.01)
A61K 39/40	(2006.01)
C07K 16/12	(2006.01)
A61K 39/02	(2006.01)
C07K 4/04	(2006.01)
G01N 33/569	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.08.2009 PCT/AU2009/001112**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.03.2010 WO10022463**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.08.2009 E 09809116 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.05.2017 EP 2328914**

54 Título: **Prevención, tratamiento y diagnóstico de la infección por p. gingivales**

30 Prioridad:

29.08.2008 AU 2008904476
23.10.2008 AU 2008905483
09.02.2009 US 151132 P
30.06.2009 AU 2009903052

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
25.09.2017

73 Titular/es:

ORAL HEALTH AUSTRALIA PTY LTD (100.0%)
Faculty of Medicine, Dentistry and Health
Sciences Melbourne Dental School Level 6, 720
Swanston Street
Carlton, VIC 3053, AU

72 Inventor/es:

REYNOLDS, ERIC CHARLES;
O'BRIEN SIMPSON, NEIL MARTIN;
CROSS, KEITH J. y
SLAKESKI, NADA

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 633 738 T3

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

Prevención, tratamiento y diagnóstico de la infección por *P. gingivales*

Descripción

5

Campo de la invención

[0001] La invención se refiere a péptidos y proteínas quiméricas o de fusión y al uso de estas proteínas para provocar respuestas celulares y humorales para la prevención y el tratamiento de *P. gingivales*- condiciones y enfermedades relacionadas.

10

Antecedentes de la invención

[0002] Periodontitis crónica es una enfermedad inflamatoria de los tejidos de soporte de los dientes que conducen a la resorción de hueso alveolar y la pérdida de dientes eventual. La enfermedad es un importante problema de salud pública en todas las sociedades y se estima que afecta hasta el 15% de la población adulta con formas graves que afectan al 5-6%.

15

[0003] El desarrollo y la progresión de la periodontitis crónica se han asociado con las bacterias Gram-negativas específicas en la placa subgingival. La presencia de *Porphyromonasgingivales* en placa subgingival ha sido fuertemente asociada con la enfermedad.

20

[0004] La persistencia de *P. gingivales* en placa subgingival de pacientes con periodontitis después del tratamiento (raspado y alisado radicular) se ha informado de que se asociaron significativamente con la pérdida progresiva del hueso alveolar. Además un incremento en el número de células *P.gingivales* en placa subgingival se ha demostrado que se correlaciona con la gravedad de la enfermedad, medida por la pérdida de inserción, profundidad de la bolsa periodontal y sangrado al sondaje.

25

[0005] La infección oral con *P. gingivales* se ha demostrado que induce la pérdida de hueso periodontal en ratones, ratas y primates no humanos. Además, ha habido una creciente vinculación de la enfermedad periodontal, y de infección *P. gingivales*, con las enfermedades cardiovasculares y ciertos cánceres.

30

[0006] Se ha descrito una serie de factores de virulencia para contribuir a la patogenicidad de *P. gingivales* incluyendo; LPS, fimbrias, hemaglutinina, hemolisina y las enzimas hidrolíticas extracelulares (especialmente proteinasas específicas Arg-X y Lys-X), también conocidas como "enzimas similares a la tripsina *P. gingivales*".

35

[0007] La magnitud del problema de salud pública es tal que hay una necesidad de un antisuero, particularmente anticuerpos específicos que proporcionan una respuesta protectora fuerte para la infección *P. gingivales* y medios para proporcionar la misma.

40

[0008] Un problema ha sido que no está claro cómo obtener una respuesta protectora fuerte a la infección por *P. gingivales*, donde hay una gran cantidad de factores de virulencia de la que elegir.

[0009] La inmunogenicidad relativa de epítomos entre los factores de virulencia no se entiende bien, ni es la inmunogenicidad relativa de epítomos en un factor dado, en particular cuando no está claro en cuanto a si más epítomos aún no se han identificado.

45

[0010] Un problema particular ha sido que muchos factores de virulencia se forman a partir de múltiples dominios y son difíciles de expresar de manera que presente una conformación próxima a la encontrada en *P.gingivales* Además, cuando estos dominios se expresan como unidades discretas es decir, en el aislamiento de otros dominios del factor de virulencia, tienden a plegarse en una conformación distinta de la que se encuentra en la *P. gingivalis*.

50

[0011] Además, de las muchas opciones diferentes para modificar la inmunogenicidad de un factor de virulencia que no está claro que sería más probable que proporcione una respuesta inmune protectora.

[0012] En el trabajo que condujo a la presente invención los inventores han identificado péptidos que tienen una secuencia de aminoácidos que es la misma que, o que comparte homología con, una secuencia de aminoácidos que forma una región de una enzima de tripsina de *P. gingivalis*, definiendo dicha región un sitio en dicha enzima para la escisión de un terminal C situado en enlace peptídico a Lys o Arg en un péptido que contiene Lys o Arg, y se incorpora un péptido tal en una proteína quimérica o de fusión que, cuando se utiliza como una vacuna, proporciona una mejor protección contra la destrucción del tejido periodontal de complejo de proteinasa-adhesina purificada formada a partir de enzima nativa de tipo tripsina *P.gingivales* o células enteras muertas.

60

Resumen de la invención y la descripción

[0013] La presente invención proporciona una proteína quimérica o de fusión capaz de inducir una respuesta inmune a *P. gingivalis*, comprendiendo la proteína un primer péptido unido directamente o a través de un conector a un

65

segundo polipéptido, en el que:

(A) dicho primer péptido comprende una región de una enzima similar a tripsina de *P.gingivales* seleccionada del grupo que consiste en:

- (i) una secuencia que es la misma que la secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 1;
- (ii) una secuencia que es la misma que la secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 2;
- (iii) la secuencia mostrada en una de las SEQ ID Nos: 27 a 30; y
- (iv) la secuencia mostrada en una de las SEQ ID Nos: 31 a 34;

(B) comprendiendo dicho segundo polipéptido un dominio de adhesión de *P. gingivalis*, seleccionado del grupo que consiste en:

- (i) una secuencia que es la misma que la secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 35; y
- (ii) una secuencia que es la misma que la secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 36 ó 37.

[0014] Se da a conocer en el presente documento una proteína quimérica o de fusión para inducir una respuesta inmune a *P. gingivalis*, incluyendo la proteína un primer péptido unido directamente o a través de un conector a un segundo péptido, en donde:

(A) dicho primer péptido incluye:

- (i) parte o la totalidad de una secuencia que es la misma que, o homóloga a la secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 1; o
- (ii) una parte o la totalidad de una secuencia que es igual a, o homóloga a la secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 2; y

(B) dicho segundo péptido incluye:

- (i) una parte o la totalidad de una secuencia que es igual o homóloga a la secuencia de un dominio de adhesina incluyendo un péptido unido directamente o a través de un enlazador a un polipéptido, en el que:

(A) dicho péptido incluye:

- (i) una parte o la totalidad de una secuencia que es igual a, o homóloga a la secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 1; o
- (ii) una parte o la totalidad de una secuencia que es igual o homóloga a la secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 2; y

(B) dicho polipéptido incluye:

- (i) parte, o la totalidad de una secuencia que es la misma que, o homóloga a la secuencia de un dominio de adhesina de la Lys-X-proteinasa de *P. gingivales*; o
- (ii) parte de, o la totalidad de una secuencia que es la misma que, o homóloga a la secuencia de un dominio de adhesina de la Arg-X-proteinasa de *P. gingivales*; o
- (iii) parte de, o la totalidad de una secuencia que es la misma que, o homóloga a la secuencia de un dominio de adhesina HagA de *P. gingivales*.

[0015] También se describe aquí una proteína quimérica o de fusión para inducir una respuesta inmune a *P. gingivales*, incluyendo la proteína un péptido unido directamente o a través de un enlazador a un polipéptido, en el que:

(A) dicho péptido incluye:

- (i) parte de, o toda la secuencia que es igual a, o homóloga a la secuencia mostrada en SEQ ID No:1; o
- (ii) Parte de, o toda la secuencia que es igual a, o homóloga a la secuencia mostrada en SEQ ID No:2; y

(B) dicho polipéptido incluye:

- (i) parte de, o toda la secuencia que es igual a, o homóloga a la secuencia de un dominio de adhesina de la Lys-X-proteinasa de *P. gingivales*; o

(ii) parte de, o toda una secuencia que es igual o homóloga a la secuencia de un dominio de adhesina de la Arg-X-proteinasa de *P. gingivales*; o

5 (iii) una parte o la totalidad de una secuencia que es igual o homóloga a la secuencia de un dominio de adhesina HagA de *P. gingivales*.

[0016] También se describe aquí un péptido para inducir una respuesta inmune a *P. gingivales*, teniendo el péptido una secuencia:

10 (i) que es igual a, o homóloga a la secuencia mostrada en una de las SEQ ID NO: 64 a 66; y

(ii) que es igual a, o homóloga a la secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 67 ó 68.

15 **[0017]** El péptido que tiene una secuencia que es la misma que u homóloga a la secuencia mostrada en una de SEQ ID No: 64 a 68 pueden proporcionarse en la forma de una proteína quimérica o de fusión en la que el péptido se une directamente o a través de un enlazador a un segundo péptido, en el que el segundo péptido incluye:

20 (i) parte, o la totalidad de una secuencia que es la misma que, o homóloga a la secuencia de un dominio de adhesina de la Lys-X-proteinasa de *P. gingivales*; o

(ii) una parte o la totalidad de una secuencia que es igual o homóloga a la secuencia de un dominio de adhesina del Arg-X-proteinasa de *P. gingivales*; o

25 (iii) parte o la totalidad de una secuencia que es igual o homóloga a la secuencia de un dominio de adhesina HagA de *P. Gingivales*

[0018] En aún otro aspecto, la invención proporciona una composición tal como una composición antigénica, en particular una composición de vacuna, incluyendo una proteína o péptido quimérico o de fusión como se describe ampliamente anteriormente, opcionalmente en asociación con un adyuvante.

30 **[0019]** En este aspecto, la invención también proporciona una proteína quimérica o de fusión o una composición para uso en un método para prevenir o reducir la incidencia o gravedad de una condición relacionada con *P. gingivales* o enfermedad relacionada en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una proteína quimérica o de fusión como se describió anteriormente, o una composición como se describió anteriormente.

35 **[0020]** En este aspecto, la invención proporciona además el uso de una proteína quimérica o de fusión como se describió anteriormente, o una composición como se ha descrito anteriormente, en, o en la fabricación de un medicamento para prevenir o reducir la incidencia o gravedad de una condición relacionada con *P. gingivales* o enfermedad relacionada en un sujeto.

40 **[0021]** También se describe aquí un anticuerpo, particularmente un anticuerpo monoclonal, dirigido contra una proteína o péptido quimérico o de fusión como se describe ampliamente anteriormente.

45 **[0022]** También se describe aquí un método para prevenir o reducir la gravedad de *P. gingivales* relacionada con la enfermedad o afección en un sujeto, que comprende administrar al sujeto un anticuerpo como se ha descrito anteriormente.

50 **[0023]** También se describe en el presente documento es el uso de un anticuerpo como se describió anteriormente en, o en la fabricación de un medicamento para prevenir o reducir la incidencia o gravedad de una condición relacionada con *P. gingivales* o enfermedad relacionada en un sujeto.

55 **[0024]** En aún otro aspecto, la invención también proporciona una molécula de ácido nucleico que incluye una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína quimérica o de fusión como se describe ampliamente anteriormente, opcionalmente unido operativamente a al menos un elemento regulador.

[0025] En este aspecto, la invención proporciona además un vector que incluye una molécula de ácido nucleico de este tipo, así como una célula procariota o eucariota que incluye una molécula de ácido nucleico.

60 **[0026]** En este aspecto, la invención también proporciona una molécula de ácido nucleico, un vector o una célula procariota o eucariota para su uso en un método para prevenir o reducir la incidencia o gravedad de una afección o enfermedad relacionada con *P.gingivales* en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una molécula de ácido nucleico como se ha descrito anteriormente, un vector como se ha descrito anteriormente, o una célula procariota o eucariótica como se ha descrito anteriormente.

65 **[0027]** En este aspecto, la invención proporciona además el uso de una molécula de ácido nucleico como se ha descrito anteriormente, un vector como se describe anteriormente, o una célula procariota o eucariota tal como se

describe anteriormente, en, o en la fabricación de un medicamento para prevenir o reducir la gravedad de *P. gingivales* relacionada con la enfermedad o afección en un sujeto.

5 [0028] En un aspecto adicional, la invención proporciona un método para el diagnóstico o monitorización de condición relacionada con *P. gingivales* o enfermedad en un sujeto, que comprende el uso de una proteína quimérica o de fusión como se ha descrito arriba para detectar anticuerpos anti-*P.gingivales* en una muestra biológica de dicho sujeto.

10 [0029] En este aspecto, la invención también proporciona el uso de una proteína quimérica o de fusión como se describió anteriormente, para detectar anticuerpos anti-*P.gingivales* en una muestra biológica de un sujeto.

15 [0030] También se describe aquí un método para el diagnóstico o monitorización de una condición relacionada con *P. gingivales* o enfermedad en un sujeto, que comprende el uso de un anticuerpo como se ha descrito anteriormente, para detectar la presencia de *P.gingivales* en una muestra biológica de dicho sujeto.

[0031] También se describe en el presente documento el uso de un anticuerpo como se ha descrito anteriormente, para detectar la presencia de *P.gingivales* en una muestra biológica de un sujeto.

20 [0032] También se describe aquí un uso de un péptido que tiene parte de, o la totalidad de una secuencia que es la misma que, o homóloga a una secuencia de una proteinasa de *P. gingivales* Lys-X o Arg-X, o un ácido nucleico que codifica dicho péptido, para la fabricación de una proteína quimérica o de fusión para inducir una respuesta inmune a la *P. gingivales*. En este aspecto, el péptido puede tener una secuencia mostrada en una de las SEC ID N°: 17, 18, 25 ó 26.

25 **Breve descripción de los dibujos**

[0033]

30 La Figura 1 muestra una tinción de azul de Coomassie del gel SDS-PAGE de Proteínas Kgp recombinantes. Carril 1 = KAS2-KLA1, Carril 2 = KLA1, Carril 3 = KsA1, Carril 4 = KAS1-KsA1. Los marcadores de peso molecular se indican como kDa.

35 La Figura 2 muestra el reconocimiento del anticuerpo del péptido KAS2 y células W50 de *P.gingivales* matadas por formalina. (A) Péptido KAS2 se sondó con antisuero elevado a células W50 de *P.gingivales*(FK-W50) matadas por formalina, proteínas recombinantes KAS1- KsA1, KAS2-KLA1, y el conjugado KAS2-DT sintético y PBS en un ELISA. (B) células W50 de *P.gingivales* matadas por formalina se sondearon con antisueños a células W50 de *P.gingivales*(FK-W50) matadas por formalina, proteínas recombinantes KAS1-KsA1, KAS2-KLA1, KLA1 y PBS en un ELISA. Las respuestas de anticuerpos se expresan como el título ELISA OD₄₁₅ obtenido menos el doble del nivel de fondo, con cada título que representa la media 6 desviación estándar de tres valores.

40 La Figura 3 muestra *P.gingivales* inducida por la pérdida de hueso horizontal de los molares maxilares de ratones inmunizados con las proteínas recombinantes y proteínas de quimera recombinantes, *P.gingivales* matadas por formalina y adyuvante solo (PBS, IFA) o ratones no oralmente infectados (no retados). En esta figura KAS2-KLA1 se muestra como AS2-LA1, KLA1 se muestra como LA1, KAS1-KsA1 se muestra como AS1-sA1, KsA1 se muestra como sA1. La medición de la pérdida ósea es la media del área medida en milímetros al cuadrado (mm²) desde la unión cemento-enamel (CEJ) hasta la cresta alveolar ósea (ABC) del lado bucal de cada molar superior de ambos maxilares izquierdo y derecho. Los datos se distribuyeron normalmente según la homogeneidad de varianza de Levene y se presentaron como media (n = 12) en mm² y se analizaron utilizando el análisis de varianza de una vía y la prueba T3 de Dunnett. *, Indica que el grupo tiene una pérdida ósea significativamente menor (P <0,001) que el grupo control (infectado). t, indica que el grupo tiene significativamente (P <0,001) más pérdida ósea que el grupo AS2-LA1.

55 La Figura 4 muestra las respuestas de subclases de anticuerpos séricos de ratones inmunizados en el modelo de periodontitis. Los sueros de los ratones; A (inoculación pre-oral) y B (inoculación post-oral) inmunizados con proteínas recombinantes KsA1, KLA1, KAS1-KsA1 y KAS2-KLA1 y a la cepa W50 de *P.gingivales* matada por formalina se utilizaron en el ELISA con la Cepa W50 *P.gingivales* matada por formalina como antígeno adsorbido. Las respuestas de anticuerpos IgG (barras negras), IgG1 (barras grises), IgG2a (barras blancas), IgG2b (barras de rayas horizontales), IgG3 (barras diagonales a rayas), se expresan como el título de ELISA (log₂) obtenido menos el nivel de fondo, con cada título que representa la desviación estándar media ± de tres valores.

60 La Figura 5 muestra un análisis PEPSCAN de la reactividad de anticuerpos específicos de péptidos a péptidos superpuestos que representan la secuencia peptídica de KAS2 433-468. (A) Péptidos superpuestos con KAS2 (desplazamiento 1, solape 7) sondado con antisueños KAS1-KsA1 (barras blancas), KAS2-KLA1 (barras negras). (B) péptidos que se solapan KAS2 (desplazamiento, solapamiento 7) sondados con antisueños conjugados con KAS2-DT. Cada barra muestra la reactividad del anticuerpo (densidad óptica [OD] a 415 nm).

65

La Figura 6. Quimera AS2-LA1 induce una respuesta de anticuerpos en ratones exógenos que reconoce células enteras de *P.gingivales* y el complejo RgpA-Kgp. Se inmunizaron ratones CD1 con la quimera AS2-LA1 (50 mg/ratón) y los sueros recogidos utilizados en ELISA con AS2-LA1 (A), cepa W50 de *P.gingivales* matada por formalina y (B) el complejo de RgpA-Kgp (C) como los antígenos absorbidos. En esta figura KAS2-KLA1 se muestra como AS2-LA1. Se determinó el título para cada isotipo de inmunoglobulina para cada antígeno y los datos expresados como el título ELISA ('000) obtenido menos el doble del nivel de fondo, representando cada título la desviación estándar media \pm de tres valores.

Figura 7. Modelo proteico de la proteinasa Kgp. KAS2 [Asn433 - Lys468]. (A) KAS4 [Asp388 - Val395] (B), KAS5 [Asn510 - Asp516] (C) y KAS6 [Ile570 - Tyr580] (D).

Descripción detallada de las formas de realización

[0034] Los inventores han encontrado que las regiones de enzimas similares a tripsina *P.gingivales* que flanquean o de otra manera definen un sitio catalítico o activo para la escisión de un enlace peptídico son altamente inmunogénicas y de hecho suficientes para proporcionar una respuesta humoral a infección *P.gingivales*. En particular, se ha encontrado que una proteína quimérica o de fusión que incluye una o más de estas regiones proporciona protección contra pérdida de hueso alveolar que es mayor que la observada para los antisueros contra células enteras y otros inmunógenos. El hallazgo es particularmente sorprendente, ya que, hasta la fecha, el dominio catalítico de las enzimas similares a la tripsina de *P.gingivales* se ha encontrado para ser relativamente débilmente inmunogénica.

[0035] La presente invención proporciona una proteína quimérica o de fusión capaz de inducir una respuesta inmune a *P.gingivales*, comprendiendo la proteína un primer péptido unido directamente o a través de un conector a un segundo polipéptido, en el que:

(A) dicho primer péptido comprende una región de una enzima similar a tripsina *P.gingivales* seleccionada del grupo que consiste en:

- (i) una secuencia que es la misma que la secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 1;
- (ii) una secuencia que es la misma que la secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 2;
- (iii) la secuencia mostrada en una de las SEQ ID Nos: 27 a 30; y
- (iv) la secuencia mostrada en una de las SEQ ID Nos: 31 a 34;

(B) comprendiendo dicho segundo polipéptido un dominio de adhesión de *P.gingivales*, seleccionado del grupo que consiste en:

- (i) una secuencia que es la misma que la secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 35; y
- (ii) una secuencia que es la misma que la secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 36 ó 37.

[0036] Tal como se utiliza aquí, el término "péptido" se usa para referirse a una secuencia de aminoácidos de hasta aproximadamente 40 residuos de aminoácidos, preferiblemente de 5 a 40 residuos de aminoácidos.

[0037] En una realización, un polipéptido se utiliza en lugar de, o en otras palabras en lugar del "segundo péptido". El término "polipéptido" se usa para referirse a una secuencia de aminoácidos de al menos aproximadamente 40 residuos de aminoácidos.

[0038] Tal como se usa en este documento, una referencia a un "homólogo" de un péptido o polipéptido es una referencia a un péptido o polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos que comparte homología o que es homólogo a, o que tiene identidad con la secuencia de aminoácidos del primer péptido o polipéptido mencionado, preferiblemente al menos 90% de identidad de secuencia, más preferiblemente al menos 95% e incluso más preferiblemente al menos 98% de identidad de secuencia cuando la comparación se realiza mediante un algoritmo BLAST en el que se seleccionan los parámetros del algoritmo para dar la coincidencia más grande entre las respectivas secuencias en toda la longitud de las respectivas secuencias de referencia. La identidad de secuencia se refiere a coincidencias exactas entre los aminoácidos de dos secuencias que se comparan. Tal homólogo puede derivar de una variante natural o aislar la Lys-X-proteinasa o Arg-X-proteinasa de *P.gingivales*. Alternativamente, puede ser una variante de "sustitución conservadora" de un péptido o polipéptido a partir de la Lys-X-proteinasa o Arg-X-proteinasa de *P.gingivales* en el que uno o más residuos de aminoácidos han sido cambiados sin alterar la conformación global y función del péptido o polipéptido; incluyendo, aunque de ninguna manera limitándose, a la sustitución de un aminoácido por uno que tenga propiedades similares. Los aminoácidos con propiedades similares son bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, los aminoácidos polares/hidrófilos que pueden ser intercambiables incluyen asparagina, glutamina, serina, cisteína, treonina, lisina, arginina, histidina, ácido aspártico y ácido glutámico; aminoácidos no polares/hidrófobos que pueden ser intercambiables incluyen glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, tirosina, fenilalanina, triptófano y metionina; aminoácidos que pueden ser intercambiables incluyen ácido aspártico y ácido glutámico y aminoácidos básicos que pueden ser intercambiables incluyen histidina, lisina y arginina. Preferiblemente, tales variantes de sustitución conservativa tienen menos de 20, más

preferiblemente menos de 15, más preferiblemente menos de 10 y más preferiblemente menos de 5 cambios de aminoácidos.

[0039] Una región de una enzima similar a tripsina *P. gingivales*- especialmente Lys-X-proteinasa (Kgp) o Arg-X-proteinasa (rgpA) - que define un sitio de una enzima para la escisión de un enlace peptídico puede ser determinado siguiendo la enseñanza de la especificación en este documento, particularmente en relación a la Figura 7 y en el Ejemplo 9, que ejemplifican el procedimiento para la predicción de conformación tridimensional del sitio catalítico tal como aparece en *P. gingivales* para Lys-X-proteinasa. El Ejemplo 10 proporciona una metodología para modelar la conformación tridimensional de Arg-X-proteinasa.

[0040] En ciertas realizaciones, la proteína quimérica o de fusión, o componentes primero o segundo peptídicos de los mismos pueden estar formados a partir de un peptidomimético. Un peptidomimético es una molécula que imita una o más características de un péptido dado, por ejemplo conformación, y que consiste en residuos de aminoácidos, algunos de los cuales pueden no ser naturales.

[0041] Tras identificación de las regiones inmunogénicas de sitio catalítico, los inventores han determinado la secuencia de diversos inmunógenos del péptido contra los que una respuesta humoral puede ser elevada. En particular, las "seis" regiones que flanquean o definen de otro modo el sitio catalítico se han definido del siguiente modo: KAS1/RAS1, KAS2/RAS2, KAS3/RAS3, KAS4/RAS4, KAS5/RAS5 y KAS6 (véase Tabla 1). Con esta información, los inventores han sido capaces de interrogar las bases de datos de secuencias de proteínas para determinar péptidos que comparten homología con secuencias de aminoácidos que forman las regiones que flanquean un sitio catalítico y por lo tanto que representan epítomos inmunogénicos que se encuentran en *P. gingivales*. La secuencia de estos péptidos se identifica mediante la siguiente fórmula estructural:

Tabla 1. Las secuencias que flanquean el sitio activo de Kgp y RgpA.

Región	Kgp Lys - X (numeración de acuerdo con SEQ ID No. 62)	Kgp Lys - X Consenso	RgpA Arg - X (numeración de acuerdo con la SEQ ID NO: 61)	RgpA Arg -X Consenso
PAS1K/ PAS1R	PAS1K (432-453)	LNTGVSFANYTAHGSETAWADP (SEQ ID NO: 30)	PAS1R (426-446)	FNGGISLANYTGHGSETAWGT (SEQ ID NO: 34)
KAS1/ RAS1	KAS1 (432-454)	LNTGV[G/S]FANYTAHGSET[S/A]WADP[S/L] (SEQ ID NO: 27)	RAS1 (426-448)	FNGGISL[V/A]NYTGHGSETAWGTSH (SEQ ID NO: 31)
KAS2/ RAS2	KAS2 (433-468)	NTGV[G/S]FANYTAHGSET[S/A]WADP[S/L][L/V]T[A/T][T/S]Q[V/L]KALTNK[D/N]K (SEQ ID NO: 28)	RAS2 (427-462)	NGGISL[V/A]NYTGHGSETAWGTSHFGTTHVKQLTNSNQ (SEQ ID NO: 32)
KAS3/RA S3	KAS3 (436 - 455)	V [G/S] FANYTAHGSET [S/A] WAD P [S/L] [L/V] (SEQ ID NO: 29)	RAS3 (430 - 449)	ISL [V/A] NYTGHGSETA WGTSHF (SEQ ID NO: 33)
KAS4/RAS4	KAS4 (388 - 395)	[S/Y] [S/S] WN [P/S] [K/Q] [I/V]	RAS4 (379 - 386)	EGGPSADN (SEQ ID NO: 67)
KAS5/RAS5	KAS5 (510 - 516)	NSYWGED (SEQ ID NO: 65)	RAS5 (508 - 514)	[N/D] Q [S/Y] WA [S/P] P (SEQ ID NO: 68)
KAS6	KAS6 (570 - 580)	IGN [V/I] THIGAHY (SEQ ID NO: 66)		

[0042] Los inventores han encontrado que las proteínas quiméricas que incluyen estos péptidos tienen una serie de utilidades. Por ejemplo, tal como se describe en la presente memoria, algunos producen una respuesta humoral que es altamente protectora para el tratamiento o prevención de la pérdida ósea, como se observa en la periodonitis crónica. Los péptidos también se pueden usar en un ensayo de diagnóstico en el que pueden detectar o monitorizar especificidades en el suero de un individuo, indicando de este modo si el individuo está infectado o no y si es necesario, si se han requerido tratamientos o si han sido efectivos.

[0043] Se entenderá que la región de un enzima similar a tripsina *P. gingivales* que define un sitio de la enzima para la escisión de un C-terminal situado en el enlace peptídico a Lys o Arg, no comprende una secuencia completa de la

Lys-X-proteinasa o Arg-X-proteinasa.

5 **[0044]** Tal como se usa en el presente documento, los términos "proteína heteróloga" o "proteína quimérica o de fusión" se usan para referirse a una proteína que se compone de unidades funcionales, dominios, secuencias o regiones de aminoácidos derivadas de diferentes fuentes, o que se derivan de la misma fuente y que han sido ensamblados para tener una organización que se distingue de la observada en una molécula de la cual se deriva o se relaciona la unidad, el dominio, la secuencia o la región. Una característica común de las proteínas quiméricas o de fusión de la invención es que contienen al menos un péptido que tiene una secuencia de aminoácidos que es la misma que o que comparte homología con una secuencia de una enzima similar a tripsina *P. gingivales* que define un sitio catalítico para la escisión de un enlace peptídico.

10 **[0045]** En una realización preferida, donde el primer péptido comprende un péptido de la región Kgp [432-468], es preferiblemente (i) un péptido que comprende una secuencia seleccionada del VSFANYT y VGFANYT, más preferiblemente una secuencia seleccionada del GVSFANYT, GVGfANYT, VSFANYTA y VGFANYTA; o (ii) un péptido que comprende una secuencia seleccionada entre ETAWAD, ETSWAD, TAWADP y TSWADP, preferiblemente una secuencia seleccionada entre SETAWAD, SET SWAD, ETAWADP, ETSWADP, TAWADPL y TSWADPL, más preferiblemente una secuencia seleccionada entre GSETAWAD, GSETSWAD, SETAWADP, SETSWADP, ETAWADPL, ETSWADPL, TAWADPLL y TSWADPLL. Más preferiblemente, este péptido se selecciona entre los péptidos KAS1 [432-454], KAS2 [433-468] y KAS3 [436-455] mostrados en la Tabla 1. Alternativamente, el primer péptido puede ser el PAS1K [432-453], también conocido como PAS1 (K48), descrito en la Solicitud de Patente Internacional N° PCT/AU98/00311 (WO 98/049192). Los identificadores de secuencia correspondientes a estos péptidos se muestran en la Tabla 3.

15 **[0046]** De manera similar, en otra realización preferida, donde el primer péptido comprende un péptido de la región rgpA [426-462], este péptido se selecciona preferiblemente de los péptidos RAS1 [426-448], RAS2 [427-462] y RAS3 [430-449] mostrados en la Tabla 1. Alternativamente, el primer péptido puede ser el péptido PAS1R [426-446], también conocido como PAS1 (R45), descrito en la Solicitud de Patente Internacional N° PCT/AU98/00311 (WO 98/049 - 192).

20 **[0047]** En la proteína quimérica o de fusión de la invención, el segundo péptido puede ser un péptido de un dominio de adhesina de una enzima similar a tripsina *P. gingivalis*, tales como Lys-X-proteinasa (Kgp) o Arg-X-proteinasa (rgpA) o HagA (véase la Tabla 2). Estos dominios son a veces también conocidos como hemaglutinina. En la proteína X-proteinasa, los dominios preferidos son RA1, RA2, RA3 y RA4 como se identifica en la Tabla 2. En la proteasa de LX-X, los dominios preferidos son KA1, KA2, KA3, KA4, 2. En HagA, los dominios preferidos son HagA1, HagA1 * y HagA1 **.

	A1	sA1	LA1	A2	A3	A4	A5
Kgp Lys-X proteinasa SEQ ID No. 62	KA1 (738-1099) SEQ ID NO: 35	KsA1 (759-989) SEQ ID NO: 36	KLA1 (751-1056) SEQ ID NO: 37	KA2 (1157-1275) SEQ ID NO: 40	KA3 (1292-1424) SEQ ID NO: 41	KA4 (1427 - 1546) SEQ ID NO: 42	KA5 (1548-1732) SEQ ID NO: 43
RgpA Arg-X proteinasa SEQ ID No. 61	RA1 (720-1081) SEQ ID NO: 38	RsA1 (831-971) SEQ ID NO: 39	-	RA2 (1139-1257) SEQ ID NO: 44	RA3 (1274-1404) SEQ ID NO: 45	RA4 (1432-1706) SEQ ID NO: 46	-
HagA SEQ ID NO: 63	HagA1 (26-351) (SEQ ID NO: 80), HagA1* (366-625) (SEQ ID NO: 81), HagA1** (820- 1077) (SEQ ID NO:82) o HagA1** (1272-1529) (SEQ ID NO:82)						

- 5 **[0048]** Además de la mejora de la respuesta humoral a un péptido de la invención tal como KAS1, KAS2, KAS3, KAS4, KAS5 y KAS6 o RAS1, RAS2 y RAS3, RAS4 y RAS5 cuando se incluye con un péptido tal en una proteína quimérica o de fusión, el dominio de adhesina también contiene epítomos inmunogénicos, lo que conduce a la producción de múltiples especificidades para provocar una respuesta inmunogénica protectora. El hallazgo de que los epítomos inmunogénicos de la adhesina de dominio son retenidos en una forma que se aproxima en una enzima de tipo tripsina *P.gingivales* cuando se proporciona en la proteína quimérica o de fusión de la invención es inesperada.
- 10 **[0049]** Se entenderá que, en estas realizaciones de la invención, la proteína quimérica o de fusión puede contener uno cualquiera o más de los péptidos seleccionados de KAS1/RAS1, KAS2/RAS2, KAS3/RAS3, KAS4/RAS4, KAS5/RAS5 y KAS6/RAS6 junto con cualesquiera uno o más dominios de adhesina de una enzima similar a tripsina *P. gingivales*, en particular con uno cualquiera o más de dominios de adhesina Lys-X-proteinasa (KA1, KA2, KA3, KA4 y KA5) o dominios de adhesina Arg-X-proteinasa (RA1, RA2, RA3 y RA4) o dominios HagA de HagA1, HagA1 * y HagA1 **.
- 15 **[0050]** También se entenderá que no es necesario que el dominio de adhesina sea un dominio completo como se observa en una enzima similar a tripsina *P. gingivales*. Por ejemplo, el dominio de adhesina puede ser un fragmento de tal dominio, en particular, los fragmentos preferidos son los fragmentos del dominio KsA1 y KLA1 del dominio Lys-X-proteinasa A1 (véase Tabla 2). Cuando el dominio es un fragmento de un dominio de adhesina, generalmente contiene uno o más epítomos específicos de dominio de adhesina. El documento WO 01/47961 describe KsA1 (SEQ ID NO: 36) y menciona la posibilidad de construir quimeras. Los identificadores de secuencia correspondientes a los péptidos relacionados con la adhesina se muestran en la Tabla 3.
- 20 **[0051]** En una realización, el segundo péptido o polipéptido incluye una secuencia mostrada en una o más de SEQ ID No: 69 a 79 o una o más de 83 a 85.
- 25 **[0052]** La proteína quimérica o de fusión de la presente invención también pueden incluir uno o más péptidos adicionales seleccionados del Kgp[432-468] región de la Lys-X-proteinasa y/o uno o más péptidos adicionales seleccionados de la región Rg-pA[426-462] de la Arg-X-proteinasa.
- 30 **[0053]** En formas de realización preferidas de la presente invención, la proteína quimérica o de fusión incluye una o más de KAS1, KAS2, KAS3, KAS4, KAS5 y KAS6, o una o más de RAS1, RAS2, RAS3, RAS4 y RAS5, junto con KsA1 o KLA1.
- 35 **[0054]** Así, en ciertas realizaciones, la proteína quimérica o de fusión puede incluir al menos un péptido adicional en que además dicho péptido incluye:
- 40 (i) parte o la totalidad de una secuencia que es la misma que, o homóloga a la secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 1; o
- (ii) una parte o la totalidad de una secuencia que es igual o homóloga a la secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 2; o
- 45 (iii) parte de, o la totalidad de una secuencia que es la misma que, o homóloga a la secuencia de un dominio de adhesina de la Lys-X-proteinasa de *P. gingivales*; o
- (iv) parte de, o la totalidad de una secuencia que es la misma que, o homóloga a la secuencia de un dominio de adhesina de la Arg-X-proteinasa de *P. gingivales*; o
- 50 (v) parte de, o la totalidad de una secuencia que es la misma que, o homóloga a la secuencia de un dominio de adhesina HagA de *P. gingivales*
- 55 **[0055]** Otros ejemplos de dominios, unidades, secuencias o regiones que pueden incluirse en una proteína quimérica o de fusión como se describe en el presente documento incluyen dominios para la unión a receptores o ligandos tales como regiones Fc o receptores Fc, dominios de unión para mejorar la vida media tales como albúmina o dominios para facilitar la expresión o purificación de la proteína quimérica o de fusión.
- 60 **[0056]** En las proteínas quiméricas o de fusión de la presente invención, el residuo C-terminal del primer péptido se puede unir covalentemente al residuo N-terminal de un polipéptido de dominio de adhesina, o el residuo N-terminal del primer péptido puede estar covalentemente unido al residuo C-terminal de un polipéptido de dominio de adhesina. En esta disposición, se dice que el primer péptido y el polipéptido del dominio de la adhesina están "directamente unidos" o "adyacentes".
- 65 **[0057]** En otras realizaciones, la proteína quimérica o de fusión incluye un enlazador para unir el primer péptido a un polipéptido de dominio de adhesina. El enlazador puede ser cualquier enlazador capaz de unirse a un péptido a un

polipéptido, incluyendo tanto aminoácidos como enlazadores que no son aminoácidos. Preferiblemente, el enlazador no es inmunogénico. Enlazadores adecuados pueden ser de hasta 15 aminoácidos de longitud, aunque se prefiere menos de cinco aminoácidos. El enlazador puede funcionar para llevar el primer polipéptido de dominio de péptido y adhesina en una disposición espacial más cerca de lo normalmente observado en una enzima similar a tripsina *P. gingivales*. Alternativamente, puede separar el primer péptido y el polipéptido de dominio de adhesina.

[0058] Las proteínas quiméricas o de fusión de la invención pueden ser producidas por sistemas de expresión recombinantes (por ejemplo, tecnología de ADN recombinante) o por síntesis química (tales como síntesis de péptidos en fase sólida). Estas técnicas son bien conocidas en la técnica.

[0059] La proteína heteróloga o quimérica es particularmente ventajosa ya que mejora la respuesta humoral obtenida sobre la obtenida usando el primer o segundo componente peptídico de la proteína quimérica o de fusión sola.

[0060] Los inventores han encontrado que las proteínas quiméricas que incluyen estos péptidos tienen una serie de utilidades. Por ejemplo, como se describe en el presente documento, algunos producen una respuesta humoral que es altamente protectora para el tratamiento o la prevención de la pérdida de hueso como se observa en la periodontitis crónica. Los péptidos también se pueden utilizar en un ensayo de diagnóstico en el que se puede detectar o controlar especificidades en el suero de un individuo, indicando de este modo si el individuo está infectado y si es así, si se requieren tratamientos o si se proporcionan, si han sido eficaces.

[0061] En una realización, la proteína quimérica o de fusión induce una respuesta inmune protectora, por lo general una respuesta que al menos minimiza o limita el daño de tejido conectivo de otro modo asociado con la infección *P. gingivales*. En una realización, la respuesta protectora al menos minimiza o limita pérdida de hueso inducida *P. gingivales*. Un sistema de modelo para la medición de la pérdida ósea mediada por infección *P. gingivales* se discute en el presente documento. Típicamente, la respuesta inmune protectora es predominantemente una respuesta humoral. En ciertas realizaciones, la respuesta inmune protectora también incluye una respuesta celular.

[0062] La presente invención también proporciona una composición que incluye una proteína quimérica o de fusión como se describe ampliamente anteriormente. Típicamente, la composición es antigénica o inmunogénica. Más particularmente, la invención proporciona una composición adecuada para provocar una respuesta inmune protectora o terapéutica contra la infección *P. gingivales*, incluyendo la proteína quimérica o de fusión, opcionalmente en asociación con un adyuvante. Tal composición puede incluir también otro componente para modular o potenciar la respuesta inmune. Una forma de realización, la composición toma la forma de una vacuna.

[0063] Varios adyuvantes son conocidos para su uso en conjunción con las composiciones de vacuna. Los adyuvantes de ayuda mediante la modulación de la respuesta inmune y en la consecución de un nivel más duradero y superior de inmunidad usando pequeñas cantidades de antígeno de la vacuna o menos dosis que si el antígeno de la vacuna se administra solo. Los ejemplos de adyuvantes incluyen el adyuvante incompleto de Freund (IFA), 65 (contiene aceite de cacahuete, monooleato de manida y monoestearato de aluminio) adyuvante, emulsiones de aceite, adyuvante de Ribi, los polioles plurónicos, poliaminas, Avridina, Quil A, saponina, MPL, QS-21, geles minerales tales como sales de aluminio y sales de calcio, nanopartículas, tales como hidroxiapatita, fosfato de calcio, sales de aluminio, oligómeros de azúcar y polímeros tales como manano, quitosano. Otros ejemplos incluyen emulsiones de aceite en agua, tales como SAF-1, SAF-0, MF59, Seppic ISA720, y otros adyuvantes particulados tales como ISCOM™ e ISCOM matriz™. Una lista extensa pero no exhaustiva de otros ejemplos de adyuvantes se enumeran en Cox y Coulter 1992 [En: Wong WK (ed.) Animals parasite control utilising technology. Bocca Raton; CRC press, 1992; 49-112]. Además del adyuvante, la composición de vacuna puede incluir portadores convencionales farmacéuticamente aceptables, excipientes, cargas, tampones o diluyentes, según proceda. Uno o más dosis de la composición de vacuna que contiene adyuvante se pueden administrar profilácticamente para prevenir la periodontitis o terapéuticamente para tratar periodontitis ya presente.

[0064] En una composición preferida, la proteína quimérica o de fusión se combina con un adyuvante de la mucosa y se administró por vía oral, bucal o nasal. Los ejemplos de adyuvantes de la mucosa son nanopartículas, la toxina del cólera y toxina de *E. coli* lábil al calor, las subunidades B no tóxicas de estas toxinas, mutantes genéticos de estas toxinas que tienen una toxicidad reducida. Otros métodos que se pueden utilizar para administrar la proteína antigénica por vía oral/bucal/nasal incluir la incorporación o la absorción de la proteína en o sobre partículas de polímero biodegradable (tales como acrilatos o poliésteres) o nanopartículas (tales como hidroxiapatita) por microencapsulación para ayudar a la absorción de las microesferas desde el tracto gastrointestinal u otras superficies mucosas y para proteger la degradación de las proteínas. Los liposomas, ISCOMs™, los hidrogeles son ejemplos de otros métodos potenciales que pueden mejorarse adicionalmente por la incorporación de moléculas diana tales como LTB, CTB o lectinas para la entrega de la proteína antigénica para el sistema inmune de la mucosa. Además de la proteína antigénica y el sistema adyuvante de la mucosa o la administración, la composición de vacuna puede incluir portadores convencionales farmacéuticamente aceptables, excipientes, cargas, revestimientos, medios de dispersión, agentes antibacterianos o antifúngicos, y tampones o diluyentes, según proceda.

[0065] En este aspecto, la invención también proporciona una proteína quimérica o de fusión o una composición para uso en un método de prevenir o reducir la incidencia o severidad de una condición o enfermedad relacionada con *P. gingivales* en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una proteína quimérica o de fusión como se ha descrito anteriormente, o una composición como la descrita anteriormente.

[0066] El sujeto puede ser un sujeto humano u otro animal, y es preferiblemente un ser humano.

[0067] Típicamente, la afección o enfermedad relacionada con *P. gingivales* es periodontitis crónica, sin embargo, también puede ser pérdida de hueso, especialmente la pérdida de hueso alveolar, o enfermedad de la arteria coronaria.

[0068] Se conocen muchos métodos para la administración de una composición de vacuna a un sujeto humano o animal, incluyendo, pero no limitado a, intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, subcutánea, intranasal, sublingual, bucal y administración oral. Estas vías de administración son particularmente útiles para la vacunación.

[0069] Se da a conocer en el presente documento un anticuerpo, preferiblemente un anticuerpo monoclonal, dirigido contra una proteína quimérica o de fusión como se describe ampliamente anteriormente.

[0070] Estos anticuerpos pueden producirse mediante técnicas estándar, y se pueden usar en la inmunización pasiva de un sujeto. Por consiguiente, también se describe un método para prevenir o reducir la gravedad de una enfermedad o afección relacionada con *P. gingivales* en un sujeto, que comprende administrar al sujeto un anticuerpo como se ha descrito anteriormente.

[0071] En un aspecto adicional, la presente invención proporciona una molécula de ácido nucleico que incluye una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína quimérica o de fusión como se describe ampliamente anteriormente, opcionalmente unido operativamente a al menos un elemento regulador. En una realización se proporciona el ácido nucleico en forma aislada o sustancialmente purificada.

[0072] La molécula de ácido nucleico puede, por ejemplo, ser insertada en un vector de expresión adecuado para la producción de la proteína quimérica como una proteína recombinante mediante la inserción del vector de expresión en una célula huésped procarionota o eucariota. La expresión con éxito de la proteína recombinante requiere que el vector de expresión contenga los elementos reguladores necesarios para la transcripción y traducción que son compatibles con, y reconocidos por el sistema de célula huésped particular utilizado para la expresión. Una variedad de sistemas de célula huésped se puede utilizar para expresar la proteína recombinante, que incluyen, pero no se limitan a bacterias transformadas con un vector de bacteriófago, plásmido vector, o ADN de cósmido; levaduras que contienen vectores de levadura; hongos que contienen vectores fúngicos; líneas celulares de insectos infectados con virus (por ejemplo baculovirus); y líneas celulares de mamífero transfectadas con el plásmido de expresión o vectores virales, o infectados con virus recombinante (por ejemplo, virus vaccinia, adenovirus, virus adeno-asociado, retrovirus, etc).

[0073] El uso de métodos conocidos en la técnica de la biología molecular, diversos promotores y potenciadores se pueden incorporar en el vector de expresión, para aumentar la expresión de la proteína recombinante, a condición de que el aumento de la expresión de las secuencias de aminoácidos sea compatible con (por ejemplo, no tóxico a) el sistema de célula huésped particular utilizado.

[0074] La selección del promotor dependerá del sistema de expresión usado. Los promotores varían en resistencia, es decir, capacidad de facilitar la transcripción. Generalmente, es deseable utilizar un promotor fuerte con el fin de obtener un alto nivel de transcripción de la secuencia de nucleótidos de codificación y la expresión en la proteína recombinante. Por ejemplo, bacterianas, fagos, o promotores de plásmidos conocidos en la técnica de la que un alto nivel de transcripción se han observado en un sistema de células huésped, incluyendo *E. coli* incluyen el promotor lac, el promotor trp, promotor recA, promotor de ARN ribosomal, los promotores P_R y P_L, lacUV5, ompF, bla, lpp y similares, pueden ser usados para proporcionar la transcripción de la secuencia de nucleótidos insertada que codifica secuencias de aminoácidos.

[0075] Otros elementos de control para la transcripción eficaz o traducción incluyen potenciadores, y señales reguladoras. Secuencias potenciadoras son elementos de ADN que parecen incrementar la eficiencia transcripcional en una forma relativamente independiente de su posición y orientación con respecto a una secuencia de nucleótidos codificante cercana. Por lo tanto, dependiendo del sistema de vector de expresión de célula huésped utilizada, un potenciador se puede colocar aguas arriba o aguas abajo de las secuencias de codificación insertadas para incrementar la eficiencia transcripcional. Otros sitios reguladores, tales como señales de transcripción o iniciación de la traducción, se pueden utilizar para regular la expresión de la secuencia codificante.

[0076] En otra realización, el vector puede ser un vector de vacuna viral o bacteriana, y se utiliza para proporcionar una vacuna recombinante viral, una vacuna bacteriana recombinante, una vacuna bacteriana atenuada recombinante, o una vacuna viral recombinante inactivada. El virus vaccinia es el ejemplo más conocido, en la

técnica, de un virus infeccioso que está diseñado para expresar antígenos de vacunas derivados de otros organismos. El virus vaccinia vivo recombinante, que se atenúa o se trata de otra manera de modo que no causa la enfermedad por sí misma, se utiliza para inmunizar al huésped. La replicación posterior del virus recombinante dentro del huésped proporciona una estimulación continua del sistema inmune con los antígenos de la vacuna proporcionando de este modo inmunidad de larga duración.

[0077] Otros vectores de vacunas in vivo incluyen: adenovirus, citomegalovirus, y preferiblemente los poxvirus tales como vaccinia [Paoletti y Panicali, Patente de Estados Unidos No. 4.603.112] y cepas atenuadas de *Salmonella* [Stocker et al, patente de EE.UU. nº 5.210.035; 4.837.151; y 4.735.801; y Curtiss et al, 1988, Vaccine 6: 155-160]. Las vacunas vivas son particularmente beneficiosas porque estimulan continuamente el sistema inmune que puede conferir inmunidad sustancialmente de larga duración. Cuando la respuesta inmunitaria es protectora contra la infección subsiguiente *P. gingivales*, la propia vacuna viva puede ser utilizada en una vacuna preventiva contra *P. gingivales*. En particular, la vacuna viva se puede basar en una bacteria que es un habitante comensal de la cavidad oral. Esta bacteria puede transformarse con un vector que porta una proteína quimérica recombinante y luego se usa para colonizar la cavidad oral, en particular, la mucosa oral. Una vez colonizada en la mucosa oral, la expresión de la proteína recombinante estimulará el tejido linfoide asociado a mucosa para producir anticuerpos neutralizantes. Para ilustrar más esta forma de realización, usando técnicas de biología molecular bien conocidas en la técnica, las secuencias de nucleótidos que codifican las proteínas quiméricas de esta invención se pueden insertar en el ADN genómico del virus vaccinia en un sitio que permite la expresión de epítopos pero no afecta negativamente el crecimiento o replicación del vector de virus vaccinia. El virus recombinante resultante se puede utilizar como el inmunógeno en una formulación de vacuna. Los mismos métodos se pueden utilizar para construir una formulación de vacuna viral recombinante inactivada, excepto que el virus recombinante es inactivado, tal como por medios químicos conocidos en la técnica, antes de su uso como un inmunógeno y sin afectar sustancialmente la inmunogenicidad del inmunógeno expresado. La vacuna recombinante inactivada puede formularse con un adyuvante adecuado con el fin de mejorar la respuesta inmunológica a los antígenos de la vacuna.

[0078] La invención también proporciona el uso de una molécula de ácido nucleico que incluye una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína quimérica o de fusión de esta invención directamente como la formulación de vacuna. Las secuencias de nucleótidos que codifican las proteínas quiméricas, unidas operativamente a uno o más elementos reguladores, se pueden introducir directamente para vacunar a un individuo ("transferencia directa de genes") contra cepas patógenas de *P. gingivales*. Transferencia directa de genes en un individuo vacunado, dando como resultado la expresión del material genético por las células del individuo vacunado tal como células endoteliales vasculares así como el tejido de los órganos principales, se ha demostrado mediante técnicas en la técnica tales como mediante la inyección por vía intravenosa de un plásmido de expresión: complejo de liposoma catiónico [Zhu et al, 1993, Science 261: 209-211]. Otros métodos efectivos para la administración de ADN del vector en una célula diana son conocidos en la técnica. En un ejemplo, ADN de plásmido recombinante purificado que contiene genes virales se ha utilizado para inocular (ya sea parenteralmente, mucosalmente, o por inmunización gen-gun) vacunas para inducir una respuesta inmunitaria protectora [Fynan et al. 1993, Proc Natl Acad Sci EE.UU. 90: 11478 a 11.482]. En otro ejemplo, células retiradas de un individuo se pueden transfectar o electroporación mediante procedimientos estándar conocidos en la técnica, lo que resulta en la introducción del vector de ADN recombinante de la célula diana. Las células que contienen el ADN del vector recombinante puede entonces seleccionarse para el uso de métodos conocidos en la técnica, tales como mediante el uso de un marcador de selección que se expresa en el vector, y las células seleccionadas pueden entonces ser re-introducidas en el individuo para expresar la proteína recombinante.

[0079] En este aspecto, la invención proporciona además una molécula de ácido nucleico, un vector o una célula procarionota o eucariota para su uso en un método para prevenir o reducir la incidencia o gravedad de una afección o enfermedad relacionada con *P. gingivales* en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una molécula de ácido nucleico como se describe anteriormente, un vector como se describe anteriormente, o una célula procarionota o eucariota tal como se describe anteriormente.

[0080] En otras realizaciones, se proporciona una composición farmacéutica que incluye una proteína quimérica o de fusión o un anticuerpo como se describe anteriormente. La composición puede incluir además un diluyente, excipiente o portador o agente quimioterapéutico para el tratamiento de una condición o enfermedad relacionada con *P. gingivales* y puede adaptarse para la administración oral. Las composiciones de esta invención se pueden incorporar en pastillas, o en goma u otros productos, por ejemplo mediante agitación en una base de goma caliente o recubrimiento de la superficie exterior de una base de goma, por ejemplo jelutong, látex de caucho, resinas de vinilita, etc., deseablemente con plastificantes o suavizantes convencionales, azúcar u otros edulcorantes o tales como glucosa, sorbitol y similares.

[0081] Una composición oral de esta invención que contiene la composición farmacéutica mencionada anteriormente puede ser preparada y utilizada en varias formas aplicables a la boca tales como dentífrico, incluyendo pastas de dientes, polvos dentales y líquidos dentífricos, enjuagues bucales, trociscos, gomas de mascar, pastas dentales, cremas de masaje gingival, tabletas gárgaras, productos lácteos y otros productos alimenticios. Una composición oral según la presente invención puede incluir además ingredientes adicionales bien conocidos, dependiendo del tipo y la forma de una composición oral particular.

- 5 **[0082]** En ciertas formas preferidas de la invención, la composición oral puede ser sustancialmente de carácter líquido, tal como un colutorio o enjuague. En una tal preparación, el vehículo es típicamente una mezcla agua-alcohol deseablemente incluyendo un humectante como se describe a continuación. Generalmente, la relación en peso de agua a alcohol está en el intervalo de aproximadamente 1: 1 a aproximadamente 20: 1. La cantidad total de mezcla agua-alcohol en este tipo de preparación está típicamente en el intervalo de aproximadamente 70 a aproximadamente 99,9% en peso de la preparación. El alcohol es típicamente etanol o isopropanol. Se prefiere el etanol.
- 10 **[0083]** El pH de tales preparaciones líquidas y otras de la invención está generalmente en el intervalo de aproximadamente 5 a aproximadamente 9 y típicamente de aproximadamente 5,0 a 7,0. El pH se puede controlar con ácido (por ejemplo ácido cítrico o ácido benzoico) o una base (por ejemplo hidróxido de sodio) o tamponado (como con citrato de sodio, benzoato, carbonato o bicarbonato, fosfato disódico de hidrógeno, fosfato de dihidrógeno de sodio, etc).
- 15 **[0084]** En otras formas deseables de esta invención, la composición farmacéutica puede ser sustancialmente sólida o pastosa en carácter, tales como polvo de dientes, una tableta dental o una pasta de dientes (crema dental) o dentífrico de gel. El vehículo de tales preparaciones orales sólidas o pastosas contiene generalmente el material abrillantador dentalmente aceptable.
- 20 **[0085]** En una pasta de dientes, el vehículo líquido puede comprender agua y humectante típicamente en una cantidad que varía de aproximadamente 10% a aproximadamente 80% en peso de la preparación. Glicerina, propilenglicol, sorbitol y polipropilenglicol ejemplifican humectantes/vehículos adecuados. También son ventajosas mezclas líquidas de agua, glicerina y sorbitol. En geles claros, donde el índice de refracción es una consideración importante, alrededor de 2,5 - 30% en peso de agua, 0 a aproximadamente 70% en peso de glicerina y
25 aproximadamente 20-80% en peso de sorbitol se emplean preferiblemente.
- 30 **[0086]** Pasta de dientes, cremas y geles contienen típicamente un agente espesante natural o sintético o gelificante en proporciones de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10, preferiblemente de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 5% en peso. Un espesante adecuado es la hectorita sintética, una arcilla compleja de silicato de metal alcalino de magnesio coloidal sintético disponible por ejemplo como laponita (por ejemplo, CP, SP 2002, D) comercializada por Laporte Industries Limited. Laponita D es, aproximadamente, en peso 58,00% SiO₂, 25,40% de MgO, 3,05% de Na₂O, 0,98% Li₂O, y algo de agua y trazas metálicas. Su gravedad específica verdadera es 2,53 y tiene una densidad aparente de 1,0 g/ml a 8% de humedad.
- 35 **[0087]** Otros espesantes adecuados incluyen musgo irlandés, carragenano iota, goma de tragacanto, almidón, polivinilpirrolidona, hidroxietilpropilcelulosa, celulosa de metilo de hidroxibutilo, celulosa de metilo de hidroxipropilo, celulosa de hidroxietilo (por ejemplo, disponible como Natrosol), carboximetilcelulosa de sodio, y sílice coloidal tal como siloide finamente molido (por ejemplo 244). Agentes solubilizantes se pueden incluir también como humectantes polioles tales como propilenglicol, dipropilenglicol y hexilenglicol, celosolves tales como celosolve de metilo y celosolve de etilo, aceites vegetales y ceras que contienen al menos aproximadamente 12 átomos de
40 carbono en una cadena lineal, tales como aceite de oliva, aceite de ricino y vaselina y ésteres tales como acetato de amilo, acetato de etilo y benzoato de bencilo.
- 45 **[0088]** Se entenderá que, como es convencional, las preparaciones orales generalmente se venden o distribuyen de otra manera en paquetes etiquetados adecuados. Por lo tanto, una botella de enjuague bucal tendrá una etiqueta que lo describa, en sustancia, como un enjuague bucal o un enjuague bucal y que tiene las instrucciones para su uso; y una pasta de dientes, crema o gel estará usualmente en un tubo plegable, típicamente de aluminio, revestido de plomo o plástico, u otro apretón, bomba o dispensador a presión para dosificar el contenido, que tenga una
50 etiqueta que lo describa, en sustancia, como una pasta de dientes, gel o crema dental.
- 55 **[0089]** Agentes de superficie orgánicos se pueden usar en las composiciones de la presente invención para conseguir una acción profiláctica incrementada, ayudar a conseguir una dispersión a fondo y completa del agente activo por toda la cavidad oral, y hacer las composiciones instantáneas más aceptables cosméticamente. El material tensioactivo orgánico es preferiblemente aniónico, no iónico o anfótero en la naturaleza y preferiblemente no interactúa con el agente activo. Se prefiere emplear como agente tensioactivo un material detergente que imparte a la composición propiedades desensivas y de formación de espuma. Ejemplos adecuados de tensioactivos aniónicos son sales solubles en agua de monosulfatos más altos de monoglicéridos de ácidos grasos, tales como la sal de sodio del monoglicérido monosulfatado de ácidos grasos de aceite hidrogenado de coco, sulfatos de alquilo superiores tales como laurilsulfato de sodio, sulfonatos de alquilarilo tales como sulfonato de benceno de dodecilo
60 sódico, alquilsulfo-acetatos mayores, ésteres de ácidos grasos superiores de 1,2-dihidroxi propano sulfonato, y las amidas de acilo alifáticas superiores sustancialmente saturadas de compuestos de ácidos aminocarboxílicos alifáticos inferiores, tales como los que tienen 12 a 16 carbonos en el ácido graso, alquilo o radicales de acilo, y similares. Ejemplos de las últimas amidas mencionadas son sarcosina de N-lauroílo, y las sales de sodio, potasio, y sales de etanolamina de sarcosina de N-lauroílo, N-miristoílo o N-palmitoílo que deben ser sustancialmente libres de jabón o material ácido graso superior similar. Ejemplos de tensioactivos no iónicos solubles en agua adecuados para
65 su uso son productos de condensación de óxido de etileno con diversos compuestos que contienen reactivos

hidrógenos con los mismos reactivos que tienen cadenas hidrofóbicas largas (por ejemplo, cadenas alifáticas de aproximadamente 12 a 20 átomos de carbono), cuyos productos de condensación ("etoxámeros") contienen restos de polioxietileno hidrófilos, tales como productos de condensación de poli (óxido de etileno) con ácidos grasos, alcoholes grasos, amidas grasas, alcoholes polihidroxilados (por ejemplo monoestearato de sorbitán) y óxido de polipropileno (por ejemplo, materiales plurónicos).

[0090] El agente tensioactivo está presente típicamente en una cantidad de aproximadamente 0,1-5% en peso. Es de destacar, que el agente activo de superficie puede ayudar en la disolución del agente activo de la invención y de ese modo disminuir la cantidad de humectante solubilizante necesario.

[0091] Varios otros materiales pueden ser incorporados en las preparaciones orales de esta invención tales como agentes blanqueantes, conservantes, siliconas, compuestos de clorofila y/o material amoniacal tal como urea, fosfato de diamonio, y sus mezclas. Estos adyuvantes, cuando están presentes, se incorporan en las preparaciones en cantidades que sustancialmente no afectan adversamente a las propiedades y características deseadas.

[0092] Cualesquiera aromatizantes adecuados o material edulcorante pueden también ser empleados. Ejemplos de constituyentes aromatizantes adecuados son aceites aromatizantes, por ejemplo aceite de menta verde, menta, gaulteria, safrán, clavo, salvia, eucalipto, mejorana, canela, limón, y naranja, y salicilato de metilo. Agentes edulcorantes adecuados incluyen sacarosa, lactosa, maltosa, sorbitol, xilitol, ciclamato de sodio, perillartina, AMP (alanina de fenilo de aspartilo, éster de metilo), sacarina, y similares. De forma adecuada, los agentes aromatizantes y edulcorantes pueden cada uno o juntos comprender de aproximadamente 0,1% a 5% más de la preparación.

[0093] Las composiciones destinadas para uso oral se pueden preparar de acuerdo con cualquier método conocido en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas y tales composiciones pueden contener uno o más agentes seleccionados del grupo que consiste en agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes y agentes conservantes con el fin de proporcionar preparaciones farmacéuticamente elegantes y de sabor agradable. Los comprimidos contienen el ingrediente activo en mezcla con excipientes farmacéuticamente aceptables no tóxicos que son adecuados para la fabricación de tabletas. Estos excipientes pueden ser por ejemplo, diluyentes inertes, tales como carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa, fosfato de calcio o fosfato de sodio; agentes granulantes y desintegrantes, por ejemplo, almidón de maíz, o ácido alginico; agentes aglutinantes, por ejemplo almidón, gelatina o acacia, y agentes lubricantes, por ejemplo estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Los comprimidos pueden estar sin recubrir o pueden estar recubiertos mediante técnicas conocidas para retrasar la desintegración y absorción en el tracto gastrointestinal o en el bolsillo periodontal y proporcionar así una acción sostenida durante un período más largo. Por ejemplo, se puede emplear un material de retardo temporal tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo.

[0094] Las formulaciones para uso oral también pueden presentarse como cápsulas duras de gelatina donde el ingrediente activo está mezclado con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín, o como cápsulas de gelatina blanda en las que el ingrediente activo se mezcla con agua o un medio oleoso, por ejemplo aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva.

[0095] Las suspensiones acuosas contienen los materiales activos en mezcla con excipientes adecuados para la fabricación de suspensiones acuosas. Tales excipientes son agentes de suspensión, por ejemplo carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidropilolo, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma de tragacanto y goma arábiga; agentes dispersantes o humectantes puede ser un fosfátido de origen natural, por ejemplo, lecitina, o productos de condensación de un óxido de alquileno con ácidos grasos, por ejemplo estearato de polioxietileno, o productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga, por ejemplo heptadecaetilenoxicetanol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y un hexitol tales como monooleato de polioxietileno sorbitol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo monooleato de sorbitán de polietileno.

[0096] Las suspensiones acuosas también pueden contener uno o más conservantes o agentes antimicrobianos, por ejemplo benzoatos, tales como etilo, o n-propilo p-hidroxibenzoato otro ejemplo es el gluconato de clorhexidina, uno o más agentes colorantes, uno o más agentes aromatizantes, y uno o más agentes edulcorantes, tales como sacarosa o sacarina.

[0097] Las suspensiones oleosas se pueden formular suspendiendo los ingredientes activos en un aceite vegetal, por ejemplo aceite de cacahuete, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de coco, o en un aceite mineral tal como parafina líquida. Las suspensiones oleosas pueden contener un agente espesante, por ejemplo cera de abejas, parafina dura o alcohol cetílico. Agentes edulcorantes tales como los expuestos anteriormente, y agentes aromatizantes pueden añadirse para proporcionar preparaciones orales agradables al paladar. Estas composiciones se pueden conservar mediante la adición de un antioxidante tal como ácido ascórbico.

[0098] En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un método para el diagnóstico o monitorización de una condición o enfermedad relacionada con *P. gingivales* de un sujeto, que comprende el uso de una proteína

quimérica o de fusión como se describió anteriormente para detectar anticuerpos anti-*P.gingivales* en una muestra biológica de dicho sujeto.

5 **[0099]** Se describe aquí un método para el diagnóstico o el seguimiento de una condición o enfermedad relacionada con *P.gingivales* en un sujeto, que comprende el uso de un anticuerpo como se ha descrito anteriormente, para detectar la presencia de *P. gingivales* en una muestra biológica de dicho sujeto.

10 **[0100]** También se describe aquí un péptido para inducir una respuesta inmune a *P. gingivales* incluyendo la secuencia mostrada en una de SEQ ID No: 17, 18, 25 y 26. En una realización, el péptido tiene una secuencia que es homóloga a una de las SEC ID No: 17, 18, 25 y 26. El péptido puede tener una longitud de 5 a 40 aminoácidos.

[0101] También se describe aquí un ácido nucleico que codifica un péptido que tiene una secuencia mostrada en una de SEQ ID No: 17, 18, 25 y 26.

15 **[0102]** También se describe aquí un uso de un péptido que tiene una secuencia mostrada en una de la SEC ID No: 17, 18, 25 y 26, o un ácido nucleico que codifica un péptido que tiene una secuencia mostrada en una de SEQ ID No: 17, 18, 25 y 26, para la fabricación de una proteína quimérica o de fusión para inducir una respuesta inmune a *P. gingivales*.

[0103] También se describe aquí un uso de un péptido que tiene una secuencia mostrada en una de SEQ ID No: 17, 18, 25 y 26, o un ácido nucleico que codifica un péptido que tiene una secuencia mostrada en una de SEQ ID No: 17, 18, 25 y 26, para inducir una respuesta inmune a la *P. gingivales*.

20 **[0104]** El péptido se puede administrar simultáneamente o secuencialmente con un segundo péptido que incluye:

(i) parte, o la totalidad de una secuencia que es la misma que, o homóloga a la secuencia de un dominio de adhesina de la Lys-X-proteinasa de *P. gingivales*; o

25 (ii) parte de, o la totalidad de una secuencia que es la misma que, o homóloga a la secuencia de un dominio de adhesina de la Arg-X-proteinasa de *P. gingivales*; o

(iii) parte de, o la totalidad de una secuencia que es la misma que, o homóloga a la secuencia de un dominio de adhesina HagA de *P. gingivales*.

30 Tabla 3

SEQ ID NO:	Secuencia de aminoácidos	Fragmento
35 1	LNTGV[G/S]FANYTAHGSET[S/A]WADP[S/L][L/V]T[AT][T/S]Q[V/L]KALTNK[D/N]K	Kgp[432-468]
40 2	FNGGISL[V/A]NYTGHGSETAWGTSHFGTTHVKQLTNSNQ	RgpA[426 -462]
45 3	VSFANYT	
4 4	VGFFANYT	
5 5	GVSFANYT	
6 6	GVGFFANYT	
50 7	VSFANYTA	
8 8	VGFFANYTA	
9 9	ETAWAD	
10 10	ETSWAD	
55 11	TAWADP	
12 12	TSWADP	

60

65

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65

SEQ ID NO:	Secuencia de aminoácidos	Fragmento
13	SETAWAD	
14	SETSWAD	
15	ETAWADP	
16	ETSWADP	
17	TAWADPL	
18	TSWADPL	
19	GSETAWAD	
20	GSETSWAD	
21	SETAWADP	
22	SETSWADP	
23	ETAWADPL	
24	ETSWADPL	
25	TAWADPLL	
26	TSWADPLL	
27	LNTGV[G/S]FANYTAHGSET[S/A]WADP[S/L]	KAS1
28	NTGV[G/S]FANYTAHGSET[S/A]WADP[S/L][L/V]T[A/T][T/S]Q[V/L]KALTNK[D/N]K	KAS2
29	V[G/S]FANYTAHGSET[S/A]WADP[S/L][L/V]	KAS3
30	LNTGVSFANYTAHGSETAWADP	PAS1K
31	FNGGISL[V/A]NYTGHGSETAWGTSH	RAS1
32	NGGISL[V/A]NYTGHGSETAWGTSHFGTTHVKQLTNSNQ	RAS2
33	ISL[V/A]NYTGHGSETAWGTSHF	RAS3
34	FNGGISLANYTGHGSETAWGT	PAS1R
35	ANEAKVLAADNWWGDNTGYQFLLDADHNTFGSVIPATG PLFTGTASSNLYSANFEYLIPANADPVVTTQNIIVTGQGEV VIPGGVYDYCITNPEPASGKMWIAGDGGNQPARYDDFTF EAGKKYFTMRRAGMGDGTDMEVEDDSPASYTYTVYRD GTKIKEGLTATTFEEDGVAAGNHEYCVEVKYTAGVSPKV CKDVTVEGSNEFAPVQNLTGSSVGQKVTWKWDAPNGTP NPNPNPNPNPGTTLSESFENGIPASWKTIDADGDGHGW KPGNAPGIAGYNSNGCVYSESFGLGGIGVLTDPNYLITPA	KA1
	LDLPNGGKLTFWVCAQDANYASEHYAVYASSTGNDASN FTNALLEETITA	

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65

SEQ ID NO:	Secuencia de aminoácidos	Fragmento
36	FLLDADHNTFGSVIPATGPLFTGTASSNLYSANFEYLIPAN ADPVVTTQNIIVTGQGEVVIPGGVYDYCITNPEPASGKMW IAGDGGNQPARYDDFTFEAGKKYFTMRRAGMGDGTDM EVEDDSPASYTYTVYRDGTKIKEGLTATTFEEDGVAAGN HEYCVEVKYTAGVSPKVCKDVTVEGSNEFAPVQNLGTS SVGQKVTLKWDAPNGTPNPNPNPNPNPGTTLSESF	KsA1
37	WGDNTGYQFLLDADHNTFGSVIPATGPLFTGTASSNLYS ANFEYLIPANADPVVTTQNIIVTGQGEVVIPGGVYDYCITN PEPASGKMWIAGDGGNQPARYDDFTFEAGKKYFTMRR AGMGDGTMEVEDDSPASYTYTVYRDGTKIKEGLTATT EEDGVAAGNHEYCVEVKYTAGVSPKVCKDVTVEGSNEF APVQNLGSSVGQKVTLKWDAPNGTPNPNPNPNPNPGT TLSESFENGIPASWKTIDADGDGHGWKPGNAPGIAGYNS NGCVYSESFGLGGIGVLTDPNYLITPALDLPNGG	KLA1
38	SGQAEIVLEAHDVWWDGSGYQILLDADHDQYGQVIPS HTLWPNCVSPANLFAPEYTVPENADPSCSPTNMIMDGT ASVNIPAGTYDFAIAAPQANAKIWIAGQGPTKEDDYVFEA GKKYHFLMKMGSGDGTTELISEGGGSDYTYTVYRDGT KIKEGLTATTFEEDGVATGNHEYCVEVKYTAGVSPKVCK DVTVEGSNEFAPVQNLGSAVGQKVTLKWDAPNGTPNP NPNPNPNPNPGTTTLSESFENGIPASWKTIDADGDGHG WKPGNAPGIAGYNSNGCVYSESFGLGGIGVLTDPNYLIT PALDLPNGGKLTFWCAQDANYASEHYAVYASSTGND SNFTNALLEETITA	RA1
39	DDYVFEAGKKYHFLMKMGSGDGTTELISEGGGSDYTYT VYRDGTKIKEGLTATTFEEDGVATGNHEYCVEVKYTAGV SPKVCKDVTVEGSNEFAPVQNLGSAVGQKVTLKWDAP NGTPNPNPNPNPNPNPGTTTLSESF	RsA1
40	ADFTETFESSTHGEAPAEWTTIDADGDGQGWLCLSSGQ LDWLTAHGGSNVVSSFSWNGMALNPDNYLISKDVTGAT	KA2

SEQ ID NO:	Secuencia de aminoácidos	Fragmento
	KVKYYYAVNDGFPGDHYAVMISKGTNAGDFTVWFEETP NGIN	
41	PQSVWIERTVDLPAGTKYVAFRHYNCSDLNYILLDDIQFT MGGSPPTDYTYTVYRDGTKIKEGLTETTFEEDGVATGN HEYCVVEVKYTAGVSPKKCVNVTVNSTQFNPVQNLTAEQ APNSMDAILKWNAPAS	KA3
42	AEVLNEDFENGIPASWKTIDADGDGNNWTTTPPPGGSSF AGHNSAICVSSASYINFEGPQNPDNYLVPELSLPGGGTL TFWVCAQDANYASEHYAVYASSTGNDASNANALLEEVL TA	KA4
43	TVVTAPEAIRGTRAQGTWYQKTVQLPAGTKYVAFRHFGC TDDFFWINLDDWITSGNAPSYYTYIYRNNTQIASGVETETY RDPDLATGFYTYGVKVVYPNGESAIETATLNITSLADVTA QKPYTLTVVGKTITVTCQGEAMIYDMNGRRRLAAGRNTV YTAQGGHYAVMVVVDGKSYVEKLAVK	KA5
44	ADFTETFESSTHGEAPAEWTTIDADGDGQGWLCLSSGQ LDWLTAHGGTNVSSFSWNGMALNPDNYLISKDVTGAT KVKYYYAVNDGFPGDHYAVMISKGTNAGDFTVWFEETP NGIN	RA2
45	PQSVWIERTVDLPAGTKYVAFRHYNCSDLNYILLDDIQFT MGGSPPTDYTYTVYRDGTKIKEGLTETTFEEDGVATGN HEYCVVEVKYTAGVSPKKCVNVTVNSTQFNPVKNLKAQP DGGDVVLKWEAPSA	RA3

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65

SEQ ID NO:	Secuencia de aminoácidos	Fragmento
46	ANEAKVLAADNVWGDNTGYQFLLDADHNTFGSVIPATG PLFTGTASSDLYSANFESLIPANADPVVTTQNIIVTGQGEV VIPGGVYDYCITNPEPASGKMWIAGDGGNQPARYDDFTF EAGKKYFTMRRAGMGDGTMEVEDDSPASYTYTVYRD GTKIKEGLTETTYRDAGMSAQSHEYCVKVTAGVSPKV CVDYIPDGVADVTAQKPYTLTVVGKTITVTCQGEAMIYDM NGRRLAAGRNTVVYTAQGGYYAVMVVVDGKSYVEKLAI K	RA4
SEQ ID NO:	Secuencia de nucleótidos	
47	GACCATGGCTCATCACCATCACCATCACAATACCGG AGTCAGCTTTGCA	KAS2-FOR
48	GACTCGAGTTATTTGTCCTTATTAGTGAGTGCTTTC	KAS2-REV
49	GACCATGGCTTGGGGAGACAATACGGGTAC	KLA1-FOR
50	GACTCGAGACCTCCGTTAGGCAAATCC	KLA1-REV
51	CCGTATTGTCTCCCCATTTGTCCTTATTAGTGAGTGC TTTC	KAS2-KLA1-REV
52	CACTAATAAGGACAAATGGGGAGACAATACGGGTTA C	KAS2-KLA1-FOR
53	CATGGATCTGAGACCGCATGGGCTGATCCACTTTTC TTGTTGGATGCCGAT	KAS1-KsA1-FOR1
54	CCATGGCTTTGAATACCGGAGTCAGCTTTGCAAAC ATACAGCGCATGGATCTGAGACCGCA	KAS1-KsA1-FOR2
55	CTCGAGGAATGATTCGGAAGTGTT	KAS1-KsA1-REV
56	CCATGGCTGATTATAGCTGGAATCCCAGGTAGTCA GCTTTGCAAACATAACA	multi-FOR1
57	CTTTGCAAACATAACAGCGCATGGATCTGAGACCGC ATGGGCTGATCCACTT	multi-FOR2
58	ATGGGCTGATCCACTTCTGAATCCTTATTGGGGCGA GATCGGCAATATTACC	multi-FOR3

5	SEQ ID NO:	Secuencia de nucleótidos	
	59	GATCGGCAATATTACCCATATTGGTGCTCATTACGC TTGGGGAGACAATACG	multi-FOR4
10	60	CTCGAGACCTCCGTTAGGCAAATCCAATGCCGGTGT TATCAGATAGTTGTCA	multi-REV
15	SEQ ID NO:	Secuencia de aminoácidos	Longitud completa
20	61	MKNLNK FVSIALCSSLLGGMAFAQQTELGRNPNVRLLES TQQSVTKVQFRMDNLKFEVQTPKGIGQVPTYTEGVNL SEKGMPTLPILSRSLAVSDTREMKEV VSSKFIEKKNVLI APSKGMIMRNEDPKKIPYVYGKTY SQNKFFPGEIATLDD 25 PFILRDVRGQV VNFAPLQYNPVTKLRIYTEITVAVSETSE QGKNILNKKGT FAGFEDTYKRMFMNYEPGRYTPVEEKQ NGRMIVIVAKKYEGDIKDFVDWKNQRGLRTEVKVAEDIA 30 SPVTANAIQQFVKQEYEKEGNDLTYVLLIGDHKDIPAKITP GIKSDQVYGQIVGNDHYNEVFIGRFSCESKEDLKTQIDRT IHYERNITTEDKWL GQALCIASAEGGPSADNGESDIQHE 35 NVIANLLTQYGYTKIIKCYDPGVTPKNIIDAFNGGISLANYT GHGSETAWGTSHFGTTHVKQLTNSNQLPFIFDVACVNG DFLFSMPCFAEALMRAQKDGKPTGTVAI IASTINQSWAS 40 PMRGQDEMNEILCEKHPNNIKRTFGGV TMNGMFAMVEK YKKDGEKMLDTWTVFGDPSLLVRTLVP TKMQVTAPAQI NLTDASVNVSCDYNGAIATISANGKMF GSAVVENG TATI 45 NLTGLTNESTLTLTVVGYNKETVIKTINTNGEPNPYQPVS NLTATTQGQKVTLKWDAPSTKTNATTNTARSVDGIRELV LLSVSDAPELLRSGQAEIVLEAHDVWNDGSGYQILLDAD 50 HDQYGGQVIPS DHTLWPNC SVPANL FAPFEYTPENAD PSCSPTNMIMDGTASV NIPAGTYDFAIAAPQANAKIWIAG QGPTKEDDYVFEAGK KYHFLMKKMGSGDGT ELTISEGG 55 GSDYTYTVYRDGTKIKEGLTATTFEEDGVATGNHEYCVE VKYTAGVSPKVCKDVTVEGSNEFAPVQNL TGSAVGQKV	RgpA

60

65

5 SEQ ID NO:	Secuencia de aminoácidos	Longitud completa
10 15 20 25 30 35 40	TLKWDAPNGTPNPNPNPNPNPNPGTTTLESSEFENGIPA SWKTIDADGDGHGWKPGNAPGIAGYNSNGCVYSESEFG LGGIGVLTDPNYLITPALDLPNGGKLTFFWCAQDANYAS EHYAVYASSTGNDASNFTNALLEETITAKGVRSPAMRG RIQGTWRQKTVDLPAGTKYVAFRHFQSTDMFYIDLDEVE IKANGKRADFTETEFESSTHGEAPAEWTTIDADGDGQGW LCLSSGQLDWLTAHGGTNVSSFSWNGMALNPDNYLIS KDVTGATKVKYYYAVNDGFPGDHYAVMISKTGTNAGDF TVFEETPNGINKGGARFGLSTEADGAKPQSWWIERTVD LPAGTKYVAFRHYNCSDLNYILLDDIQFTMGGSPPTDY TYTVYRDGTKIKEGLTETTFFEDGVATGNHEYCVEVKYT AGVSPKKCVNVTVNSTQFNPVKNLKAQPDGGDVVLKW EAPSAKKTEGSREVKRIGDGLFVTIEPANDVRANEAKVV LAADNVWGDNTGYQFLLDADHNTFGSVIPATGPLFTGTA SSDLYSANFESLIPANADPVVTTQNIIVTGQGEVVIPGGV YDYCITNPEPASGKMWIAGDGGNQPARYDDFTFEAGKK YFTMRRAGMGDGTDMEEVDDSPASYTYTVYRDGKIK EGLTETTYRDAGMSAQSHCYCVEVKYTAGVSPKVCVDY IPDGVADVTAQKPYTLTVVGKTITVTCQGEAMIYDMNGR RLAAGRNTVVYTAQGGYYAVMVVVDGKSYVEKLAIK	

45

50

55

60

65

5	SEQ ID NO:	Secuencia de aminoácidos	Longitud completa
10	62	MRKLLLLIAASLLGVGLYAQSAKIKLDAPTTRTTCTNNSF KQFDASFSFNEVELTKVETKGGTFASVSIPGAFPTGEVG SPEVPAVRKLIAVPVGATPVVRVKSFTEQVYSLNQYGSE KLMPHQPSMSKSDDPEKVPFVYNAAAYARKGFVGQELT 15 QVEMLGTMRGVRIAALTINPVQYDVVANQLKVRNNIEIEV SFQGADEVATQRLYDASFSPYFETAYKQLFNRDVYTDH GDLYNTPVRMLLVAGAKFKEALKPWLTWKAQKGFYLDV 20 HYTDEAEVGTTNASIKAFIHKKYNDGLAASAAPVFLALVG DTDVISGEKGKTKKVTDLYYSAVDGDYFPEMYTFRMS ASSPEELTNIIDKVLMEKATMPDKSYLEKVLLIAGADYS 25 WNSQVGQPTIKYGMQYYNQEHEGYTDVYNYLKAPYTG CYSHLNTGVSFANYTAHGSETAWADPLLTTSQLKALTNK	Kgp
30			
35			
40			
45			
50			
55			
60			
65			

5 SEQ ID NO:	Secuencia de aminoácidos	Longitud completa
10 15 20 25 30 35 40 45 50 55	DKYFLAIGNCCITAQFDYVQPCFGEVITRVKEKGAYAYIG SSPNSYWGEDYYWSVGANAVFGVQPTFEGTSMGSYDA TFLEDSYNTVNSIMWAGNLAATHAGNIGNITHIGAHYYW EAYHVLGDGSVMPYRAMPKTNTYTLPASLPQNQASYSI QASAGSYVAISKDGVLYGTGVANASGVATVSMKQITEN GNYDVWITRSNYLPVIKQIQVGEPSPYQPVSNLATTQG QKVTLKWEAPSAKKAEGSREVKRIGDGLFVTIEPANDVR ANEAKVWLAADNVWGDNTGYQFLLDADHNTFGSVIPAT GPLFTGTASSNLYSANFEYLIPANADPVVTTQNIIVTGQG EVVIPGGVYDYCITNPEPASGKMWIAGDGGNQPARYDD FTFEAGKKYFTMRRAGMGDGTDMEEVDDSPASYTYTV YRDGTKIKEGLTATTFEEDGVAAGNHEYCVEVKYTAGVS PKVCKDVTVEGSNEFAPVQNLTGSSVGQKVTWKWDAPN GTPNPNPNPNPGTTLSESFENGIPASWKTIDADGDG HGWKPGNAPGIAGYNSNGCVYSEFGLGGIGVLTDPNY LITPALDLPNGGKLTFFWCAQDANYASEHYAVYASSTGN DASNFTNALLEETITAKGVRSPKAIRGRIQGTWRQKTVDL PAGTKYVAFRHFQSTDMFYIDLDEVEIKANGKRADFTET FESSTHGEAPAEWTTIDADGGQGWLCLSSGQLDWLT AHGGSNVSSFSWNGMALNPDNYLISKDVTGATKVKYY YAVNDGFPGDHYAVMISKTGTNAGDFTVVFETPNGINK GGARFGLSTEANGAKPQSWWIERTVDLPAGTKYVAFRH YNCSDLNYILLDDIQFTMGGSPPTDYTYTVYRDGTKIKE GLTETTFEEDGVATGNHEYCVEVKYTAGVSPKKCVNVT VNSTQFNPVQNLTAEQAPNSMDAILKWNAPASKRAEVL NEDFENGIPASWKTIDADGGNNWTTTPPPGGSSFAGH NSAICVSSASYINFEGPQNPDNYLVTPELSLPGGGTLTF WCAQDANYASEHYAVYASSTGNDASNANALLEEVL AKTVVTAPEAIRGTRAQGTWYQKTVQLPAGTKYVAFRH FGCTDFFWINLDDVITSGNAPSITYTYIRNNTQIASGVT ETTYRDPDLATGFYTYGVKVVYPNGESAIETATLNITSLA DVTAQKPYTLTVVGKTITVTCQGEAMIYDMNGRRLLAAGR	
60	NTVVYTAQGGHYAVMVVWDGKSYVEKLAVK	

65

SEQ ID NO:	Secuencia de aminoácidos	Longitud completa
63	<p>MRKLNSLFLAVLLSLLCWGQTAAAQGGPKTAPSVTHQ AVQKGIRTSKAKDLRDPPIAGMARIILEAHDVWEDGTGY QMLWDADHNQYGASIPESFWFANGTIPAGLYDPFEYK VPVNADASFPTNFVLDGTASADIPAGTYDYVIINPNPGII YIVGEGVSKGNDYVVEAGKTYHFTVQRQGPDAASVV TEGEGNEFAPVQNLQWSVSGQTVTLTWQAPASDKRTY VLNESFDTQTLPNGWTMIDADGDGHNWLSTINVYNTAT HTGDGAMFSSWTASSGAKIDLSPDNYLVTPKFTVPEN GKLSYWVSSQEPWTNEHYGVFLSTTGNEAANFTIKLEE TLGSGKPAPMNLVKSEGVKAPAPYQERTIDLSAYAGQQ VYLAFRHFGCTGIFRLYLDDVAVSGEGSSNDYTYTVYRD NVVIAQNLTATTFNQENVAPGQYNYCVEVKYTAGVSPKV CKDVTVEGSNEFAPVQNLTGSAVGQKVTWKWDAPNGTP NPNPGTTTTLSEFENGIPASWKTIDADGDGNNWTTTPPP GGSSFAGHNSAICVSSASYINFEGPQNPDNYLVPELSL PNGGTLFWWCAQDANYASEHYAVYASSTGNDASNFA NALLEEVLTAKTVTAPEAIRGTRVQGTWYQKTVQLPAG TKYVAFRHFCTDFFWINLDDVEIKANGKRADFTETFES STHGEAPA EWTTIDADGDGQGWLCLSSGQLGWLTAHG GTNVVASFSWNGMALNPDNYLISKDVTGATKVYYYAV NDGFPGDHYAVMISKTGTNAGDFTVFEETPNGINKGG ARFGLSTEANGAKPQSVWIERTVDLPAGTKYVAFRHYN CSDLNYILLDDIQFTMGGSPPTDYTYTVYRDGTKIKEGL TETTFEEDGVATGNHEYCVEVKYTAGVSPKECVNVTVD PVQFNPVQNLTGSAVGQKVTWKWDAPNGTPNPNPGTTT LSEFENGIPASWKTIDADGDGNNWTTTPPPGGTSFAG HNSAICVSSASYINFEGPQNPDNYLVPELSLPNGGTLTF WCAQDANYASEHYAVYASSTGNDASNANALLEEVL AKTVTAPEAIRGTRVQGTWYQKTVQLPAGTKYVAFRH FGCTDFFWINLDDVEIKANGKRADFTETFESSTHGEAPA EWTTIDADGDGQGWLCLSSGQLDWLTAHGGTNVVASF</p>	HagA

60

65

5	SEQ ID NO:	Secuencia de aminoácidos	Longitud completa
10		SWNGMALNPDNYLISKDVTGATKVKYYYAVNDGFPGDH YAVMISKTGTNAGDFTVFEETPNGINKGGARFGLSTEA NGAKPQSWIERTVDLPAGTKYVAFRHYNCSDLNYILLD DIQFTMGGSPPTDYTYTVYRDGTKIKEGLTETTFEEDG 15 VATGNHEYCVEVKYTAGVSPKECVNVTVPVQFNPVQN LTGSAVGQKVTLKWDAPNGTPNPNPGTTTTLSEFENGIP ASWKTIDADGDGNNWTTTPPPGGTSFAGHNSAICVSSA 20 SYINFEGPQNPDNYLVPELSLPGGGTLTFWVCAQDAN YASEHYAVYASSTGNDASNFANALLEEVLTAKTVVTAPE AIRGTRVQGTWYQKTVQLPAGTKYVAFRHFGCTDFFWI 25 NLDDVEIKANGKRADFTETFESSTHGEAPAEWTTIDADG DGQGWLCLSSGQLGWLTAHGGTNVVASFSWNGMALN PDNYLISKDVTGATKVKYYYAVNDGFPGDHYAVMISKTG 30 TNAGDFTVFEETPNGINKGGARFGLSTEANGAKPQSV WIERTVDLPAGTKYVAFRHYNCSDLNYILLDDIQFTMGG 35 SPTPTDYTYTVYRDGTKIKEGLTETTFEEDGVATGNHEY CVEVKYTAGVSPKECVNVTINPTQFNPVQNLTAEQAPNS MDAILKWNAPASKRAEVLNEDFENGIPASWKTIDADGDG 40 NNWTTTPPPGGSSFAGHNSAICVSSASYINFEGPQNP NYLVPELSLPGGGTLTFWVCAQDANYASEHYAVYASS TGNDASNFANALLEEVLTAKTVVTAPEAIRGTRVQGTWY 45 QKTVQLPAGTKYVAFRHFGCTDFFWINLDDVVITSGNAP SYTYTIYRNNTQIASGVTETTYRDPDLATGFYTYGVKVVY PNGESAIETATLNITSLADVTAQKPYTLTVVGKTITVTCQG 50 EAMIYDMNGRRLAAGRNTVVYTAQGGHYAVMVVVDGK SYVEKLAVK	
55	SEQ ID NO:	Secuencia de aminoácidos	Fragmento
	64	D[S/Y][Y/S]WN[P/S][K/Q][I/V]	KAS4
	65	NSYWGED	KAS5

60

65

SEQ ID NO:	Secuencia de aminoácidos	Fragmento
56	IGN[V/I]THIGAHY	KASE
57	EGGP3ADN	RAG4
58	[N/D]Q[S/Y]WA[S/P]P	RAS5
59	PVSNLTATTQGQKVTWKWDAPST	ABM1 - RgpA _{cat}
70	PVSNLTATTQGQKVTLKEAPSA	ABM1-Kgpcat
71	PVQNLTGSSYGQKVTWKWDAPST	ABM1-KgpA'
72	PVQNLTGSAVGQKVTWKWDAPNG	ABM1 - RgpA1 & RgpAA3
73	PVKNLKAQPDGGDVVLKWEAPSA	ABM1 - HagAA1 */**
74	PVQNLTAEQAPNSMDAILKWNAP	ABM1 - KgpA3 & HagAA3
75	PVQNLQWSVSGQVTLTWQAPAS	ABM2 - HagAA1
76	YTYTVYRDGTKIKEG _L TETTFEEDGVA	ABM2 - ABM2 - RgpAA4
77	YTYTVYRDNVVIAQNLATTFNQENVA	ABM2 - HagA1*
78	YTYTVYRDGTKIKEG _L TA/ETTFEEDGVA	ABM2 Todas otras adhesinas
79	PNGTP(NP) ₁₋₄ GTT(T) _L SESF	ABM3- Todas adhesinas
80	GGPKTAPSVTHQAVQKGIRTSKAKELRDPIPGMARIILE	HagA1
	AHDVWEDGTGYQMLWDADHNQYGASIPESFWFANGTI PAGLYDPFEYKVPVNADASFSPN_FVLDGTASADIPAGTY DYVIINPNPGIIVGEGSVSKGNDYVVEAGKTYHFTVQRQ GPGDAASVVVTGEGGNEFAPVQNLQWSVSGQVTLTW QAPASDKRTYVLNESFDTQTLPNGWTMIDADGDGHNWL STINVYNTATHTGDMAMFSKSWTASSGAKIDLSPDNYLVT PKFTVPENGKLSYWWSSQEPWTNEHYGVFLSTTGNEAA NFTIKLLEETLGSG	[26-351]
81	APAPYQERTIDLSAYAGQQVYLAFRHFGCTGIFRLYLDDV AVSGEGSSNDYTYTVYRDNVVIAQNLATTFNQENVAPG QYNYCVEVKYTAGVSPKVCKDVTVEGSNEFAPVQNLTG SAVGQKVTWKWDAPNGTPNPNGTTT_LSESFENGIPASW KTIDADGDGNNWTTTPPPGGSSFAGHNSAICVSSASYIN FEGPQNPDNYLVTPELSLPNGGTLTFWVCAQDANYASE HYAVYASSTGNDASN_FANALLEEVLTA	HagA1* [366-625]

SEQ ID NO:	Secuencia de aminoácidos	Fragmento
82	PQSWIERTVDLPAGTKYVAFRHYNCSLDNYILLDDIQFT MGGSPPTDYTYTVYRDGTKIKEGLTETTFEEDGVATGN HEYCVEVKYTAGVSPKECVNVTDPVQFNPVQNLTGSA VGQKVTLKWDAPNGTPNPNPGTTTLESFENGIPASWKT IDADGDGNNWTTTPPPGGTSFAGHNSAICVSSASYINFE GPQNPDNYLVTPELSLPPNGGTLTFWVCAQDANYASEHY AVYASSTGNDASNFANALLEEVLTA	HagA1**[820-1077] o HagA1** [1272-1529]
83	PYQPVSNLTTATTQGG	ABM1[436 -450]
84	EGLTATTFEEDGVAA	ABM2 [672-686]
85	GTPNPNPNPNPNPGT	ABM3 [455-471]

[0105] La invención se ilustra adicionalmente mediante los siguientes Ejemplos que se incluyen a modo de ejemplo y no como limitación de la invención.

Ejemplo 1

Métodos y materiales.

[0106] **Cepas bacterianas y condiciones de crecimiento.** Cultivos liofilizados de *Porphyromonas gingivales* W50 se cultivaron anaeróticamente a 37°C en placas de agar de sangre de caballo lisada suplementadas con 5 µg/ml de hemina, 0,5 µg/ml de cisteína (HB agar, <10 pasajes). Después de 3-4 días, a colonias se utilizaron para inocular medio de infusión cerebro-corazón que contiene 5 µg/ml de hemina, 0,5 µg/ml de cisteína (1). Cultivos discontinuos se cultivaron en condiciones anaerobias en una estación de trabajo anaeróbico MK3 (Don Whitley Scientific Ltd., Adelaide, Australia). Las células se recogieron durante la fase de crecimiento exponencial mediante centrifugación (7500 g, 30 min, 4°C) y se lavaron dos veces con tampón de PG (50 mM Tris-HCl, 150 mM de NaCl, 5 mM CaCl₂, y 5 mM de cisteína-HCl, pH 8,0) en la estación de trabajo anaeróbica. El crecimiento de cultivos discontinuos se monitorizó a 650 nm utilizando un espectrofotómetro (modelo 295E, Perkin-Elmer). La pureza del cultivo se comprobó de forma rutinaria por la tinción de Gram, el examen microscópico y el uso de una variedad de ensayos bioquímicos de acuerdo con ranuras (2).

[0107] **Construcción de constructos de pET28 que contienen secuencias de adhesina y secuencias de adhesina con la adición N-terminal de secuencias de proteinasa Kgp.** Residuos Kgp que representan péptidos y péptidos quiméricos de sitio activo (AS) y dominios de adhesina KgpA1 (A1) se sobre-expresaron en *E. coli* como proteínas recombinantes (r) con etiquetas hexa-His usando vectores de expresión pET (Novagen). Las r-proteínas expresadas eran rKAS2, y rKLA1 y las proteínas r-quiméricas eran rKAS2-KLA1, rKAS1-KsA1 y rKAS4-KAS3-KAS5-KAS6-KLA1 (también denominadas multiKAS-KLA1). Las secuencias de aminoácidos que representan los diversos dominios A1 y AS se describen en las Tablas 1 y 2.

[0108] Los diversos dominios KAS y KA1 del gen *kgp* se amplificaron a partir de pNS1 (3,5 kb fragmento BamHI *lys* en pUC18) o ADN genómico de *P. gingivales* utilizando respectivamente cebadores enumerados en la Tabla 4, la ADN polimerasa Taq (Invitrogen) y un termociclador PC-960 (Corbett Research Technologies). Los pares de cebadores KAS2-FOR y KAS2-REV y KLA1- PARA y KLA1-REV se usaron para generar fragmentos de PCR que codifican KAS2 y KLA1 respectivamente usando las siguientes condiciones de reacción: 94°C, 3 minutos, seguido por 28 ciclos de 94°C, 45 sec (desnaturalización); 62°C, 40 segundos (hibridación) y 72°C, 20 segundos (extensión), seguido de un ciclo final de 72°C, 5 min.

[0109] El producto de PCR quimérico KAS2-KLA1 fue producido por corte y empalme de genes por extensión de solapamiento (SOEing) del siguiente modo: Los productos de PCR fueron producidos usando pares de cebadores KAS2-FOR y KAS2-KLA1-quimera-REV y KAS2-KLA1-quimera-PARA y KLA1-REV usando las condiciones descritas anteriormente. Los productos de PCR fueron luego recocidos y una PCR final se realizó con cebadores KAS2-FOR y KLA1-REV (94°C, 2 minutos, seguido de 28 ciclos de 94°C, 30 seg; 50°C, 30 segundos y 72°C, 40 segundos seguido de un ciclo final de 72°C, 5 min.

[0110] Para la preparación del producto KAS1-KsA1 PCR, dos PCR sucesivos se llevaron a cabo usando el cebador KAS1- KsA1-REV con cada uno de los cebadores 1 y 2 KAS1-KsA1-FOR, en sucesión (condiciones de reacción 94°C durante 2 minutos, seguido de 35 ciclos de 94°C, 15 segundos; 63°C, 30 segundos y 72°C, 2 minutos) para producir el producto KAS1-KsA1 PCR. Los cebadores KAS1-KsA1-FOR1 y KAS1-KsA1-FOR2 contienen una extensión 3' que se superpone la 5' del producto de PCR anterior.

[0111] Para la preparación del fragmento de multiKAS-KLA1 PCR, cuatro PCR sucesivas se llevaron a cabo usando el cebador multi-REV con cada uno de los cebadores multi-FOR 1, 2, 3 y 4 en la serie (condiciones de reacción fueron 95°C, 2 minutos seguido por 35 ciclos de 95°C, 20 segundos; 68°C, 1,5 minutos) para producir el producto multiKAS-KLA1 PCR. Cada cebador multi-FOR contiene una extensión 3' que se superpone a la 5' del producto de PCR anterior.

[0112] Todos los fragmentos de PCR que codifican KAS2, KLA1, KAS2-KLA1, KAS1-KsA1 y multiKAS-KLA1 se purificaron utilizando columnas de purificación de PCR (Qiagen), se ligó en el vector de clonación TA, pGemT-Easy (Promega) y se transformó en *E. coli* JM109 siguiendo el protocolo del fabricante. Construcciones purificadas recombinantes pGemT-Easy se digirieron con NcoI y XhoI y direccionalmente se clonaron en pET28b digerido por NcoI/XhoI (Novagen) y se transformaron en el huésped no de expresión, *E. coli* JM109 [DH5⁻]. Las construcciones de pET28 recombinantes se purificaron y se transformaron en la huésped de expresión *E. coli*, BL21 (DE3) [HMS174 (DE3)] (Novagen) y se seleccionaron en LB que contenía 50 µg de kanamicina siguiendo las instrucciones del fabricante. La integridad de cada inserto se confirmó mediante análisis de secuencia de ADN.

[0113] Los cebadores de oligonucleótidos (Tabla 4) se han diseñado para incorporar sitios de enzimas de restricción, codones de parada y hexa-His cuando sea necesario. Los cebadores utilizados para la rKAS2, rKLA1 y rKAS2-KLA1 fueron diseñados para limitar la inclusión de la secuencia de codificación extraña a no más de tres aminoácidos más la etiqueta hexa-his en r-proteínas. rKAS1 y rKLA1 fueron diseñados para contener una etiqueta hexa-His en los extremos N-terminal y C-terminal, respectivamente, de modo que puedan ser comparados directamente con el rKAS2-KLA1 que tiene una etiqueta hexa-his en N-terminales y C-terminales. En rKAS1-KsA1 y rmultiKAS-KLA1 las etiquetas His se encuentran en el C-terminal.

Tabla 4 Los cebadores de oligonucleótidos usados para la amplificación de las secuencias de nucleótidos que codifican los diversos fragmentos y quimeras de Kgp A1 y AS

Proteína recombinante (r)	Oli	Secuencia (5'-3')	Características* (5'-3')
KAS2	KAS2-FOR	GACCATGGCTCATCACCATCACC ATCACAATACCGGAGTCAGCTTT GCA (SEQ ID NO: 47)	Tampón GA-NcoI (incluyendo inicio ATG)-CT-(His) ₆ -AS (nt 1992-2012)
	KAS2-REV	GACTCGAGTTATTTGTCCTTATTA GTGAGTGCTTTC (SEQ ID NO: 48)	Tampón GA-XhoI-TTA Parada-KAS1 (nt 2099-2075)
rKLA1	KLA1-FOR	GACCATGGCTTGGGGAGACAATA CGGGTTAC (SEQ ID NO: 49)	Tampón GA-NcoI (incluyendo inicio ATG)-CT-A1 (nt 2946-2966)
	KLA1-REV	GACTCGAGACCTCCGTTAGGCAA ATCC (SEQ ID NO: 50)	Tampón GA-XhoI-A1 (nt 3863-3845)
rKAS2-KLA1	KAS2-KLA1-REV	CCGTATTGTCTCCCCATTTGTCCT TATTAGTGAGTGCTTTC (SEQ ID NO: 51)	A1 (nt 2961-2946)-KAS1 (nt 2099-2075)
	KAS2-KLA1-FOR	CACTAATAAGGACAAATGGGGAG ACAATACGGGTTAC (SEQ ID NO: 52)	KAS1 (nt 2084-2099)-A1 (nt 2946-2966)

Proteína recombinante (r)	Oli	Secuencia (5'-3')	Características* (5'-3')
rKAS1-KsA1	KAS1-KsA1-FOR1	CATGGATCTGAGACCGCATGGG CTGATCCACTTTTCTTGTGGATG CCGAT (SEQ ID NO: 53)	AS (nt 2025-2057)-A1 (nt 2970-2987)-
	KAS1-KsA1-FOR2	CCATGGCTTTGAATACCGGAGTC AGCTTTGCAAAC TATACAGCGCA TGGATCTGAGACCGCA	NcoI-CT-AS (nt 1989-2042)
		SEQ ID NO: 54)	
	KAS1-KsA1-REV	CTCGAGGAATGATTCGAAAGTG TT (SEQ ID NO: 55)	XhoI-A1 (nt 3663-3644)
rmultiKAS-KLA1	multi-FOR1	CCATGGCTGATTATAGCTGGAAT TCCCAGGTAGTCAGCTTTGCAA CTATACA (SEQ ID NO: 56)	NcoI-CT-KAS4 (nt 1857-1880)-KAS3 (nt 2001-2021)
	multi-FOR2	CTTTGCAAAC TATACAGCGCATG GATCTGAGACCGCATGGGCTGAT CCACTT (SEQ ID NO: 57)	KAS3 (nt 2006-2057)
	multi-FOR3	ATGGGCTGATCCACTTCTGAATT CTTATTGGGGCGAGATCGGCAAT ATTACC (SEQ ID NO: 58)	KAS3 (nt 2042-2060)-KAS5 (nt 2223-2240)-KAS6 (nt 2403-2417)
	multi-FOR4	GATCGGCAATATTACCCATATTG GTGCTCATTACGCTTGGGGAGAC AATACG (SEQ ID NO: 59)	G-KAS6 (nt 2403-2435)-GCT (Ala espaciador)-A1 (nt 2946-2960)
	multi-REV	CTCGAGACCTCCGTTAGGCAAAT CCAATGCCGGTGTATCAGATAG TTGTCA (SEQ ID NO: 60)	Xho-A1 (nt 3863-3818)

* Números de secuencia de nucleótidos (nt) de número de acceso de secuencia de gen de proteinasa de cisteína de lisina específica U75366

[0114] Expresión y purificación de proteínas recombinantes. Las proteínas recombinantes se expresan a partir de constructos pET28 :: KLA1 (KAS2, KAS2-LA1, KAS1-SA1, multiKAS-KLA1) por inducción con isopropilo -D-tiogalactosi- dase (IPTG). Todas las proteínas recombinantes se produjeron como proteínas de fusión de la etiqueta 6-His y se purificaron con sistema de purificación NJ-NTA (Invitrogen) en condiciones desnaturizantes. Brevemente, transformantes de colonias individuales *E. coli* (DE3) se utilizaron para inocular 20 ml de caldo Luria-Bertani (LB) que contenía 50 µg/ml de kanamicina a 37°C en un agitador orbital durante la noche. A continuación se usó este inóculo para inocular 1 L de LB que contenía 50 µg/ml de kanamicina. La OD₆₀₀ de este cultivo se dejó alcanzar 0,5-0,7 (fase mid-log) antes de inducir la expresión de la proteína con IPTG de isopropílico a 0,1 mM durante 2 horas a 37°C con agitación de 200 rpm. Las células fueron cosechadas (7,500g) y se resuspendieron en un tampón de unión desnaturizante (Urea 8M, 20 mM de fosfato de sodio pH 8,0 y 500 mM NaCl) y se sonicaron

en hielo durante ráfagas de 3 x 15 s en intervalos de 30 s usando un disruptor de células Branson Sonifer 250 (Branson Ultrasonics Corporation, Danbury, CT) con la micropunta sobre la configuración 3, después se centrifugó a 39.000 g durante 30 min a 4°C. Las proteínas recombinantes se purificaron a partir del sobrenadante mediante la carga en una columna pre-equilibrada Ni-NTA agarosa y después el lavado con tampón de lavado desnaturizante (urea 8M, 20 mM fosfato de sodio pH 6,0 y 500 mM NaCl) para eluir las proteínas no unidas. A continuación, la columna se lavó usando 10 volúmenes de tampón de unión B y la proteína recombinante se eluyó con tampón desnaturizante de elución (urea 8 M, 20 mM fosfato de sodio pH 6,0, 500 mM NaCl y 0,5 M de imidazol). La proteína purificada se dializó contra urea 2M-PBS y se almacenó a -80°C.

5 [0115] Muestras de proteínas recombinantes se analizaron mediante SDS-PAGE y sus masas moleculares determinadas usando ProtParam en línea (<http://au.expasy.org/tools/protparam.html>). La concentración de proteína de todas las muestras se determinó por el ensayo de proteínas Bio-Rad utilizando BSA como estándar.

15 [0116] **La inmunización y el modelo de periodontitis de ratón.** Los experimentos con periodontitis de ratón se realizaron como se ha descrito anteriormente (3) y fueron aprobados por el Comité de Ética para la Experimentación Animal de la Universidad de Melbourne. Ratones BALB/c de 6-8 semanas de edad (12 ratones por grupo) alojados en microaisladores se inmunizaron por vía subcutánea (sc 100 µL), ya sea con 50 µg de una de las proteínas recombinantes o complejo rgpA-Kgp, 2x10⁹ células matadas por formalina de cepa W50 de *P.gingivales* PBS; cada antígeno se emulsionó en adyuvante incompleto de Freund (IFA). Después de 30 días los ratones fueron reforzados con antígeno (inyección s.c., emulsionado en IFA) y luego sangrado del plexo retrobulbar 12 días más tarde. Cuatro días después de la segunda inmunización, a los ratones se les dio la kanamicina (Sigma-Aldrich, Nueva Gales del Sur, Australia) a 1 mg/ml en agua desionizada ad libitum durante 7 días. Tres días después del tratamiento antibiótico (2 días después de la hemorragia), los ratones se inocularon por vía oral cuatro veces a una distancia de 20 días, con 1 x 10¹⁰ W50 *P.gingivales* viable (25 µL) en tampón de PG (50 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 5 mM de CaCl₂ y 5 mM de cisteína-HCl, pH 8,0) que contiene 2% (peso/vol) de carboximetilcelulosa (CMC; Sigma-Aldrich, Nueva Gales del Sur, Australia), y un control de grupo fue simulado infectado con tampón de PG que contiene 2% (peso/vol) de CMC solo. Los inóculos se prepararon de la cámara anaeróbica y luego se aplicaron inmediatamente al margen gingival de los dientes molares maxilares. Dos semanas más tarde, los ratones recibieron otras cuatro dosis (2 días de diferencia) de 1 x 10¹⁰ células de W50 *P.gingivales* viable (25 µL) en tampón de PG que contiene 2% (peso/vol) de CMC. El número de bacterias viables en cada inóculo se verificó por enumeración en agar de sangre. Los ratones fueron alimentados con una dieta en polvo suave (Barastock, Australia) y se alojaron en jaulas equipadas con un fondo de malla de alambre elevado a impedir el acceso a la ropa de cama. Cuatro semanas después de la última dosis, los ratones fueron sangrados del plexo retrobulbar y matados, y los maxilares se retiraron y se cortaron por la mitad con una mitad (derecha) utilizada para la medición de la pérdida de hueso alveolar y la otra mitad (izquierda) utilizada para PCR de tiempo real.

35 [0117] Los maxilares de mitad derecha se hirvieron (1 min) en agua desionizada, se descarnaron mecánicamente, y se sumergieron en 2% de hidróxido de potasio (peso/vol) (16 h, 25°C). A continuación, los maxilares medios se lavaron (dos veces con agua desionizada) y se sumergieron en 3% (peso/volumen) de peróxido de hidrógeno (6 h, 25°C). Después de los maxilares medios se lavaron (dos veces con agua desionizada), se tiñeron con 0,1% (peso/volumen) de azul de metileno acuoso, y una imagen digital de la cara vestibular de cada mitad maxilar fue capturada con una cámara digital Olympus DP12 montada en un microscopio de disección, usando el software OLYSIA BioReport versión 3.2 (Olympus Australia Pty Ltd, Nueva Gales del Sur, Australia) para evaluar la pérdida ósea horizontal. La pérdida de hueso horizontal es la pérdida que ocurre en un plano horizontal, perpendicular a la cresta ósea alveolar (ABC) que se traduce en una reducción de la altura de la cresta. Cada maxilar medio fue alineado de manera que se superponen las cúspides bucal y lingual molares de cada imagen diente, y la imagen fue capturada con una escala micrométrica en el marco, de manera que las mediciones podrían ser estandarizadas para cada imagen. El área de la unión cemento-esmalte para la ABC para cada diente molar se midió utilizando software de imágenes OLYSIA BioReport versión 3.2. Mediciones de pérdida de hueso se determinaron dos veces por un solo examinador utilizando un protocolo aleatorizado y ciego.

40 [0118] **La determinación de anticuerpo de subclase mediante un ELISA.** Para determinar las respuestas de anticuerpos de subclase de los sueros de ratón, se realizaron ensayos de inmunoabsorción ligados a enzimas (ELISA) por triplicado utilizando una solución de 5-µg/ml de W50 *P.gingivales* matada por formalina en solución salina tamponada con fosfato (PBS) (0,01 M Na₂HPO₄, 1,5 mM KH₂PO₄, 0,15 M NaCl), pH 7,0, que contenía 0,1% (vol/vol) de Tween 20 (PBST) para recubrir los pocillos de placas de microtitulación de polivinilo de fondo plano (Dynatech Laboratories, McLean, VA). Después de la eliminación de la solución de revestimiento, PBST que contiene 2% (peso/vol) de polvo de leche descremado se añadió a los pocillos para bloquear el plástico sin recubrir durante 1 h a temperatura ambiente. Después los pocillos se lavaron cuatro veces con PBST, diluciones en serie de sueros de ratón en PBST que contiene 0,5% (peso/vol) de leche descremada se añadieron a cada pocillo y se incubaron durante 16 h a temperatura ambiente (SK-PBST). Después se lavaron los pocillos seis veces con PBST, una dilución 1/2.000 de IgG de cabra para IgM de ratón, IgA, IgG1, IgG2a, IgG2b o IgG3 (Sigma, Nueva Gales del Sur, Australia) se añadió en SK-PBST y se dejó unirse durante 2 h a temperatura ambiente. Las placas se lavaron seis veces en PBST, y una dilución 1/5.000 de rábano picante peroxidasa conjugado de inmunoglobulina de conejo anti-cabra (Sigma, Nueva Gales del Sur, Australia) en SK-PBST se añadió a cada pocillo y se incubaron durante 1 h a temperatura ambiente. Después se lavaron los pocillos seis veces con PBST, el anticuerpo unido se detectó

mediante la adición de 100 μ L de ácido sulfónico de sustrato ABTS [0,9 mM de 2,2'-azino-bis(3-etilbenz-tiazolina-6) en 80 mM de ácido cítrico que contiene 0,005% (vol/vol) de peróxido de hidrógeno, pH 4,0] a cada pocillo. La densidad óptica a 415 nm se midió usando un lector de microplacas (lector de microplacas Bio-Rad, modelo 450).

5 [0119] **Electroforesis en gel de SDS-PAGE y transferencia Western.** Las proteínas recombinantes (10 μ g) se analizaron utilizando el sistema de electroforesis XCell SureLock Mini-Cell. Las proteínas recombinantes se mezclaron en 20 μ L de tampón de muestra reductora (10% [peso/vol] SDS, 0,05% [peso/vol] azul de bromofenol, 25% [vol/vol] glicerol, y 0,05% [vol/vol] 2-mercaptoetanol). El pH se ajustó a pH 8,0 con 1,5 M Tris-HCl, y después la solución se calentó durante 5 min a 100°C. Las proteínas recombinantes (10 μ g/carril) se cargaron en Novex 12% (peso/vol) de Tris-glicina de mini geles prefabricados, y la electroforesis se llevó a cabo usando una corriente de 30 a 50 mA y una diferencia de potencial de 125 V usando una sistema de electroforesis Novex (Novex, San Diego, CA). Las proteínas se visualizaron usando 0,25% w/v azul de Coomassie R250.

15 [0120] **Análisis de epítomos de la secuencia de péptido de sitio activo de proteinasa Kgp (KAS-2).** Los sitios de unión de anticuerpos para el péptido KAS2 de sitio activo de proteinasa Lys-específica (433-468 SEQ ID No: 28) se determinó por la síntesis de ocho péptidos de residuos de superposición N-terminalmente biotinilados (compensados por uno, la superposición por siete residuos) en un sistema de síntesis de péptido multipin (Chiron Technologies, Melbourne, Australia) utilizando protocolos de síntesis de péptidos en fase sólida estándar para la química de Fmoc. Los péptidos biotinilados (5 μ g/ml) en PBS 0,1 M, pH 7,4 se unieron a placas recubiertas de estreptavidina, durante la noche a 4°C (Nunc, NSW Australia). Después los pocillos se lavaron cuatro veces con el mapeo de epítomos PBST de los péptidos unidos a la placa se llevaron a cabo mediante ELISA según las instrucciones Chiron Technologies utilizando sueros de ratón a una dilución de 1: 1000 en 1% p/v no grasa de la leche desnatada en polvo en 0,1 M PBS, pH 7,4, que contiene 0,1% v/v de Tween 20 (SK-PBST). Después se lavaron los pocillos seis veces con PBST, una dilución 1/2.000 de IgG de cabra se añadió en SK-PBST y se dejó que se unieran durante 2 h a temperatura ambiente IgG de ratón (Sigma, Nueva Gales del Sur, Australia). Las placas se lavaron seis veces en PBST, y se añadió una dilución 1/5.000 de inmunoglobulina de conejo anti-cabra conjugada por peroxidasa de rábano (Sigma, Nueva Gales del Sur, Australia) en SK-PBST a cada pocillo y se incubaron durante 1 h a temperatura ambiente. Después se lavaron los pocillos seis veces con PBST, el anticuerpo unido se detectó mediante la adición de 100 μ L de sustrato ABTS [0,9 mm 2,2'-azino-bis(3-etilbenz-tiazolina-6) ácido sulfónico en 80 mM de ácido cítrico que contiene 0,005% (vol/vol) de peróxido de hidrógeno, pH 4,0] a cada pocillo. La densidad óptica a 415 nm se midió utilizando un lector de microplacas (lector de microplacas Bio-Rad, modelo 450).

25 [0121] **Análisis estadístico.** Los datos de pérdida de hueso se analizaron estadísticamente usando un análisis unidireccional de la varianza (ANOVA) y la prueba T3 de Dunnett (SPSS para Windows, versión 12). Los títulos de anticuerpos de subclase IgA, IgM, IgG y se analizaron estadísticamente utilizando de la prueba *t* de Student utilizando el software SPSS (SPSS para Windows, versión 12).

Ejemplo 2

40 [0122] **Caracterización y purificación de las proteínas recombinantes (KsA1, KLA1, KAS1-KsA1 y KAS2-KLA1).** Con el fin de caracterizar la capacidad de los fragmentos del dominio A1 Kgp adhesina y quimera Kgp proteinasa y fragmentos de los dominios adhesina A1 Kgp para proteger contra *P.gingivales* infección, expresamos y purificamos las proteínas recombinantes:- KsA1, KLA1, KAS1-KsA1 y KAS2-KLA1. Las proteínas recombinantes (KsA1 y KLA1) y proteínas de quimera recombinantes (KAS1-KsA1 y KAS2-KLA1) se purificaron a partir de cuerpos de inclusión, usando la cromatografía de afinidad de quelato de níquel y las proteínas purificadas se analizaron por SDS-PAGE (Fig. 1). Cada una de las proteínas recombinantes purificadas consistía en una banda principal de proteína con pesos moleculares de 40, 36, 31 y 32 kDa correspondientes a KAS2-KLA1, KLA1, KsA1 y KAS1-KsA1, y estos pesos corresponden a las masas moleculares calculadas de las proteínas recombinantes His-tag utilizando ProtParam. Para caracterizar la inmunogenicidad de las proteínas recombinantes KsA1, KLA1, KAS1-KsA1 y KAS2-KLA1 se usaron para inmunizar ratones y los sueros se utilizaron para sondear placas recubiertas de péptido KAS2 y placas revestidas con células W50 *P.gingivales* matadas con formalina (Fig 2). Se encontraron proteínas de quimera recombinantes KAS1-KsA1 y antisueros KAS2-KLA1 reconocían péptido KAS2 (Fig 2A) a un nivel similar a antisueros específicos a KAS2 (conjugado de toxoide KAS2-difteria), así como células W50 *P.gingivales* matadas por formalina (Fig 2B). Sin embargo, el antisuero contra la proteína recombinante KLA1 sólo reconoció células W50 *P.gingivales* matadas (Fig 2B).

Ejemplo 3

60 [0123] **Efecto de la inmunización con las proteínas recombinantes (KsA1, KLA1, KAS1-KsA1 y KAS2-KLA1) sobre pérdida de hueso alveolar inducida por *P.gingivales* en el modelo de periodontitis de ratón.** Las proteínas recombinantes KsA1, KLA1, KAS1-KsA1 y KAS2-KLA1, cepa W50 *P.gingivales* matada por formalina y el complejo rgpA-Kgp se utilizaron para determinar y comparar la protección inducida contra pérdida de hueso alveolar inducida por *P.gingivales* usando un modelo de ratón modificado de la pérdida de hueso periodontal sobre la base de lo reportado por Baker *et al* (4). Se inmunizaron ratones (días 0 y 30), ya sea con proteínas recombinantes KsA1, KLA1, KAS1-KsA1 o KAS2-KLA1, complejo rgpA-Kgp o células de cepa W50 *P.gingivales* matadas por formalina (FK-W50) o adyuvante PBS solo y oralmente se desafiaron con W50 *P.gingivales* viables. La inmunización con todos los antígenos recombinantes, células complejas rgpA-Kgp y FK-W50 protegieron ratones BALB/c contra pérdida de

hueso alveolar inducida por *P.gingivales* ya que estos animales mostraron significativamente menos pérdida de hueso ($p < 0,001$) en comparación con el grupo inmunizado por PBS (Figura 3). Sin embargo, ratones inmunizados por KAS2-KLA1 tenían significativamente menos pérdida de hueso que los ratones inmunizados con KLA1 ($p < 0,01$); KsA1 ($p < 0,001$), complejo rgpA-Kgp ($p < 0,001$), las células FK-W50 ($p < 0,001$) y no ratones expuestos ($p < 0,001$). No hubo diferencia significativa en la pérdida de hueso entre los ratones inmunizados KAS2-KLA1 y KAS1-KsA1. Además, ratones inmunizados por KAS1-KsA1 mostraron significativamente menos pérdida de hueso que los ratones no expuestos ($p < 0,01$) y ratones inmunizados con complejos rgpA-Kgp ($p < 0,05$), pero no fueron significativamente diferentes de ratones inmunizados por KsA1, KLA1, y FK-W50. No hubo diferencia significativa en la pérdida de hueso entre ratones inmunizados por KsA1, KLA1, complejo rgpA-Kgp y FK-W50.

Ejemplo 4

[0124] Respuestas de subclase de anticuerpo inducidas por la inmunización con las proteínas recombinantes (KsA1, KLA1, KAS1-KsA1 y KAS2-KLA1) en los modelos de periodontitis de ratón. Antes y después del desafío de inoculación oral con ratones de células *P.gingivales* viables, los ratones fueron sangrados y los sueros se recogieron por centrifugación. Fig. 4 muestra la reactividad de subclase de anticuerpo a células W50 *P.gingivales* matadas por formalina para cada inmunógeno (KsA1, KLA1, KAS1-KsA1 o KAS2-KLA1 o células de cepa W50 *P.gingivales* matadas por formalina (FK-W50)) en el modelo de ratón periodontitis. Todos los inmunógenos protectores indujeron un alto título de anticuerpos IgG a FK-W50. Además, la subclase de anticuerpos predominante para cada inmunógeno protector inducido fue IgG1 con anticuerpos sólo débilmente inmunorreactivos IgG2a, IgG2b e IgG3 FK-W50-específicos (Fig 4). La subclase de anticuerpo predominante inducida por cada inmunógeno tanto antes (Fig 4A) como después de la inoculación oral (Fig 4B) era IgG1.

Ejemplo 5

[0125] El mapeo de epítomos de KAS2 (433-468). Ocho péptidos de residuos biotinilados superpuestos (compensación por uno, superposición por siete) para KAS2 (433-468) se sintetizaron y se usaron para recubrir placas recubiertas con estreptavidina. Los epítomos de unión a anticuerpo se identificaron a continuación, utilizando antisueros de ratones inmunizados con conjugado toxoide de KAS1-KsA1, KAS2-KLA1 y KAS2-difteria (Fig 5). Un incremento de dos veces en la densidad óptica (415 nm) por encima del fondo se consideró como una respuesta de anticuerpos positiva (umbral de OD). Los antisueros reconocieron las siguientes secuencias peptídicas derivadas de SEQ ID No.28 *viz.* KAS1 - KsA1 reconocieron péptidos 435-442, 436-443, 445-452, 446-453 y 447-454 (umbral OD = 0,07, Fig 5A), mientras que KAS2 - KLA1 reconocieron péptidos 435-442, 447-454 y 448-455 (umbral ID = 0,07, Fig 5A). Esto sugiere el reconocimiento de una serie de epítomos mínimos *viz.* péptido 436-442 (VSFANYT y su variante VGFANYT), péptido 447-452 (ETAWAD y su variante ETSWAD), y el péptido 448-453 (TAWADP y su variante TSWADP). Los péptidos que incluyen el epítomo de péptido 436 a 442 incluyen GVSFANYT, GVGANYT, VSFANYTA y VGFANYTA. Los péptidos que incluyen el péptido 447-452 y/o 448-453 epítomos incluyen SETAWAD, SETSWAD, ETAWADP, ETSWADP, TAWADPL y TSWADPL, más particularmente GSETAWAD, GSETSWAD, SETAWADP, SETSWADP, ETAWADPL, ETSWADPL, TA- WADPLL y TSWADPLL.

Ejemplo 6

Síntesis de péptidos KAS y RAS para la conjugación a una proteína.

[0126] Los péptidos se sintetizaron manualmente o utilizaron un sintetizador de péptidos de microondas CEM. Se utilizaron protocolos de síntesis de péptidos en fase sólida estándar para la química Fmoc. Los péptidos se ensamblan como la forma carboxiamida usando resina AM-sure derivada de enlazador Rink (AAPTEC, KY, EE.UU.). El acoplamiento se logra con activación HBTU/HOBt utilizando 4 equiv de Fmoc-aminoácido y 6 equivalentes de DIPEA. El grupo Fmoc se eliminó mediante 20% de piperidina en 1 M HOBt/DMF.

[0127] Las resinas teniendo péptidos KAS o RAS se hincharon en DMF y el grupo Fmoc N-terminal eliminaron por 2% v/v DBU en DMF que contenía 2% v/v de piperidina. A continuación, el grupo amino N-terminal se derivatizó con el grupo de ácido S-Acetilmercaptoacético (SAMA) utilizando 5 equiv de SAMA-OPfp y 5 equiv de HOBt. La reacción se controló mediante el ensayo de ácido sulfónico de trinitrobenzoceno (TNBSA). Cuando se devolvió una prueba TNBSA negativa la resina se lavó (5 x DMF, 3 x DCM y 3 x éter dietílico). A continuación se secó la resina bajo vacío. La escisión de los péptidos del soporte de resina se realizó mediante TFA: fenol: TIPS: EDT: agua (92: 2: 2: 2) cóctel de escisión durante 2,5 horas o 4 horas dependiendo del contenido de arginina del péptido. Después de la escisión, la resina se eliminó por filtración y el filtrado se concentró a aproximadamente 1 ml bajo una corriente de nitrógeno. Después de que los productos de péptidos se precipitaron en éter frío, se centrifugaron y se lavaron tres veces. Los precipitados peptídicos se disolvieron en 5 a 10 ml de agua que contiene 0,1% v/v de TFA y el residuo insoluble se eliminó por centrifugación. Los péptidos se purificaron mediante RP-HPLC.

[0128] Un número de diferentes restos químicos pueden ser utilizados para derivatizar péptidos para la conjugación a proteínas, estos introducirían grupos reactivos tales como; haluros (bromo, cloro y yodo), maleimido, succinimidilo, hidrazinilo, oxima, tiol, que luego se puede utilizar para derivatizar el péptido a una proteína tal como KgpA1 a través de sus residuos de cisteína nativos o se ha derivatizado con el grupo reactivo complementario que permite que la

ligación química proceda para formar un conjugado de péptido-proteína.

[0129] Conjugación de Sama-péptidos a KA1. A una solución, que contiene 10 mg/ml de KA1 recombinante u otro dominio de adhesina del complejo rgpA-Kgp en solución salina tamponada con fosfato (fosfato de sodio 0,1 M, 0,9% de NaCl, pH 7,4) se añadió 0,1 ml de una solución de 1% p/v de éster benzoil-N-hidroxisuccinimida m-maleimido (MBS) en DMF. Después de 30 min MBS sin reaccionar se eliminó y KA1 modificados por MBS se recogieron por filtración en gel utilizando una columna PD10 (Pharmacia, NSW, Australia) equilibrada en tampón de conjugación (0,1 M de fosfato sódico, 5 mM de EDTA; pH 6,0). Péptido SAMA purificado (1,3 m moles) se disolvió en 200 μ L 6 M de guanidina HCl que contiene 0,5 M Tris; 2 mM de EDTA, pH 6,0 y se diluyó con 800 μ L de agua MilliQ y se desprotegió *in situ* mediante la adición de 25 μ L de 2M NH_2OH (40 equiv) disuelto en agua MilliQ. Los MBS-KA1 recogidos se hicieron reaccionar inmediatamente con SAMA-péptido desprotegido y se agitaron durante una hora a temperatura ambiente. El conjugado de péptido-KA1 se separó del péptido sin reaccionar por filtración en gel utilizando una columna PD10 equilibrada con PBS pH 7,4 y se liofilizó. La reacción se controló mediante la prueba de Ellman.

Ejemplo 7

[0130] Preparación de anticuerpos. El antisuero policlonal a las proteínas recombinantes se crían en ratones mediante inmunización con las proteínas por vía subcutánea. Los ratones se inmunizaron en el día 0 con 25 μ g de proteína en adyuvante incompleto de Freund y el día 30 con 25 μ g de proteína en adyuvante incompleto de Freund. Las inmunizaciones se llevaron a cabo utilizando procedimientos estándar. Se obtienen antisueros policlonales que tienen un título alto contra las proteínas. Si los anticuerpos monoclonales deseados específicamente dirigidos contra proteínas recombinantes se obtienen usando procedimientos estándar.

EJEMPLO 8

[0131] Inmunización para la generación de anticuerpos. Ratones BALB/c o CD1 (ratones suizos criados) de 6-8 semanas de edad (10 ratones por grupo) se inmunizaron subcutáneamente (100 μ L s.c.), eran 50 μ g de la KAS2-LA1 quimera y el antígeno emulsionado en adyuvante de Freund incompleto (IFA). Después de 30 días los ratones fueron reforzados con antígeno (inyección s.c., emulsionado en IFA) y 12 días más tarde los ratones fueron sacrificados y se sometieron a sangrado cardíaco para recoger sueros.

[0132] Determinación de anticuerpo de subclase mediante un ELISA. Para determinar las respuestas de anticuerpos de subclase de los sueros de ratón, ensayos de inmunoabsorción ligados a enzimas (ELISA) se realizaron por triplicado usando una solución de 5 μ g/ml de KAS2-LA1 quimera o W50 *P.gingivales* matada por formalina o el complejo rgpA-Kgp en solución salina tamponada por fosfato (PBS) (0,01 M Na_2HPO_4 , 1,5 mM KH_2PO_4 , 0,15 M NaCl), pH 7,0, que contenía 0,1% (vol/vol) de Tween 20 (PBST) para recubrir pocillos de placas de microtitulación de polivinilo de fondo plano (Dynatech Laboratories, McLean, VA). Después de la eliminación de la solución de revestimiento, PBST que contiene 2% (peso/vol) de leche descremada se añadió la leche en polvo a los pocillos para bloquear el plástico sin recubrir durante 1 h a temperatura ambiente. Después los pocillos se lavaron cuatro veces con PBST, diluciones en serie de sueros de ratón en PBST que contiene 0,5% (peso/vol) de leche descremada se añadieron a cada pocillo y se incubaron durante 16 h a temperatura ambiente (SK-PBST). Después se lavaron los pocillos seis veces con PBST, una dilución 1/2.000 de IgG de cabra para IgM de ratón, IgA, IgG1, IgG2a, IgG2b o IgG3 (Sigma, Nueva Gales del Sur, Australia) se añadió en SK-PBST y se dejó unir durante 2 h a temperatura ambiente. Las placas se lavaron seis veces en PBST, y se añadió una dilución 1/5.000 de inmunoglobulina de conejo anti-cabra conjugada con peroxidasa de rábano (Sigma, Nueva Gales del Sur, Australia) en SK-PBST a cada pocillo y se incubaron durante 1 h a temperatura ambiente. Después se lavaron los pocillos seis veces con PBST, el anticuerpo unido se detectó mediante la adición de 100 μ L de sustrato de ABTS [0,9 mM de 2,2'-azino-bis(3-etilbenz-tiazolina-6) ácido sulfónico en 80 mM de ácido cítrico que contiene 0,005% (vol/vol) de peróxido de hidrógeno, pH 4,0] a cada pocillo. La densidad óptica a 415 nm se midió utilizando un lector de microplacas (lector de microplacas Bio-Rad, modelo 450).

[0133] Respuestas de subclase de anticuerpo inducidas por la inmunización con la proteína recombinante KAS2-KLA1 en ratones exogámicos (CD1, suizo). Los ratones CD1 (suizo) se inmunizaron con la KAS2-LA1 quimera, se sangraron y los sueros se recogieron por centrifugación. Fig. 6 muestra la reactividad de subclase de anticuerpo a KAS2-LA1 quimera, células W50 de *P.gingivales* matadas con formalina y el complejo rgpA-Kgp. La KAS2-LA1 quimera indujo un fuerte anticuerpo IgG con una respuesta de anticuerpos de IgG1 predominante que reconoce la KAS2-LA1 quimera y transversal se reaccionó fuertemente con células W50 *P.gingivales*FK y el complejo rgpA-Kgp (Fig. 6). Además, la KAS2-LA1 quimera indujo solamente anticuerpos de antígeno específico débiles inmunorreactivos IgG2a, IgG2b e IgG3 (figura 6).

Ejemplo 9

Desarrollo de un modelo estructural Kgp e identificación de secuencias accesibles de superficie de sitio activo.

[0134] Nuestro trabajo ha demostrado que péptidos del sitio activo de proteínasa Kgp son altamente inmunogénicos e inducir altos niveles de protección contra pérdida de hueso inducida por *P. gingivalis*. En un intento de identificar adicionalmente de péptidos de sitio activo de proteínasa como candidatos a vacuna en un modelo de dominio catalítico de Kgp fue desarrollado usando la suite de programas Orchestrate dentro de Sybyl7.3 (Fig 7). El modelo se basa en PDB estructura 1 CRV de la proteasa RgpB de *P. gingivalis*, las proteínas tienen una identidad en pares 23,58% y la puntuación Z es 25,09 (un modelo de alta confianza). El servidor de la interacción de proteína Meta-PPIISP predice dos superficies de interacción proteína-proteína para Kgp: la superficie de unión del sustrato (como en RgpB), y una segunda superficie única de Kgp. Las principales diferencias entre los modelos RgpB y Kgp están en los bucles que enmarcan la segunda superficie de interacción y un hueco de 19 residuos (Val526 a Phe545) que no podía ser modelado en Kgp que cae dentro de la segunda superficie de interacción. La Figura 7 muestra el modelo Kgp con las cintas más gruesas mostrando secuencias accesibles de superficie alrededor del sitio activo de la proteínasa de Kgp, se encontraron que las secuencias accesibles por superficie eran Asp388-Gln394, Leu421-Ala423, Ala443-Glu447 con Ala451, Asn510-Trp513, y Ile570 -Gly577 con Tyr580. A partir del modelo (Fig 6), es evidente que, junto con KAS2 (A) otras tres secuencias KAS4 (Asp388-Val395) (B), KAS5 (Asn510-Asp516) (C) y KAS6 (Ile570- Tyr580) (D) son prominentes y de longitud suficiente para ser dianas de vacunas. Así, una proteína quimérica recombinante puede ser producida que tiene cada uno de estos péptidos en la secuencia y se unió al N-terminal de KLA1 para producir multiKAS-KLA1, que se puede utilizar para inducir una respuesta inmune y, por tanto, para proteger contra enfermedades o condiciones relacionadas con *P. gingivalis*.

Ejemplo 10

Proceso para el modelado de proteínasa Arg-X para identificar regiones inmunogénicas que flanquean el sitio catalítico.

[0135] La estructura tridimensional de proteínasa Arg-X se determinó de acuerdo con los métodos de Eichinger A, Beisel HG, Jacob U, Huber R, Medrano FJ, Banbula A, Potempa J, Travis J, Bode W. La estructura cristalina de gingipain R: una proteínasa de cisteína bacteriana Arg-específica con un pliegue similar a caspasa. EMBO J. 1999 Oct 15; 18 (20): 5453-62

Ejemplo 11

[0136] El siguiente es un ejemplo de una formulación de pasta de dientes que contiene anticuerpos.

Ingrediente	% en peso
Dihidrato de fosfato dicálcico	50,0
Glicerol	20,0
Carboximetilcelulosa sódica	1,0
Sulfato de laurilo sódico	1,5
Sarconisato de lauroilo sódico	0,5
Sabor	1,0
Sacarina sódica	0,1
Gluconato de clorhexidina	0,01
Dextranasa	0,01
Anticuerpos específicos que contienen suero de cabra	0,2
Agua	equilibrio

Ejemplo 12

[0137] El siguiente es un ejemplo de una formulación de pasta de dientes.

Ingrediente	% en peso
Dihidrato de fosfato dicálcico	50,0
Sorbitol	10,0
Glicerol	10,0
Carboximetilcelulosa sódica	1,0
Sulfato de laurilo sódico	1,5
Sarconisato de lauroilo sódico	0,5
Sabor	1,0
Sacarina sódica	0,1
Monofluorofosfato sódico	0,3
Gluconato de clorhexidina	0,01
Dextranasa	0,01
Anticuerpos específicos que contienen suero bovino	0,2
Agua	equilibrio

Ejemplo 13

[0138] El siguiente es un ejemplo de una formulación de pasta de dientes.

	Ingrediente	% en peso
5	Dihidrato de fosfato dicálcico	50,0
	Sorbitol	10,0
	Glicerol	10,0
10	Carboximetilcelulosa sódica	1,0
	Deitanolamida de lauroílo	1,0
	Monolaurato de sucrosa	2,0
	Sabor	1,0
15	Sacarina sódica	0,1
	Monofluorofosfato sódico	0,3
	Gluconato de clorhexidina	0,01
	Dextranasa	0,01
	Anticuerpos específicos que contienen leche bovina Ig	0,2
20	Agua	equilibrio

Ejemplo 14

[0139] El siguiente es un ejemplo de una formulación de pasta de dientes.

	Ingrediente	% en peso
25	Sorbitol	22,0
	Musco de Irlanda	1,0
	Hidróxido sódico (50%)	1,0
30	Gantrez	19,0
	Agua (desionizada)	2,69
	Monofluorofosfato sódico	0,76
	Sacarina sódica	0,3
35	Pirofosfato	2,0
	Alumina hidratada	48,0
	Aceite de sabor	0,95
	Anticuerpos monoclonales de ratón	0,3
	sulfato de laurilo sódico	2,00

Ejemplo 15

[0140] Lo siguiente es un ejemplo de una formulación de pasta de dientes líquida.

	Ingrediente	% en peso
45	Poliacrilato sódico	50,0
	Sorbitol	10,0
	Glicerol	20,0
50	Sabor	1,0
	Sacarina sódica	0,1
	Monofluorofosfato sódico	0,3
	Gluconato de clorhexidina	0,01
	Etanol	3,0
55	Anticuerpos específicos que contienen Ig equino	0,2
	Ácido linólico	0,05
	Agua	equilibrio

60

65

Ejemplo 16

5 [0141] Lo siguiente es un ejemplo de una formulación de enjuague bucal.

	Ingrediente	% en peso
	Etanol	20,0
	Sabor	1,0
10	Sacarina sódica	0,1
	Monofluorofosfato sódico	0,3
	Gluconato de clorhexidina	0,01
	Deitanolamida de lauroilo	0,3
15	Anticuerpos específicos que contienen Ig de conejo	0,2
	Agua	equilibrio

Ejemplo 17

20 [0142] Lo siguiente es un ejemplo de una formulación de enjuague bucal.

	Ingrediente	% en peso
	Gantrez S-97	2,5
25	Glicerina	10,0
	Aceite de sabor	0,4
	Monofluorofosfato sódico	0,05
	Gluconato de clorhexidina	0,01
	Deitanolamida de lauroilo	0,2
30	Anticuerpos monoclonales de ratón	0,3
	Agua	equilibrio

Ejemplo 18

35 [0143] Lo siguiente es un ejemplo de una formulación de pastilla.

	Ingrediente	% en peso
	Azucar	75-80
40	Jarabe de maíz	1-20
	Aceite de sabor	1-2
	NaF	0,01-0,05
	Anticuerpos monoclonales de ratón	0,3
45	Estearato Mg	1-5
	Agua	equilibrio

Ejemplo 19

[0144] Lo siguiente es un ejemplo de una formulación de crema de masaje gingival.

	Ingrediente	% en peso
50	Petrolato blanco	8,0
	Glicol de propileno	4,0
	Alcohol de estearilo	8,0
55	Glicol de polietileno 4000	25,0
	Glicol de polietileno 400	37,0
	Monoestearato de sucrosa	0,5
	Gluconato de clorhexidina	0,1
	Anticuerpos específicos de ratón	0,3
60	Agua	equilibrio

65

Ejemplo 20

5 **[0145]** Lo siguiente es un ejemplo de una formulación de goma de mascar.

	Ingrediente	% en peso
	Goma de base	30,0
	Carbonato de calcio	2,0
10	Sorbitol cristalino	53,0
	Glicerina	0,5
	Aceite de sabor	0,1
	Anticuerpos específicos de ratón	0,3
15	Agua	equilibrio

Ejemplo 21

20 **[0146]** Lo siguiente es un ejemplo de una formulación farmacéutica

	Ingrediente	% en peso
	Anticuerpos monoclonales específicos humanizados	10
25	Salina tamponada de fosfato estéril	90

Ejemplo 22

30 **[0147]** Lo siguiente es un ejemplo de una formulación de gel periodontal.

	Ingrediente	% en peso
	Pluronic F127	20,0
	Alcohol de estearilo	8,0
	Anticuerpos específicos	3,0
35	Dióxido de silicón coloidal (Aerosil 200)	1,0
	Gluconato de clorhexidina	0,1
	Agua	equilibrio

Referencias

40 **[0148]**

1. McKee, A. S., A. S. McDermid, A. Baskerville, A. B. Dowsett, D. C. Ellwood, and P. D. Marsh. 1986. Effect of hemin on the physiology and virulence of *Bacteroidesgingivales*W50. *Infect. Immun.* 52:349-355.
- 45 2. Slots, J. 1982. Importance of black-pigmented *Bacteroides* in human periodontal disease. Host parasite interactions in periodontal diseases. *American Society for Microbiology.*
- 50 3. O'Brien-Simpson, N. M., R. Pathirana, R. A. Paolini, Y.-Y. Chen, P. D. Veith, T. V., R. N. Pike, N. Alley, and E. C. Reynolds. 2005. An immune response directed to proteinase and adhesin functional epitopes protects against *Porphyromonas gingivalis*-induced bone loss. *Journal of Immunology* 175:3980-3989.
- 55 4. Baker, P. J., R. T. Evans, and D. C. Roopenian. 1994. Oral infection with *Porphyromonasgingivales*and induced alveolar bone loss in immunocompetent and severe combined immunodeficient mice. *Arch Oral Biol* 39:1035-1040.

LISTADO DE SECUENCIAS

[0149]

60 <110> Oral Health Australia Pty Ltd

<120> PREVENCIÓN, TRATAMIENTO Y DIAGNÓSTICO DE INFECCIÓN *P.GINGIVALES*

<130> 81595649TPG

65

<150> AU2008904476

<151> 2008-08-29
 <150> AU2008905483
 5
 <151> 2008-10-23
 <150> US61/151132
 10
 <151> 2009-02-09
 <150> AU2009903052
 15
 <151> 2009-06-30
 <160> 85
 <170> PatentIn versión 3.5
 20
 <210> 1
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Porphyromonas gingivales
 25
 <220>
 <221> MISC_CHARACTERISTICA
 <222> (6) .. (6)
 <223> X puede ser G o S
 30
 <220>
 <221> MISC_CHARACTERISTICA
 <222> (18) .. (18)
 <223> X pueden ser o bien S o A
 35
 <220>
 <221> MISC_CHARACTERISTICA
 <222> (23) .. (23)
 <223> x puede ser s o L
 40
 <220>
 <221> MISC_CHARACTERISTICA
 <222> (24) .. (24)
 <223> X puede ser L o V
 45
 <220>
 <221> MISC_CHARACTERISTICA
 <222> (26) .. (26)
 <223> X puede ser A o T
 50
 <220>
 <221> MISC_CHARACTERISTICA
 <222> (27) .. (27)
 <223> X puede ser T o S
 55
 <220>
 <221> MISC_CHARACTERISTICA
 <222> (29) .. (29)
 <223> X puede ser V o L
 60
 <220>
 <221> MISC_CHARACTERISTICA
 <222> (36) .. (36)
 <223> X puede ser D o N
 65

<400> 1

5

Leu Asn Thr Gly Val Xaa Phe Ala Asn Tyr Thr Ala His Gly Ser Glu
 1 5 10 15

10

Thr Xaa Trp Ala Asp Pro Xaa Xaa Thr Xaa Xaa Gln Xaa Lys Ala Leu
 20 25 30

Thr Asn Lys Xaa Lys
 35

15

<210>
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Porphyromonas gingivales

2

20

<220>
 <221> MISC_CHARACTERISTICA
 <222> (8) .. (8)
 <223> X puede ser V o A

25

<400> 2

30

Phe Asn Gly Gly Ile Ser Leu Xaa Asn Tyr Thr Gly His Gly Ser Glu
 1 5 10 15

Thr Ala Trp Gly Thr Ser His Phe Gly Thr Thr His Val Lys Gln Leu
 20 25 30

35

Thr Asn Ser Asn Gln
 35

40

<210> 3
 <211> 7
 <212> PRT
 <213>gingivales Porphyromonas

45

<400> 3

50

Val Ser Phe Ala Asn Tyr Thr
 1 5

55

<210> 4
 <211> 7
 <212> PRT
 <213>gingivalesPorphyromonas

<400> 4

60

Val Gly Phe Ala Asn Tyr Thr
 1 5

65

<210> 5
 <211> 8

<212> PRT
<213>gingivales Porphyromonas

5 <400> 5

Gly Val Ser Phe Ala Asn Tyr Thr
1 5

10 <210> 6
<211> 8
<212> PRT
<213> Porphyromonas *gingivales*

15 <400> 6

20 Gly Val Gly Phe Ala Asn Tyr Thr
1 5

25 <210> 7
<211> 8
<212> PRT
<213> Porphyromonas *gingivales*

<400> 7

30 Val Ser Phe Ala Asn Tyr Thr Ala
1 5

35 <210> 8
<211> 8
<212> PRT
<213> Porphyromonas *gingivales*

40 <400> 8

45 Val Gly Phe Ala Asn Tyr Thr Ala
1 5

50 <210> 9
<211> 6
<212> PRT
<213> Porphyromonas *gingivales*

<400> 9

55 Glu Thr Ala Trp Ala Asp
1 5

60 <210> 10
<211> 6
<212> PRT
<213> Porphyromonas *gingivalis*

65 <400> 10

5
Glu Thr Ser Trp Ala Asp
1 5

<210> 11
<211> 6
<212> PRT
10 <213> Porphyromonas *gingivalis*

<400> 11

15
Thr Ala Trp Ala Asp Pro
1 5

20 <210> 12
<211> 6
<212> PRT
<213> Porphyromonas *gingivalis*

25 <400> 12

30
Thr Ser Trp Ala Asp Pro
1 5

35 <210> 13
<211> 7
<212> PRT
<213> Porphyromonas *gingivalis*

<400> 13

40
Ser Glu Thr Ala Trp Ala Asp
1 5

45 <210> 14
<211> 7
<212> PRT
<213> Porphyromonas *gingivalis*

50 <400> 14

55
Ser Glu Thr Ser Trp Ala Asp
1 5

60 <210> 15
<211> 7
<212> PRT
<213> Porphyromonas *gingivalis*

<400> 15

65
Glu Thr Ala Trp Ala Asp Pro
1 5

5 <210> 16
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Porphyromonas gingivalis
 <400> 16
 10
 Glu Thr Ser Trp Ala Asp Pro
 1 5
 15
 <210> 17
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Porphyromonas gingivalis
 20
 <400> 17
 25
 Thr Ala Trp Ala Asp Pro Leu
 1 5
 30
 <210> 18
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Porphyromonas gingivalis
 35
 <400> 18
 40
 Thr Ser Trp Ala Asp Pro Leu
 1 5
 45
 <210> 19
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Porphyromonas gingivalis
 50
 <400> 19
 55
 Gly Ser Glu Thr Ala Trp Ala Asp
 1 5
 60
 <210> 20
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Porphyromonas gingivalis
 65
 <400> 20
 Gly Ser Glu Thr Ser Trp Ala Asp
 1 5

ES 2 633 738 T3

<210> 21
<211> 8
<212> PRT
<213> Porphyromonas gingivalis
5
<400> 21

10 Ser Glu Thr Ala Trp Ala Asp Pro
1 5

15 <210> 22
<211> 8
<212> PRT
<213> Porphyromonas gingivalis
20
<400> 22

25 Ser Glu Thr Ser Trp Ala Asp Pro
1 5

30 <210> 23
<211> 8
<212> PRT
<213> Porphyromonas gingivalis
35
<400> 23

40 Glu Thr Ala Trp Ala Asp Pro Leu
1 5

45 <210> 24
<211> 8
<212> PRT
<213> Porphyromonas gingivalis
50
<400> 24

55 Glu Thr Ser Trp Ala Asp Pro Leu
1 5

60 <210> 25
<211> 8
<212> PRT
<213> Porphyromonas gingivalis
65
<400> 25

70 Thr Ala Trp Ala Asp Pro Leu Leu
1 5

75 <210> 26
<211> 8

<212> PRT
 <213> Porphyromonas gingivales

 <400> 26
 5

 Thr Ser Trp Ala Asp Pro Leu Leu
 1 5

 10

 <210> 27
 <211> 23
 <212> PRT
 15 <213> Porphyromonas gingivales

 <220>
 <221> MISC_CHARACTERISTICA
 <222> (6) .. (6)
 20 <223> X puede ser G o S

 <220>
 <221> MISC_CHARACTERISTICA
 <222> (18) .. (18)
 25 <223> X puede ser S o A

 <220>
 <221> MISC_CHARACTERISTICA
 <222> (23) .. (23)
 30 <223> X puede ser S o L

 <400> 27

 35
 Leu Asn Thr Gly Val Xaa Phe Ala Asn Tyr Thr Ala His Gly Ser Glu
 1 5 10 15

 Thr xaa Trp Ala Asp Pro xaa
 20

 40

 <210> 28
 <211> 36
 45 <212> PRT
 <213> Porphyromonas gingivales

 <220>
 <221> MISC_CHARACTERISTICA
 <222> (5) .. (5)
 50 <223> X puede ser G o S

 <220>
 <221> MISC_CHARACTERISTICA
 <222> (17) .. (17)
 55 <223> X puede ser S o A

 <220>
 <221> MISC_CHARACTERISTICA
 <222> (22) .. (22)
 60 <223> X puede ser S o L

 <220>
 <221> MISC_CHARACTERISTICA
 <222> (23) .. (23)
 65 <223> X puede ser L o V

<220>
 <221> MISC_CHARACTERISTICA
 <222> (25) .. (25)
 5 <223> X puede ser A o T

<220>
 <221> MISC_CHARACTERISTICA
 <222> (26) .. (26)
 10 <223> X puede ser T o S

<220>
 <221> MISC_CHARACTERISTICA
 <222> (28) .. (28)
 15 <223> X puede ser V o L

<220>
 <221> MISC_CHARACTERISTICA
 <222> (35) .. (35)
 20 <223> X puede ser D o N

<400> 28

25 Asn Thr Gly Val Xaa Phe Ala Asn Tyr Thr Ala His Gly Ser Glu Thr
 1 5 10 15

 Xaa Trp Ala Asp Pro Xaa Xaa Thr Xaa Xaa Gln Xaa Lys Ala Leu Thr
 20 25 30

30 Asn Lys Xaa Lys
 35

<210> 29
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Porphyromonasgingivales

<220>
 <221> MISC_CHARACTERISTICA
 <222> (2) .. (2)
 40 <223> X puede ser G o S

<220>
 <221> MISC_CHARACTERISTICA
 <222> (14) .. (14)
 45 <223> X puede ser S o A

<220>
 <221> MISC_CHARACTERISTICA
 <222> (19) .. (19)
 50 <223> X puede ser S o L

<220>
 <221> MISC_CHARACTERISTICA
 <222> (20) .. (20)
 55 <223> X puede ser L o V

<400> 29

60 Val Xaa Phe Ala Asn Tyr Thr Ala His Gly Ser Glu Thr Xaa Trp Ala
 1 5 10 15

65 Asp Pro Xaa Xaa
 20

ES 2 633 738 T3

5 <210> 30
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Porphyromonas gingivales

<400> 30

10

Leu Asn Thr Gly Val Ser Phe Ala Asn Tyr Thr Ala His Gly Ser Glu
 1 5 10 15

15 Thr Ala Trp Ala Asp Pro
 20

20 <210> 31
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Porphyromonas gingivales

25 <220>
 <221> MISC_CHARACTERISTICA
 <222> (8) .. (8)
 <223> X puede ser V o A

<400> 31

30

Phe Asn Gly Gly Ile Ser Leu Xaa Asn Tyr Thr Gly His Gly Ser Glu
 1 5 10 15

35 Thr Ala Trp Gly Thr Ser His
 20

40 <210> 32
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> Porphyromonas gingivales

45 <220>
 <221> MISC_CHARACTERISTICA
 <222> (7) .. (7)
 <223> X puede ser V o A

<400> 32

50

Asn Gly Gly Ile Ser Leu Xaa Asn Tyr Thr Gly His Gly Ser Glu Thr
 1 5 10 15

55 Ala Trp Gly Thr Ser His Phe Gly Thr Thr His Val Lys Gln Leu Thr
 20 25 30

Asn Ser Asn Gln
 35

60

<210> 33
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Porphyromonas gingivales

65

<220>

ES 2 633 738 T3

<221> MISC_CHARACTERISTICA

<222> (4) .. (4)

<223> X puede ser V o A

5 <400> 33

10 Ile Ser Leu Xaa Asn Tyr Thr Gly His Gly Ser Glu Thr Ala Trp Gly
1 5 10 15
Thr Ser His Phe
20

15 <210> 34
<211> 21
<212> PRT
<213> Porphyromonasgingivales

20 <400> 34

25 Phe Asn Gly Gly Ile Ser Leu Ala Asn Tyr Thr Gly His Gly Ser Glu
1 5 10 15
Thr Ala Trp Gly Thr
20

30 <210> 35
<211> 362
<212> PRT
<213>gingivales Porphyromonas

35 <400> 35

40 Ala Asn Glu Ala Lys Val Val Leu Ala Ala Asp Asn Val Trp Gly Asp
1 5 10 15
Asn Thr Gly Tyr Gln Phe Leu Leu Asp Ala Asp His Asn Thr Phe Gly
20 25 30

45

50

55

60

65

ES 2 633 738 T3

5 Ser Val Ile Pro Ala Thr Gly Pro Leu Phe Thr Gly Thr Ala Ser Ser
35 40 45

10 Asn Leu Tyr Ser Ala Asn Phe Glu Tyr Leu Ile Pro Ala Asn Ala Asp
50 55 60

15 Pro Val Val Thr Thr Gln Asn Ile Ile Val Thr Gly Gln Gly Glu Val
65 70 75 80

20 Val Ile Pro Gly Gly Val Tyr Asp Tyr Cys Ile Thr Asn Pro Glu Pro
85 90 95

25 Ala Ser Gly Lys Met Trp Ile Ala Gly Asp Gly Gly Asn Gln Pro Ala
100 105 110

30 Arg Tyr Asp Asp Phe Thr Phe Glu Ala Gly Lys Lys Tyr Thr Phe Thr
115 120 125

35 Met Arg Arg Ala Gly Met Gly Asp Gly Thr Asp Met Glu Val Glu Asp
130 135 140

40 Asp Ser Pro Ala Ser Tyr Thr Tyr Thr Val Tyr Arg Asp Gly Thr Lys
145 150 155 160

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

50 Ala Gly Asn His Glu Tyr Cys Val Glu Val Lys Tyr Thr Ala Gly Val
180 185 190

55 Ser Pro Lys Val Cys Lys Asp Val Thr Val Glu Gly Ser Asn Glu Phe
195 200 205

60 Ala Pro Val Gln Asn Leu Thr Gly Ser Ser Val Gly Gln Lys Val Thr
210 215 220

65 Leu Lys Trp Asp Ala Pro Asn Gly Thr Pro Asn Pro Asn Pro
225 230 235 240

70 Asn Pro Asn Pro Gly Thr Thr Leu Ser Glu Ser Phe Glu Asn Gly Ile
245 250 255

75 Pro Ala Ser Trp Lys Thr Ile Asp Ala Asp Gly Asp Gly His Gly Trp
260 265 270

80 Lys Pro Gly Asn Ala Pro Gly Ile Ala Gly Tyr Asn Ser Asn Gly Cys
275 280 285

85 Val Tyr Ser Glu Ser Phe Gly Leu Gly Gly Ile Gly Val Leu Thr Pro
290 295 300

ES 2 633 738 T3

5 Asp Asn Tyr Leu Ile Thr Pro Ala Leu Asp Leu Pro Asn Gly Gly Lys
305 310 315 320

Leu Thr Phe Trp Val Cys Ala Gln Asp Ala Asn Tyr Ala Ser Glu His
325 330 335

10 Tyr Ala Val Tyr Ala Ser Ser Thr Gly Asn Asp Ala Ser Asn Phe Thr
340 345 350

15 Asn Ala Leu Leu Glu Glu Thr Ile Thr Ala
355 360

20 <210> 36
<211> 231
<212> PRT
<213>gingivales Porphyromonas

25 <400> 36

30

35

40

45

50

55

60

65

ES 2 633 738 T3

1 Phe Leu Leu Asp Ala Asp His Asn Thr Phe Gly Ser Val Ile Pro Ala
 5 Thr Gly Pro Leu Phe Thr Gly Thr Ala Ser Ser Asn Leu Tyr Ser Ala
 10 Asn Phe Glu Tyr Leu Ile Pro Ala Asn Ala Asp Pro Val Val Thr Thr
 15 Gln Asn Ile Ile Val Thr Gly Gln Gly Glu Val Val Ile Pro Gly Gly
 20 Val Tyr Asp Tyr Cys Ile Thr Asn Pro Glu Pro Ala Ser Gly Lys Met
 25 Trp Ile Ala Gly Asp Gly Gly Asn Gln Pro Ala Arg Tyr Asp Asp Phe
 30 Thr Phe Glu Ala Gly Lys Lys Tyr Thr Phe Thr Met Arg Arg Ala Gly
 35 Met Gly Asp Gly Thr Asp Met Glu Val Glu Asp Asp Ser Pro Ala Ser
 40 Tyr Thr Tyr Thr Val Tyr Arg Asp Gly Thr Lys Ile Lys Glu Gly Leu
 45 Thr Ala Thr Thr Phe Glu Glu Asp Gly Val Ala Ala Gly Asn His Glu
 50 Tyr Cys Val Glu Val Lys Tyr Thr Ala Gly Val Ser Pro Lys Val Cys
 55 Lys Asp Val Thr Val Glu Gly Ser Asn Glu Phe Ala Pro Val Gln Asn
 60 Leu Thr Gly Ser Ser Val Gly Gln Lys Val Thr Leu Lys Trp Asp Ala
 65 Pro Asn Gly Thr Pro Asn Pro Asn Pro Asn Pro Asn Pro Asn Pro Gly
 70 Thr Thr Leu Ser Glu Ser Phe
 75 180 185 190
 80 Thr Thr Leu Ser Glu Ser Phe
 85 225 230

<210> 37
 <211> 306
 <212> PRT
 <213>gingivales Porphyromonas

ES 2 633 738 T3

5

<400> 37

10

Trp Gly Asp Asn Thr Gly Tyr Gln Phe Leu Leu Asp Ala Asp His Asn
1 5 10 15

15

Thr Phe Gly Ser Val Ile Pro Ala Thr Gly Pro Leu Phe Thr Gly Thr
20 25 30

20

Ala Ser Ser Asn Leu Tyr Ser Ala Asn Phe Glu Tyr Leu Ile Pro Ala
35 40 45

25

Asn Ala Asp Pro Val Val Thr Thr Gln Asn Ile Ile Val Thr Gly Gln
50 55 60

30

Gly Glu Val Val Ile Pro Gly Gly Val Tyr Asp Tyr Cys Ile Thr Asn
65 70 75 80

35

Pro Glu Pro Ala Ser Gly Lys Met Trp Ile Ala Gly Asp Gly Gly Asn
85 90 95

40

Gln Pro Ala Arg Tyr Asp Asp Phe Thr Phe Glu Ala Gly Lys Lys Tyr
100 105 110

45

Thr Phe Thr Met Arg Arg Ala Gly Met Gly Asp Gly Thr Asp Met Glu
115 120 125

50

Val Glu Asp Asp Ser Pro Ala Ser Tyr Thr Tyr Thr Val Tyr Arg Asp
130 135 140

55

Gly Thr Lys Ile Lys Glu Gly Leu Thr Ala Thr Thr Phe Glu Glu Asp
145 150 155 160

60

Gly Val Ala Ala Gly Asn His Glu Tyr Cys Val Glu Val Lys Tyr Thr
165 170 175

65

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

ES 2 633 738 T3

5

Asn Glu Phe Ala Pro Val Gln Asn Leu Thr Gly Ser Ser Val Gly Gln
 195 200 205

10

Lys Val Thr Leu Lys Trp Asp Ala Pro Asn Gly Thr Pro Asn Pro Asn
 210 215 220

15

Pro Asn Pro Asn Pro Asn Pro Gly Thr Thr Leu Ser Glu Ser Phe Glu
 225 230 235 240

20

Asn Gly Ile Pro Ala Ser Trp Lys Thr Ile Asp Ala Asp Gly Asp Gly
 245 250 255

25

His Gly Trp Lys Pro Gly Asn Ala Pro Gly Ile Ala Gly Tyr Asn Ser
 260 265 270

30

Asn Gly Cys Val Tyr Ser Glu Ser Phe Gly Leu Gly Gly Ile Gly Val
 275 280 285

Leu Thr Pro Asp Asn Tyr Leu Ile Thr Pro Ala Leu Asp Leu Pro Asn
 290 295 300

Gly Gly
 305

35

<210> 38
 <211> 362
 <212> PRT
 <213>gingivales Porphyromonas

40

<400> 38

45

Ser Gly Gln Ala Glu Ile Val Leu Glu Ala His Asp Val Trp Asn Asp
 1 5 10 15

Gly Ser Gly Tyr Gln Ile Leu Leu Asp Ala Asp His Asp Gln Tyr Gly
 20 25 30

50

Gln Val Ile Pro Ser Asp Thr His Thr Leu Trp Pro Asn Cys Ser Val
 35 40 45

55

Pro Ala Asn Leu Phe Ala Pro Phe Glu Tyr Thr Val Pro Glu Asn Ala
 50 55 60

Asp Pro Ser Cys Ser Pro Thr Asn Met Ile Met Asp Gly Thr Ala Ser
 65 70 75 80

60

Val Asn Ile Pro Ala Gly Thr Tyr Asp Phe Ala Ile Ala Ala Pro Gln
 85 90 95

65

Ala Asn Ala Lys Ile Trp Ile Ala Gly Gln Gly Pro Thr Lys Glu Asp
 100 105 110

ES 2 633 738 T3

5 Asp Tyr Val Phe Glu Ala Gly Lys Lys Tyr His Phe Leu Met Lys Lys
115 120 125

10 Met Gly Ser Gly Asp Gly Thr Glu Leu Thr Ile Ser Glu Gly Gly Gly
130 135 140

15 Ser Asp Tyr Thr Tyr Thr Val Tyr Arg Asp Gly Thr Lys Ile Lys Glu
145 150 155 160

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

25 His Glu Tyr Cys Val Glu Val Lys Tyr Thr Ala Gly Val Ser Pro Lys
180 185 190

30 Val Cys Lys Asp Val Thr Val Glu Gly Ser Asn Glu Phe Ala Pro Val
195 200 205

35 Gln Asn Leu Thr Gly Ser Ala Val Gly Gln Lys Val Thr Leu Lys Trp
210 215 220

40 Asp Ala Pro Asn Gly Thr Pro Asn Pro Asn Pro Asn Pro Asn Pro Asn
225 230 235 240

45 Pro Asn Pro Gly Thr Thr Thr Leu Ser Glu Ser Phe Glu Asn Gly Ile
245 250 255

50 Pro Ala Ser Trp Lys Thr Ile Asp Ala Asp Gly Asp Gly His Gly Trp
260 265 270

55 Lys Pro Gly Asn Ala Pro Gly Ile Ala Gly Tyr Asn Ser Asn Gly Cys
275 280 285

60 Val Tyr Ser Glu Ser Phe Gly Leu Gly Gly Ile Gly Val Leu Thr Pro
290 295 300

65 Asp Asn Tyr Leu Ile Thr Pro Ala Leu Asp Leu Pro Asn Gly Gly Lys
305 310 315 320

70 Leu Thr Phe Trp Val Cys Ala Gln Asp Ala Asn Tyr Ala Ser Glu His
325 330 335

75 Tyr Ala Val Tyr Ala Ser Ser Thr Gly Asn Asp Ala Ser Asn Phe Thr
340 345 350

80 Asn Ala Leu Leu Glu Glu Thr Ile Thr Ala
355 360

ES 2 633 738 T3

<210> 39
 <211> 141
 <212> PRT
 <213> Porphyromonas gingivalis
 <400> 39

5

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

35

<210> 40
 <211> 119
 <212> PRT
 <213>gingivales Porphyromonas
 <400> 40

40

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

65

ES 2 633 738 T3

85

90

95

Ile Ser Lys Thr Gly Thr Asn Ala Gly Asp Phe Thr Val Val Phe Glu
 100 105 110

5

Glu Thr Pro Asn Gly Ile Asn
 115

10

<210> 41
 <211> 133
 <212> PRT
 <213>gingivales Porphyromonas

15

<400> 41

20

Pro Gln Ser Val Trp Ile Glu Arg Thr Val Asp Leu Pro Ala Gly Thr
 1 5 10 15

25

Lys Tyr Val Ala Phe Arg His Tyr Asn Cys Ser Asp Leu Asn Tyr Ile
 20 25 30

30

Leu Leu Asp Asp Ile Gln Phe Thr Met Gly Gly Ser Pro Thr Pro Thr
 35 40 45

35

Asp Tyr Thr Tyr Thr Val Tyr Arg Asp Gly Thr Lys Ile Lys Glu Gly
 50 55 60

40

Leu Thr Glu Thr Thr Phe Glu Glu Asp Gly Val Ala Thr Gly Asn His
 65 70 75 80

Glu Tyr Cys Val Glu Val Lys Tyr Thr Ala Gly Val Ser Pro Lys Lys
 85 90 95

Cys Val Asn Val Thr Val Asn Ser Thr Gln Phe Asn Pro Val Gln Asn
 100 105 110

Leu Thr Ala Glu Gln Ala Pro Asn Ser Met Asp Ala Ile Leu Lys Trp
 115 120 125

Asn Ala Pro Ala Ser
 130

45

<210> 42
 <211> 120
 <212> PRT
 <213>gingivales Porphyromonas

50

<400> 42

ES 2 633 738 T3

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

5
10
15
20

<210> 43
 <211> 185
 <212> PRT
 <213>gingivales Porphyromonas
 <400> 43

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

30
35
40
45
50
55
60

ES 2 633 738 T3

<210> 44
 <211> 119
 <212> PRT
 <213>gingivales Porphyromonas

5

<400> 44

10

Ala Asp Phe Thr Glu Thr Phe Glu Ser Ser Thr His Gly Glu Ala Pro
 1 5 10 15

15

Ala Glu Trp Thr Thr Ile Asp Ala Asp Gly Asp Gly Gln Gly Trp Leu
 20 25 30

20

Cys Leu Ser Ser Gly Gln Leu Asp Trp Leu Thr Ala His Gly Gly Thr
 35 40 45

25

Asn Val Val Ser Ser Phe Ser Trp Asn Gly Met Ala Leu Asn Pro Asp
 50 55 60

30

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

35

Tyr Tyr Ala Val Asn Asp Gly Phe Pro Gly Asp His Tyr Ala Val Met
 85 90 95

Ile Ser Lys Thr Gly Thr Asn Ala Gly Asp Phe Thr Val Val Phe Glu
 100 105 110

Glu Thr Pro Asn Gly Ile Asn
 115

40

<210> 45
 <211> 131
 <212> PRT
 <213>gingivales Porphyromonas

45

<400> 45

Pro Gln Ser Val Trp Ile Glu Arg Thr Val Asp Leu Pro Ala Gly Thr
 1 5 10 15

50

Lys Tyr Val Ala Phe Arg His Tyr Asn Cys Ser Asp Leu Asn Tyr Ile
 20 25 30

55

Leu Leu Asp Asp Ile Gln Phe Thr Met Gly Gly Ser Pro Thr Pro Thr
 35 40 45

60

ES 2 633 738 T3

5 Asp Tyr Thr Tyr Thr Val Tyr Arg Asp Gly Thr Lys Ile Lys Glu Gly
50 55 60

10 Leu Thr Glu Thr Thr Phe Glu Glu Asp Gly Val Ala Thr Gly Asn His
65 70 75 80

15 Glu Tyr Cys Val Glu Val Lys Tyr Thr Ala Gly Val Ser Pro Lys Lys
85 90 95

20 Cys Val Asn Val Thr Val Asn Ser Thr Gln Phe Asn Pro Val Lys Asn
100 105 110

25 Leu Lys Ala Gln Pro Asp Gly Gly Asp Val Val Leu Lys Trp Glu Ala
115 120 125

30 Pro Ser Ala
130

<210> 46
<211> 275
<212> PRT
<213>gingivales Porphyromonas

35 Ala Asn Glu Ala Lys Val Val Leu Ala Ala Asp Asn Val Trp Gly Asp
1 5 10 15

40 Asn Thr Gly Tyr Gln Phe Leu Leu Asp Ala Asp His Asn Thr Phe Gly
20 25 30

45 Ser Val Ile Pro Ala Thr Gly Pro Leu Phe Thr Gly Thr Ala Ser Ser
35 40 45

50 Asp Leu Tyr Ser Ala Asn Phe Glu Ser Leu Ile Pro Ala Asn Ala Asp
50 55 60

55 Pro Val Val Thr Thr Gln Asn Ile Ile Val Thr Gly Gln Gly Glu Val
65 70 75 80

60 Val Ile Pro Gly Gly Val Tyr Asp Tyr Cys Ile Thr Asn Pro Glu Pro
85 90 95

65 Ala Ser Gly Lys Met Trp Ile Ala Gly Asp Gly Gly Asn Gln Pro Ala
100 105 110

70 Arg Tyr Asp Asp Phe Thr Phe Glu Ala Gly Lys Lys Tyr Thr Phe Thr
115 120 125

75 Met Arg Arg Ala Gly Met Gly Asp Gly Thr Asp Met Glu Val Glu Asp
130 135 140

ES 2 633 738 T3

Asp Ser Pro Ala Ser Tyr Thr Tyr Thr Val Tyr Arg Asp Gly Thr Lys
 145 150 155 160
 5 Ile Lys Glu Gly Leu Thr Glu Thr Thr Tyr Arg Asp Ala Gly Met Ser
 165 170 175
 10 Ala Gln Ser His Glu Tyr Cys Val Glu Val Lys Tyr Thr Ala Gly Val
 180 185 190
 Ser Pro Lys Val Cys Val Asp Tyr Ile Pro Asp Gly Val Ala Asp Val
 195 200 205
 15 Thr Ala Gln Lys Pro Tyr Thr Leu Thr Val Val Gly Lys Thr Ile Thr
 210 215 220
 Val Thr Cys Gln Gly Glu Ala Met Ile Tyr Asp Met Asn Gly Arg Arg
 225 230 235 240
 20 Leu Ala Ala Gly Arg Asn Thr Val Val Tyr Thr Ala Gln Gly Gly Tyr
 245 250 255
 25 Tyr Ala Val Met Val Val Val Asp Gly Lys Ser Tyr Val Glu Lys Leu
 260 265 270
 30 Ala Ile Lys
 275

<210> 47
 <211> 49
 <212> ADN
 35 <213> Porphyromonas gingivalis

<400> 47
 gaccatggct catcaccatc accatcaciaa taccggagtc agctttgca 49
 40

<210> 48
 <211> 36
 <212> ADN
 45 <213> Porphyromonas gingivalis

<400> 48
 gactcgagtt gctttc attgtcctt attagtgagt 36
 50

<210> 49
 <211> 31
 <212> ADN
 55 <213> Porphyromonas gingivalis

<400> 49
 gaccatggct tggggagaca atacgggta c 31
 60

<210> 50
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Porphyromonas gingivalis
 65

<400> 50

ES 2 633 738 T3

gactcgagac ctccgtagg caaatcc 27

5 <210> 51
 <211> 41
 <212> ADN
 <213> Porphyromonas gingivalis

10 <400> 51
 ccgtattgtc tccccattg tcctattag tgagtgttt c 41

15 <210> 52
 <211> 37
 <212> ADN
 <213> Porphyromonas gingivalis

20 <400> 52
 cactaataag gacaaatggg gagacaatac gggttac 37

25 <210> 53
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Porphyromonas gingivalis

30 <400> 53
 catggatctg agaccgcatg ggctgatcca ctttcttgt tggatgccga t 51

35 <210> 54
 <211> 62
 <212> ADN
 <213> Porphyromonas gingivalis

40 <400> 54
 ccatggcttt gaataccgga gtcagctttg caaactatac agcgcgatgga tctgagaccg 60
 ca 62

45 <210> 55
 <211> 25
 <212> ADN
 <213> Porphyromonas gingivalis

50 <400> 55
 gattcgaaa gtgtt ctcgaggaat 25

55 <210> 56
 <211> 53
 <212> ADN
 <213> Porphyromonas gingivalis

60 <400> 56
 ccatggctga ttatagctgg aattcccagg tagtcagctt tgcaaactat aca 53

65 <210> 57
 <211> 52
 <212> DNA
 <213> Porphyromonas gingivalis

ES 2 633 738 T3

<400> 57
ctttgcaaac tatacagcgc atggatctga gaccgcatgg gctgatccac tt 52

5 <210> 58
<211> 52
<212> ADN
<213> Porphyromonas gingivalis

10 <400> 58
atgggctgat ccacttctga attcttattg gggcgagatc ggcaatatta cc 52

15 <210> 59
<211> 52
<212> ADN
<213> Porphyromonas gingivalis

20 <400> 59
gatcggcaat attaccata ttggtgctca ttacgcttgg ggagacaata cg 52

25 <210> 60
<211> 52
<212> ADN
<213> Porphyromonas gingivalis

30 <400> 60
ctcgagacct ccgtaggca aatccaatgc cgggttatc agatagtgt ca 52

35 <210> 61
<211> 1706
<212> PRT
<213>gingivalesPorphyromonas

<400> 61

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

45 Leu Gly Gly Met Ala Phe Ala Gln Gln Thr Glu Leu Gly Arg Asn Pro
20 25 30

50 Asn Val Arg Leu Leu Glu Ser Thr Gln Gln Ser Val Thr Lys Val Gln
35 40 45

55 Phe Arg Met Asp Asn Leu Lys Phe Thr Glu Val Gln Thr Pro Lys Gly
50 55 60

60 Ile Gly Gln Val Pro Thr Tyr Thr Glu Gly Val Asn Leu Ser Glu Lys
65 70 75 80

65 Gly Met Pro Thr Leu Pro Ile Leu Ser Arg Ser Leu Ala Val Ser Asp
85 90 95

Thr Arg Glu Met Lys Val Glu Val Val Ser Ser Lys Phe Ile Glu Lys
100 105 110

70 Lys Asn Val Leu Ile Ala Pro Ser Lys Gly Met Ile Met Arg Asn Glu
115 120 125

ES 2 633 738 T3

5 Asp Pro Lys Lys Ile Pro Tyr Val Tyr Gly Lys Thr Tyr Ser Gln Asn
130 135 140

10 Lys Phe Phe Pro Gly Glu Ile Ala Thr Leu Asp Asp Pro Phe Ile Leu
145 150 155 160

15 Arg Asp Val Arg Gly Gln Val Val Asn Phe Ala Pro Leu Gln Tyr Asn
165 170 175

20 Pro Val Thr Lys Thr Leu Arg Ile Tyr Thr Glu Ile Thr Val Ala Val
180 185 190

25 Ser Glu Thr Ser Glu Gln Gly Lys Asn Ile Leu Asn Lys Lys Gly Thr
195 200 205

30 Phe Ala Gly Phe Glu Asp Thr Tyr Lys Arg Met Phe Met Asn Tyr Glu
210 215 220

35 Pro Gly Arg Tyr Thr Pro Val Glu Glu Lys Gln Asn Gly Arg Met Ile
225 230 235 240

40 Val Ile Val Ala Lys Lys Tyr Glu Gly Asp Ile Lys Asp Phe Val Asp
245 250 255

45 Trp Lys Asn Gln Arg Gly Leu Arg Thr Glu Val Lys Val Ala Glu Asp
260 265 270

50 Ile Ala Ser Pro Val Thr Ala Asn Ala Ile Gln Gln Phe Val Lys Gln
275 280 285

55 Glu Tyr Glu Lys Glu Gly Asn Asp Leu Thr Tyr Val Leu Leu Ile Gly
290 300

60 Asp His Lys Asp Ile Pro Ala Lys Ile Thr Pro Gly Ile Lys Ser Asp
305 310 315 320

65 Gln Val Tyr Gly Gln Ile Val Gly Asn Asp His Tyr Asn Glu Val Phe
325 330 335

70 Ile Gly Arg Phe Ser Cys Glu Ser Lys Glu Asp Leu Lys Thr Gln Ile
340 345 350

75 Asp Arg Thr Ile His Tyr Glu Arg Asn Ile Thr Thr Glu Asp Lys Trp
355 360 365

80 Leu Gly Gln Ala Leu Cys Ile Ala Ser Ala Glu Gly Gly Pro Ser Ala
370 375 380

85 Asp Asn Gly Glu Ser Asp Ile Gln His Glu Asn Val Ile Ala Asn Leu
385 390 395 400

ES 2 633 738 T3

5 Leu Thr Gln Tyr Gly Tyr Thr Lys Ile Ile Lys Cys Tyr Asp Pro Gly
 405 410 415
 Val Thr Pro Lys Asn Ile Ile Asp Ala Phe Asn Gly Gly Ile Ser Leu
 420 425 430
 10 Ala Asn Tyr Thr Gly His Gly Ser Glu Thr Ala Trp Gly Thr Ser His
 435 440 445
 15 Phe Gly Thr Thr His Val Lys Gln Leu Thr Asn Ser Asn Gln Leu Pro
 450 460
 Phe Ile Phe Asp Val Ala Cys Val Asn Gly Asp Phe Leu Phe Ser Met
 465 470 475 480
 20 Pro Cys Phe Ala Glu Ala Leu Met Arg Ala Gln Lys Asp Gly Lys Pro
 485 490 495
 25 Thr Gly Thr Val Ala Ile Ile Ala Ser Thr Ile Asn Gln Ser Trp Ala
 500 505 510
 30 Ser Pro Met Arg Gly Gln Asp Glu Met Asn Glu Ile Leu Cys Glu Lys
 515 520 525
 35 His Pro Asn Asn Ile Lys Arg Thr Phe Gly Gly Val Thr Met Asn Gly
 530 535 540
 40 Met Phe Ala Met Val Glu Lys Tyr Lys Lys Asp Gly Glu Lys Met Leu
 545 550 555 560
 Asp Thr Trp Thr Val Phe Gly Asp Pro Ser Leu Leu Val Arg Thr Leu
 565 570 575
 45 Val Pro Thr Lys Met Gln Val Thr Ala Pro Ala Gln Ile Asn Leu Thr
 580 585 590
 Asp Ala Ser Val Asn Val Ser Cys Asp Tyr Asn Gly Ala Ile Ala Thr
 595 600 605
 50 Ile Ser Ala Asn Gly Lys Met Phe Gly Ser Ala Val Val Glu Asn Gly
 610 615 620
 55 Thr Ala Thr Ile Asn Leu Thr Gly Leu Thr Asn Glu Ser Thr Leu Thr
 625 630 635 640
 60 Leu Thr Val Val Gly Tyr Asn Lys Glu Thr Val Ile Lys Thr Ile Asn
 645 650 655
 Thr Asn Gly Glu Pro Asn Pro Tyr Gln Pro Val Ser Asn Leu Thr Ala
 660 665 670

65

ES 2 633 738 T3

5 Thr Thr Gln Gly Gln Lys Val Thr Leu Lys Trp Asp Ala Pro Ser Thr
675 680 685

10 Lys Thr Asn Ala Thr Thr Asn Thr Ala Arg Ser Val Asp Gly Ile Arg
690 695 700

15 Glu Leu Val Leu Leu Ser Val Ser Asp Ala Pro Glu Leu Leu Arg Ser
705 710 715 720

20 Gly Gln Ala Glu Ile Val Leu Glu Ala His Asp Val Trp Asn Asp Gly
725 730 735

25 Ser Gly Tyr Gln Ile Leu Leu Asp Ala Asp His Asp Gln Tyr Gly Gln
740 745 750

30 Val Ile Pro Ser Asp Thr His Thr Leu Trp Pro Asn Cys Ser Val Pro
755 760 765

35 Ala Asn Leu Phe Ala Pro Phe Glu Tyr Thr Val Pro Glu Asn Ala Asp
770 775 780

40 Pro Ser Cys Ser Pro Thr Asn Met Ile Met Asp Gly Thr Ala Ser Val
785 790 795 800

45 Asn Ile Pro Ala Gly Thr Tyr Asp Phe Ala Ile Ala Ala Pro Gln Ala
805 810 815

50 Asn Ala Lys Ile Trp Ile Ala Gly Gln Gly Pro Thr Lys Glu Asp Asp
820 825 830

55 Tyr Val Phe Glu Ala Gly Lys Lys Tyr His Phe Leu Met Lys Lys Met
835 840 845

60 Gly Ser Gly Asp Gly Thr Glu Leu Thr Ile Ser Glu Gly Gly Gly Ser
850 855 860

65 Asp Tyr Thr Tyr Thr Val Tyr Arg Asp Gly Thr Lys Ile Lys Glu Gly
865 870 875 880

70 Leu Thr Ala Thr Thr Phe Glu Glu Asp Gly Val Ala Thr Gly Asn His
885 890 895

75 Glu Tyr Cys Val Glu Val Lys Tyr Thr Ala Gly Val Ser Pro Lys Val
900 905 910 915

80 Cys Lys Asp Val Thr Val Glu Gly Ser Asn Glu Phe Ala Pro Val Gln
915 920 925

85 Asn Leu Thr Gly Ser Ala Val Gly Gln Lys Val Thr Leu Lys Trp Asp
930 935 940

ES 2 633 738 T3

5 Ala Pro Asn Gly Thr Pro Asn Pro Asn Pro Asn Pro Asn Pro Asn Pro
945 950 955 960

Asn Pro Gly Thr Thr Thr Leu Ser Glu Ser Phe Glu Asn Gly Ile Pro
965 970 975

10 Ala Ser Trp Lys Thr Ile Asp Ala Asp Gly Asp Gly His Gly Trp Lys
980 985 990

15 Pro Gly Asn Ala Pro Gly Ile Ala Gly Tyr Asn Ser Asn Gly Cys Val
995 1000 1005

20 Tyr Ser Glu Ser Phe Gly Leu Gly Gly Ile Gly Val Leu Thr Pro
1010 1015 1020

Asp Asn Tyr Leu Ile Thr Pro Ala Leu Asp Leu Pro Asn Gly Gly
1025 1030 1035

25 Lys Leu Thr Phe Trp Val Cys Ala Gln Asp Ala Asn Tyr Ala Ser
1040 1045 1050

30 Glu His Tyr Ala Val Tyr Ala Ser Ser Thr Gly Asn Asp Ala Ser
1055 1060 1065

Asn Phe Thr Asn Ala Leu Leu Glu Glu Thr Ile Thr Ala Lys Gly
1070 1075 1080

35 Val Arg Ser Pro Glu Ala Met Arg Gly Arg Ile Gln Gly Thr Trp
1085 1090 1095

40 Arg Gln Lys Thr Val Asp Leu Pro Ala Gly Thr Lys Tyr Val Ala
1100 1105 1110

45 Phe Arg His Phe Gln Ser Thr Asp Met Phe Tyr Ile Asp Leu Asp
1115 1120 1125

Glu Val Glu Ile Lys Ala Asn Gly Lys Arg Ala Asp Phe Thr Glu
1130 1135 1140

50 Thr Phe Glu Ser Ser Thr His Gly Glu Ala Pro Ala Glu Trp Thr
1145 1150 1155

55 Thr Ile Asp Ala Asp Gly Asp Gly Gln Gly Trp Leu Cys Leu Ser
1160 1165 1170

Ser Gly Gln Leu Asp Trp Leu Thr Ala His Gly Gly Thr Asn Val
1175 1180 1185

60 Val Ser Ser Phe Ser Trp Asn Gly Met Ala Leu Asn Pro Asp Asn
1190 1195 1200

65

5 Tyr Leu Ile Ser Lys Asp Val Thr Gly Ala Thr Lys Val Lys Tyr
1205 1210 1215

10 Tyr Tyr Ala Val Asn Asp Gly Phe Pro Gly Asp His Tyr Ala Val
1220 1225 1230

15 Met Ile Ser Lys Thr Gly Thr Asn Ala Gly Asp Phe Thr Val Val
1235 1240 1245

20 Phe Glu Glu Thr Pro Asn Gly Ile Asn Lys Gly Gly Ala Arg Phe
1250 1255 1260

25 Gly Leu Ser Thr Glu Ala Asp Gly Ala Lys Pro Gln Ser Val Trp
1265 1270 1275

30 Ile Glu Arg Thr Val Asp Leu Pro Ala Gly Thr Lys Tyr Val Ala
1280 1285 1290

35 Phe Arg His Tyr Asn Cys Ser Asp Leu Asn Tyr Ile Leu Leu Asp
1295 1300 1305

40 Asp Ile Gln Phe Thr Met Gly Gly Ser Pro Thr Pro Thr Asp Tyr
1310 1315 1320

45 Thr Tyr Thr Val Tyr Arg Asp Gly Thr Lys Ile Lys Glu Gly Leu
1325 1330 1335

50 Thr Glu Thr Thr Phe Glu Glu Asp Gly Val Ala Thr Gly Asn His
1340 1345 1350

55 Glu Tyr Cys Val Glu Val Lys Tyr Thr Ala Gly Val Ser Pro Lys
1355 1360 1365

60 Lys Cys Val Asn Val Thr Val Asn Ser Thr Gln Phe Asn Pro Val
1370 1375 1380

65 Lys Asn Leu Lys Ala Gln Pro Asp Gly Gly Asp Val Val Leu Lys
1385 1390 1395

70 Trp Glu Ala Pro Ser Ala Lys Lys Thr Glu Gly Ser Arg Glu Val
1400 1405 1410

75 Lys Arg Ile Gly Asp Gly Leu Phe Val Thr Ile Glu Pro Ala Asn
1415 1420 1425

80 Asp Val Arg Ala Asn Glu Ala Lys Val Val Leu Ala Ala Asp Asn
1430 1435 1440

85 Val Trp Gly Asp Asn Thr Gly Tyr Gln Phe Leu Leu Asp Ala Asp
1445 1450 1455

ES 2 633 738 T3

5 His Asn Thr Phe Gly Ser Val Ile Pro Ala Thr Gly Pro Leu Phe
1460 1465 1470

10 Thr Gly Thr Ala Ser Ser Asp Leu Tyr Ser Ala Asn Phe Glu Ser
1475 1480 1485

15 Leu Ile Pro Ala Asn Ala Asp Pro Val Val Thr Thr Gln Asn Ile
1490 1495 1500

20 Ile Val Thr Gly Gln Gly Glu Val Val Ile Pro Gly Gly Val Tyr
1505 1510 1515

25 Asp Tyr Cys Ile Thr Asn Pro Glu Pro Ala Ser Gly Lys Met Trp
1520 1525 1530

30 Ile Ala Gly Asp Gly Gly Asn Gln Pro Ala Arg Tyr Asp Asp Phe
1535 1540 1545

35 Thr Phe Glu Ala Gly Lys Lys Tyr Thr Phe Thr Met Arg Arg Ala
1550 1555 1560

40 Gly Met Gly Asp Gly Thr Asp Met Glu Val Glu Asp Asp Ser Pro
1565 1570 1575

45 Ala Ser Tyr Thr Tyr Thr Val Tyr Arg Asp Gly Thr Lys Ile Lys
1580 1585 1590

50 Glu Gly Leu Thr Glu Thr Thr Tyr Arg Asp Ala Gly Met Ser Ala
1595 1600 1605

55 Gln Ser His Glu Tyr Cys Val Glu Val Lys Tyr Thr Ala Gly Val
1610 1615 1620

60 Ser Pro Lys Val Cys Val Asp Tyr Ile Pro Asp Gly Val Ala Asp
1625 1630 1635

65 Val Thr Ala Gln Lys Pro Tyr Thr Leu Thr Val Val Gly Lys Thr
1640 1645 1650

Ile Thr Val Thr Cys Gln Gly Glu Ala Met Ile Tyr Asp Met Asn
1655 1660 1665

Gly Arg Arg Leu Ala Ala Gly Arg Asn Thr Val Val Tyr Thr Ala
1670 1675 1680

60 Gln Gly Gly Tyr Tyr Ala Val Met Val Val Val Asp Gly Lys Ser
1685 1690 1695

Tyr Val Glu Lys Leu Ala Ile Lys
1700 1705

ES 2 633 738 T3

<210> 62
 <211> 1732
 <212> PRT
 <213> Porphyromonas gingivalis

5

<400> 62

10

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

15

Leu Tyr Ala Gln Ser Ala Lys Ile Lys Leu Asp Ala Pro Thr Thr Arg
 20 25 30

20

Thr Thr Cys Thr Asn Asn Ser Phe Lys Gln Phe Asp Ala Ser Phe Ser
 35 40 45

25

Phe Asn Glu Val Glu Leu Thr Lys Val Glu Thr Lys Gly Gly Thr Phe
 50 55 60

30

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

35

Pro Glu Val Pro Ala Val Arg Lys Leu Ile Ala Val Pro Val Gly Ala
 85 90 95

40

Thr Pro Val Val Arg Val Lys Ser Phe Thr Glu Gln Val Tyr Ser Leu
 100 105 110

45

Asn Gln Tyr Gly Ser Glu Lys Leu Met Pro His Gln Pro Ser Met Ser
 115 120 125

50

Lys Ser Asp Asp Pro Glu Lys Val Pro Phe Val Tyr Asn Ala Ala Ala
 130 135 140

55

Tyr Ala Arg Lys Gly Phe Val Gly Gln Glu Leu Thr Gln Val Glu Met
 145 150 155 160

60

Leu Gly Thr Met Arg Gly Val Arg Ile Ala Ala Leu Thr Ile Asn Pro
 165 170 175

65

Val Gln Tyr Asp Val Val Ala Asn Gln Leu Lys Val Arg Asn Asn Ile
 180 185 190

Glu Ile Glu Val Ser Phe Gln Gly Ala Asp Glu Val Ala Thr Gln Arg
 195 200 205

Leu Tyr Asp Ala Ser Phe Ser Pro Tyr Phe Glu Thr Ala Tyr Lys Gln
 210 215 220

Leu Phe Asn Arg Asp Val Tyr Thr Asp His Gly Asp Leu Tyr Asn Thr
 225 230 235 240

Pro Val Arg Met Leu Val Val Ala Gly Ala Lys Phe Lys Glu Ala Leu

ES 2 633 738 T3

				245						250					255	
5	Lys	Pro	Trp	Leu 260	Thr	Trp	Lys	Ala	Gln 265	Lys	Gly	Phe	Tyr	Leu 270	Asp	Val
	His	Tyr	Thr 275	Asp	Glu	Ala	Glu	Val 280	Gly	Thr	Thr	Asn	Ala 285	Ser	Ile	Lys
10	Ala	Phe 290	Ile	His	Lys	Lys	Tyr 295	Asn	Asp	Gly	Leu	Ala 300	Ala	Ser	Ala	Ala
15	Pro 305	Val	Phe	Leu	Ala	Leu 310	Val	Gly	Asp	Thr	Asp 315	Val	Ile	Ser	Gly	Glu 320
20	Lys	Gly	Lys	Lys	Thr 325	Lys	Lys	Val	Thr	Asp 330	Leu	Tyr	Tyr	Ser	Ala 335	Val
	Asp	Gly	Asp	Tyr 340	Phe	Pro	Glu	Met	Tyr 345	Thr	Phe	Arg	Met	Ser 350	Ala	Ser
25	Ser	Pro	Glu 355	Glu	Leu	Thr	Asn	Ile 360	Ile	Asp	Lys	Val	Leu 365	Met	Tyr	Glu
30	Lys	Ala 370	Thr	Met	Pro	Asp	Lys 375	Ser	Tyr	Leu	Glu	Lys 380	Val	Leu	Leu	Ile
35	Ala 385	Gly	Ala	Asp	Tyr	Ser 390	Trp	Asn	Ser	Gln	Val 395	Gly	Gln	Pro	Thr	Ile 400
40	Lys	Tyr	Gly	Met	Gln 405	Tyr	Tyr	Tyr	Asn	Gln 410	Glu	His	Gly	Tyr	Thr 415	Asp
	Val	Tyr	Asn	Tyr 420	Leu	Lys	Ala	Pro	Tyr 425	Thr	Gly	Cys	Tyr	Ser 430	His	Leu
45	Asn	Thr	Gly 435	Val	Ser	Phe	Ala	Asn 440	Tyr	Thr	Ala	His	Gly 445	Ser	Glu	Thr
50	Ala	Trp 450	Ala	Asp	Pro	Leu	Leu 455	Thr	Thr	Ser	Gln	Leu 460	Lys	Ala	Leu	Thr
55	Asn 465	Lys	Asp	Lys	Tyr	Phe 470	Leu	Ala	Ile	Gly	Asn 475	Cys	Cys	Ile	Thr	Ala 480
	Gln	Phe	Asp	Tyr	Val 485	Gln	Pro	Cys	Phe	Gly 490	Glu	Val	Ile	Thr	Arg 495	Val
60	Lys	Glu	Lys	Gly 500	Ala	Tyr	Ala	Tyr	Ile 505	Gly	Ser	Ser	Pro	Asn 510	Ser	Tyr
65	Trp	Gly	Glu	Asp	Tyr	Tyr	Trp	Ser	Val	Gly	Ala	Asn	Ala	Val	Phe	Gly

ES 2 633 738 T3

	1055					1060	-----			1065			
5	Tyr	Ala 1070	Ser	Glu	His	Tyr	Ala 1075	Val	Tyr	Ala	Ser	Ser 1080	Thr Gly Asn
10	Asp	Ala 1085	Ser	Asn	Phe	Thr	Asn 1090	Ala	Leu	Leu	Glu	Glu 1095	Thr Ile Thr
15	Ala	Lys 1100	Gly	Val	Arg	Ser	Pro 1105	Lys	Ala	Ile	Arg	Gly 1110	Arg Ile Gln
20	Gly	Thr 1115	Trp	Arg	Gln	Lys	Thr 1120	Val	Asp	Leu	Pro	Ala 1125	Gly Thr Lys
25	Tyr	Val 1130	Ala	Phe	Arg	His	Phe 1135	Gln	Ser	Thr	Asp	Met 1140	Phe Tyr Ile
30	Asp	Leu 1145	Asp	Glu	Val	Glu	Ile 1150	Lys	Ala	Asn	Gly	Lys 1155	Arg Ala Asp
35	Phe	Thr 1160	Glu	Thr	Phe	Glu	Ser 1165	Ser	Thr	His	Gly	Glu 1170	Ala Pro Ala
40	Glu	Trp 1175	Thr	Thr	Ile	Asp	Ala 1180	Asp	Gly	Asp	Gly	Gln 1185	Gly Trp Leu
45	Cys	Leu 1190	Ser	Ser	Gly	Gln	Leu 1195	Asp	Trp	Leu	Thr	Ala 1200	His Gly Gly
50	Ser	Asn 1205	Val	Val	Ser	Ser	Phe 1210	Ser	Trp	Asn	Gly	Met 1215	Ala Leu Asn
55	Pro	Asp 1220	Asn	Tyr	Leu	Ile	Ser 1225	Lys	Asp	Val	Thr	Gly 1230	Ala Thr Lys
60	Val	Lys 1235	Tyr	Tyr	Tyr	Ala	Val 1240	Asn	Asp	Gly	Phe	Pro 1245	Gly Asp His
65	Tyr	Ala 1250	Val	Met	Ile	Ser	Lys 1255	Thr	Gly	Thr	Asn	Ala 1260	Gly Asp Phe
	Thr	Val 1265	Val	Phe	Glu	Glu	Thr 1270	Pro	Asn	Gly	Ile	Asn 1275	Lys Gly Gly
	Ala	Arg 1280	Phe	Gly	Leu	Ser	Thr 1285	Glu	Ala	Asn	Gly	Ala 1290	Lys Pro Gln
	Ser	Val 1295	Trp	Ile	Glu	Arg	Thr 1300	Val	Asp	Leu	Pro	Ala 1305	Gly Thr Lys
	Tyr	Val	Ala	Phe	Arg	His	Tyr	Asn	Cys	Ser	Asp	Leu	Asn Tyr Ile

ES 2 633 738 T3

	1310					1315					1320				
5	Leu	Leu	Asp	Asp	Ile	Gln	Phe	Thr	Met	Gly	Gly	Ser	Pro	Thr	Pro
		1325					1330					1335			
10	Thr	Asp	Tyr	Thr	Tyr	Thr	Val	Tyr	Arg	Asp	Gly	Thr	Lys	Ile	Lys
		1340					1345					1350			
15	Glu	Gly	Leu	Thr	Glu	Thr	Thr	Phe	Glu	Glu	Asp	Gly	Val	Ala	Thr
		1355					1360					1365			
20	Gly	Asn	His	Glu	Tyr	Cys	Val	Glu	Val	Lys	Tyr	Thr	Ala	Gly	Val
		1370					1375					1380			
25	Ser	Pro	Lys	Lys	Cys	Val	Asn	Val	Thr	Val	Asn	Ser	Thr	Gln	Phe
		1385					1390					1395			
30	Asn	Pro	Val	Gln	Asn	Leu	Thr	Ala	Glu	Gln	Ala	Pro	Asn	Ser	Met
		1400					1405					1410			
35	Asp	Ala	Ile	Leu	Lys	Trp	Asn	Ala	Pro	Ala	Ser	Lys	Arg	Ala	Glu
		1415					1420					1425			
40	Val	Leu	Asn	Glu	Asp	Phe	Glu	Asn	Gly	Ile	Pro	Ala	Ser	Trp	Lys
		1430					1435					1440			
45	Thr	Ile	Asp	Ala	Asp	Gly	Asp	Gly	Asn	Asn	Trp	Thr	Thr	Thr	Pro
		1445					1450					1455			
50	Pro	Pro	Gly	Gly	Ser	Ser	Phe	Ala	Gly	His	Asn	Ser	Ala	Ile	Cys
		1460					1465					1470			
55	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Tyr	Ile	Asn	Phe	Glu	Gly	Pro	Gln	Asn	Pro
		1475					1480					1485			
60	Asp	Asn	Tyr	Leu	Val	Thr	Pro	Glu	Leu	Ser	Leu	Pro	Gly	Gly	Gly
		1490					1495					1500			
65	Thr	Leu	Thr	Phe	Trp	Val	Cys	Ala	Gln	Asp	Ala	Asn	Tyr	Ala	Ser
		1505					1510					1515			
70	Glu	His	Tyr	Ala	Val	Tyr	Ala	Ser	Ser	Thr	Gly	Asn	Asp	Ala	Ser
		1520					1525					1530			
75	Asn	Phe	Ala	Asn	Ala	Leu	Leu	Glu	Glu	Val	Leu	Thr	Ala	Lys	Thr
		1535					1540					1545			
80	Val	Val	Thr	Ala	Pro	Glu	Ala	Ile	Arg	Gly	Thr	Arg	Ala	Gln	Gly
		1550					1555					1560			
85	Thr	Trp	Tyr	Gln	Lys	Thr	Val	Gln	Leu	Pro	Ala	Gly	Thr	Lys	Tyr

ES 2 633 738 T3

5 Val Ala 1580 Phe Arg His Phe Gly 1585 Cys Thr Asp Phe Phe 1590 Trp Ile Asn
 Leu Asp 1595 Asp Val Val Ile Thr 1600 Ser Gly Asn Ala Pro 1605 Ser Tyr Thr
 10 Tyr Thr 1610 Ile Tyr Arg Asn Asn 1615 Thr Gln Ile Ala Ser 1620 Gly Val Thr
 Glu Thr 1625 Thr Tyr Arg Asp Pro 1630 Asp Leu Ala Thr Gly 1635 Phe Tyr Thr
 15 Tyr Gly 1640 Val Lys Val Val Tyr 1645 Pro Asn Gly Glu Ser 1650 Ala Ile Glu
 Thr Ala 1655 Thr Leu Asn Ile Thr 1660 Ser Leu Ala Asp Val 1665 Thr Ala Gln
 20 Lys Pro 1670 Tyr Thr Leu Thr Val 1675 Val Gly Lys Thr Ile 1680 Thr Val Thr
 25 Cys Gln 1685 Gly Glu Ala Met Ile 1690 Tyr Asp Met Asn Gly 1695 Arg Arg Leu
 Ala Ala 1700 Gly Arg Asn Thr Val 1705 Val Tyr Thr Ala Gln 1710 Gly Gly His
 Tyr Ala 1715 Val Met Val Val Val 1720 Asp Gly Lys Ser Tyr 1725 Val Glu Lys
 35 Leu Ala 1730 Val Lys

40 <210> 63
 <211> 2164
 <212> PRT
 <213>gingivales Porphyromonas
 45 <400> 63

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

65

ES 2 633 738 T3

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

ES 2 633 738 T3

5 Ala Asn Phe Thr Ile Lys Leu Leu Glu Glu Thr Leu Gly Ser Gly Lys
340 345 350

10 Pro Ala Pro Met Asn Leu Val Lys Ser Glu Gly Val Lys Ala Pro Ala
355 360 365

15 Pro Tyr Gln Glu Arg Thr Ile Asp Leu Ser Ala Tyr Ala Gly Gln Gln
370 375 380

20 Val Tyr Leu Ala Phe Arg His Phe Gly Cys Thr Gly Ile Phe Arg Leu
385 390 395 400

25 Tyr Leu Asp Asp Val Ala Val Ser Gly Glu Gly Ser Ser Asn Asp Tyr
405 410 415

30 Thr Tyr Thr Val Tyr Arg Asp Asn Val Val Ile Ala Gln Asn Leu Thr
420 425 430

35 Ala Thr Thr Phe Asn Gln Glu Asn Val Ala Pro Gly Gln Tyr Asn Tyr
435 440 445

40 Cys Val Glu Val Lys Tyr Thr Ala Gly Val Ser Pro Lys Val Cys Lys
450 455 460

45 Asp Val Thr Val Glu Gly Ser Asn Glu Phe Ala Pro Val Gln Asn Leu
465 470 475 480

50 Thr Gly Ser Ala Val Gly Gln Lys Val Thr Leu Lys Trp Asp Ala Pro
485 490 495

55 Asn Gly Thr Pro Asn Pro Asn Pro Gly Thr Thr Thr Leu Ser Glu Ser
500 505 510

60 Phe Glu Asn Gly Ile Pro Ala Ser Trp Lys Thr Ile Asp Ala Asp Gly
515 520 525

65 Asp Gly Asn Asn Trp Thr Thr Thr Pro Pro Pro Gly Gly Ser Ser Phe
530 535 540

70 Ala Gly His Asn Ser Ala Ile Cys Val Ser Ser Ala Ser Tyr Ile Asn
545 550 555 560

75 Phe Glu Gly Pro Gln Asn Pro Asp Asn Tyr Leu Val Thr Pro Glu Leu
565 570 575

80 Ser Leu Pro Asn Gly Gly Thr Leu Thr Phe Trp Val Cys Ala Gln Asp
580 585 590

85 Ala Asn Tyr Ala Ser Glu His Tyr Ala Val Tyr Ala Ser Ser Thr Gly
595 600 605

ES 2 633 738 T3

5 Asn Asp Ala Ser Asn Phe Ala Asn Ala Leu Leu Glu Glu Val Leu Thr
610 615 620

Ala Lys Thr Val Val Thr Ala Pro Glu Ala Ile Arg Gly Thr Arg Val
625 630 635 640

10 Gln Gly Thr Trp Tyr Gln Lys Thr Val Gln Leu Pro Ala Gly Thr Lys
645 650 655

15 Tyr Val Ala Phe Arg His Phe Gly Cys Thr Asp Phe Phe Trp Ile Asn
660 665 670

20 Leu Asp Asp Val Glu Ile Lys Ala Asn Gly Lys Arg Ala Asp Phe Thr
675 680 685

Glu Thr Phe Glu Ser Ser Thr His Gly Glu Ala Pro Ala Glu Trp Thr
690 695 700

25 Thr Ile Asp Ala Asp Gly Asp Gly Gln Gly Trp Leu Cys Leu Ser Ser
705 710 715 720

30 Gly Gln Leu Gly Trp Leu Thr Ala His Gly Gly Thr Asn Val Val Ala
725 730 735

35 Ser Phe Ser Trp Asn Gly Met Ala Leu Asn Pro Asp Asn Tyr Leu Ile
740 745 750

Ser Lys Asp Val Thr Gly Ala Thr Lys Val Lys Tyr Tyr Ala Val
755 760 765

40 Asn Asp Gly Phe Pro Gly Asp His Tyr Ala Val Met Ile Ser Lys Thr
770 775 780

45 Gly Thr Asn Ala Gly Asp Phe Thr Val Val Phe Glu Glu Thr Pro Asn
785 790 795 800

Gly Ile Asn Lys Gly Gly Ala Arg Phe Gly Leu Ser Thr Glu Ala Asn
805 810 815

50 Gly Ala Lys Pro Gln Ser Val Trp Ile Glu Arg Thr Val Asp Leu Pro
820 825 830

55 Ala Gly Thr Lys Tyr Val Ala Phe Arg His Tyr Asn Cys Ser Asp Leu
835 840 845

60 Asn Tyr Ile Leu Leu Asp Asp Ile Gln Phe Thr Met Gly Gly Ser Pro
850 855 860

65 Thr Pro Thr Asp Tyr Thr Tyr Thr Val Tyr Arg Asp Gly Thr Lys Ile
865 870 875 880

ES 2 633 738 T3

5 Lys Glu Gly Leu Thr 885 Glu Thr Thr Phe Glu 890 Glu Asp Gly Val Ala Thr 895

Gly Asn His Glu 900 Tyr Cys Val Glu 905 Val Lys Tyr Thr Ala Gly 910 Val Ser

10 Pro Lys Glu 915 Cys Val Asn Val Thr 920 Val Asp Pro Val Gln 925 Phe Asn Pro

15 Val Gln 930 Asn Leu Thr Gly Ser 935 Ala Val Gly Gln Lys 940 Val Thr Leu Lys

Trp 945 Asp Ala Pro Asn Gly 950 Thr Pro Asn Pro Asn 955 Pro Gly Thr Thr Thr 960

20 Leu Ser Glu Ser Phe 965 Glu Asn Gly Ile Pro 970 Ala Ser Trp Lys Thr 975 Ile

25 Asp Ala Asp Gly 980 Asp Gly Asn Asn Trp 985 Thr Thr Thr Pro Pro 990 Pro Gly

Gly Thr Ser 995 Phe Ala Gly His Asn 1000 Ser Ala Ile Cys Val 1005 Ser Ser Ala

30 Ser Tyr 1010 Ile Asn Phe Glu Gly 1015 Pro Gln Asn Pro Asp 1020 Asn Tyr Leu

35 Val Thr 1025 Pro Glu Leu Ser Leu 1030 Pro Asn Gly Gly Thr 1035 Leu Thr Phe

Trp Val 1040 Cys Ala Gln Asp Ala 1045 Asn Tyr Ala Ser Glu 1050 His Tyr Ala

40 Val Tyr 1055 Ala Ser Ser Thr Gly 1060 Asn Asp Ala Ser Asn 1065 Phe Ala Asn

45 Ala Leu 1070 Leu Glu Glu Val Leu 1075 Thr Ala Lys Thr Val 1080 Val Thr Ala

Pro Glu 1085 Ala Ile Arg Gly Thr 1090 Arg Val Gln Gly Thr 1095 Trp Tyr Gln

50 Lys Thr 1100 Val Gln Leu Pro Ala 1105 Gly Thr Lys Tyr Val 1110 Ala Phe Arg

55 His Phe 1115 Gly Cys Thr Asp Phe 1120 Phe Trp Ile Asn Leu 1125 Asp Asp Val

60 Glu Ile 1130 Lys Ala Asn Gly Lys 1135 Arg Ala Asp Phe Thr 1140 Glu Thr Phe

65

ES 2 633 738 T3

5
 10
 15
 20
 25
 30
 35
 40
 45
 50
 55

Glu Ser Ser Thr His Gly Glu Ala Pro Ala Glu Trp Thr Thr Ile
 1145 1150 1155
 Asp Ala Asp Gly Asp Gly Gln Gly Trp Leu Cys Leu Ser Ser Gly
 1160 1165 1170
 Gln Leu Asp Trp Leu Thr Ala His Gly Gly Thr Asn Val Val Ala
 1175 1180 1185
 Ser Phe Ser Trp Asn Gly Met Ala Leu Asn Pro Asp Asn Tyr Leu
 1190 1195 1200
 Ile Ser Lys Asp Val Thr Gly Ala Thr Lys Val Lys Tyr Tyr Tyr
 1205 1210 1215
 Ala Val Asn Asp Gly Phe Pro Gly Asp His Tyr Ala Val Met Ile
 1220 1225 1230
 Ser Lys Thr Gly Thr Asn Ala Gly Asp Phe Thr Val Val Phe Glu
 1235 1240 1245
 Glu Thr Pro Asn Gly Ile Asn Lys Gly Gly Ala Arg Phe Gly Leu
 1250 1255 1260
 Ser Thr Glu Ala Asn Gly Ala Lys Pro Gln Ser Val Trp Ile Glu
 1265 1270 1275
 Arg Thr Val Asp Leu Pro Ala Gly Thr Lys Tyr Val Ala Phe Arg
 1280 1285 1290
 His Tyr Asn Cys Ser Asp Leu Asn Tyr Ile Leu Leu Asp Asp Ile
 1295 1300 1305
 Gln Phe Thr Met Gly Gly Ser Pro Thr Pro Thr Asp Tyr Thr Tyr
 1310 1315 1320
 Thr Val Tyr Arg Asp Gly Thr Lys Ile Lys Glu Gly Leu Thr Glu
 1325 1330 1335
 Thr Thr Phe Glu Glu Asp Gly Val Ala Thr Gly Asn His Glu Tyr
 1340 1345 1350
 Cys Val Glu Val Lys Tyr Thr Ala Gly Val Ser Pro Lys Glu Cys
 1355 1360 1365
 Val Asn Val Thr Val Asp Pro Val Gln Phe Asn Pro Val Gln Asn
 1370 1375 1380
 Leu Thr Gly Ser Ala Val Gly Gln Lys Val Thr Leu Lys Trp Asp
 1385 1390 1395

60

65

ES 2 633 738 T3

5 Ala Pro Asn Gly Thr Pro Asn Pro Asn Pro Gly Thr Thr Thr Leu
1400 1405 1410

10 Ser Glu Ser Phe Glu Asn Gly Ile Pro Ala Ser Trp Lys Thr Ile
1415 1420 1425

15 Asp Ala Asp Gly Asp Gly Asn Asn Trp Thr Thr Thr Pro Pro Pro
1430 1435 1440

20 Gly Gly Thr Ser Phe Ala Gly His Asn Ser Ala Ile Cys Val Ser
1445 1450 1455

25 Ser Ala Ser Tyr Ile Asn Phe Glu Gly Pro Gln Asn Pro Asp Asn
1460 1465 1470

30 Tyr Leu Val Thr Pro Glu Leu Ser Leu Pro Asn Gly Gly Thr Leu
1475 1480 1485

35 Thr Phe Trp Val Cys Ala Gln Asp Ala Asn Tyr Ala Ser Glu His
1490 1495 1500

40 Tyr Ala Val Tyr Ala Ser Ser Thr Gly Asn Asp Ala Ser Asn Phe
1505 1510 1515

45 Ala Asn Ala Leu Leu Glu Glu Val Leu Thr Ala Lys Thr Val Val
1520 1525 1530

50 Thr Ala Pro Glu Ala Ile Arg Gly Thr Arg Val Gln Gly Thr Trp
1535 1540 1545

55 Tyr Gln Lys Thr Val Gln Leu Pro Ala Gly Thr Lys Tyr Val Ala
1550 1555 1560

60 Phe Arg His Phe Gly Cys Thr Asp Phe Phe Trp Ile Asn Leu Asp
1565 1570 1575

65 Asp Val Glu Ile Lys Ala Asn Gly Lys Arg Ala Asp Phe Thr Glu
1580 1585 1590

70 Thr Phe Glu Ser Ser Thr His Gly Glu Ala Pro Ala Glu Trp Thr
1595 1600 1605

75 Thr Ile Asp Ala Asp Gly Asp Gly Gln Gly Trp Leu Cys Leu Ser
1610 1615 1620

80 Ser Gly Gln Leu Gly Trp Leu Thr Ala His Gly Gly Thr Asn Val
1625 1630 1635

85 Val Ala Ser Phe Ser Trp Asn Gly Met Ala Leu Asn Pro Asp Asn
1640 1645 1650

ES 2 633 738 T3

5 Tyr Leu Ile Ser Lys Asp Val Thr Gly Ala Thr Lys Val Lys Tyr
1655 1660 1665

10 Tyr Tyr Ala Val Asn Asp Gly Phe Pro Gly Asp His Tyr Ala Val
1670 1675 1680

15 Met Ile Ser Lys Thr Gly Thr Asn Ala Gly Asp Phe Thr Val Val
1685 1690 1695

20 Phe Glu Glu Thr Pro Asn Gly Ile Asn Lys Gly Gly Ala Arg Phe
1700 1705 1710

25 Gly Leu Ser Thr Glu Ala Asn Gly Ala Lys Pro Gln Ser Val Trp
1715 1720 1725

30 Ile Glu Arg Thr Val Asp Leu Pro Ala Gly Thr Lys Tyr Val Ala
1730 1735 1740

35 Phe Arg His Tyr Asn Cys Ser Asp Leu Asn Tyr Ile Leu Leu Asp
1745 1750 1755

40 Asp Ile Gln Phe Thr Met Gly Gly Ser Pro Thr Pro Thr Asp Tyr
1760 1765 1770

45 Thr Tyr Thr Val Tyr Arg Asp Gly Thr Lys Ile Lys Glu Gly Leu
1775 1780 1785

50 Thr Glu Thr Thr Phe Glu Glu Asp Gly Val Ala Thr Gly Asn His
1790 1795 1800

55 Glu Tyr Cys Val Glu Val Lys Tyr Thr Ala Gly Val Ser Pro Lys
1805 1810 1815

60 Glu Cys Val Asn Val Thr Ile Asn Pro Thr Gln Phe Asn Pro Val
1820 1825 1830

65 Gln Asn Leu Thr Ala Glu Gln Ala Pro Asn Ser Met Asp Ala Ile
1835 1840 1845

70 Leu Lys Trp Asn Ala Pro Ala Ser Lys Arg Ala Glu Val Leu Asn
1850 1855 1860

75 Glu Asp Phe Glu Asn Gly Ile Pro Ala Ser Trp Lys Thr Ile Asp
1865 1870 1875

80 Ala Asp Gly Asp Gly Asn Asn Trp Thr Thr Thr Pro Pro Pro Gly
1880 1885 1890

85 Gly Ser Ser Phe Ala Gly His Asn Ser Ala Ile Cys Val Ser Ser
1895 1900 1905

ES 2 633 738 T3

5 Ala Ser Tyr Ile Asn Phe Glu Gly Pro Gln Asn Pro Asp Asn Tyr
1910 1915 1920

10 Leu Val Thr Pro Glu Leu Ser Leu Pro Gly Gly Gly Thr Leu Thr
1925 1930 1935

15 Phe Trp Val Cys Ala Gln Asp Ala Asn Tyr Ala Ser Glu His Tyr
1940 1945 1950

20 Ala Val Tyr Ala Ser Ser Thr Gly Asn Asp Ala Ser Asn Phe Ala
1955 1960 1965

25 Asn Ala Leu Leu Glu Glu Val Leu Thr Ala Lys Thr Val Val Thr
1970 1975 1980

30 Ala Pro Glu Ala Ile Arg Gly Thr Arg Val Gln Gly Thr Trp Tyr
1985 1990 1995

35 Gln Lys Thr Val Gln Leu Pro Ala Gly Thr Lys Tyr Val Ala Phe
2000 2005 2010

40 Arg His Phe Gly Cys Thr Asp Phe Phe Trp Ile Asn Leu Asp Asp
2015 2020 2025

45 Val Val Ile Thr Ser Gly Asn Ala Pro Ser Tyr Thr Tyr Thr Ile
2030 2035 2040

50 Tyr Arg Asn Asn Thr Gln Ile Ala Ser Gly Val Thr Glu Thr Thr
2045 2050 2055

55 Tyr Arg Asp Pro Asp Leu Ala Thr Gly Phe Tyr Thr Tyr Gly Val
2060 2065 2070

60 Lys Val Val Tyr Pro Asn Gly Glu Ser Ala Ile Glu Thr Ala Thr
2075 2080 2085

65 Leu Asn Ile Thr Ser Leu Ala Asp Val Thr Ala Gln Lys Pro Tyr
2090 2095 2100

70 Thr Leu Thr Val Val Gly Lys Thr Ile Thr Val Thr Cys Gln Gly
2105 2110 2115

75 Glu Ala Met Ile Tyr Asp Met Asn Gly Arg Arg Leu Ala Ala Gly
2120 2125 2130

80 Arg Asn Thr Val Val Tyr Thr Ala Gln Gly Gly His Tyr Ala Val
2135 2140 2145

85 Met Val Val Val Asp Gly Lys Ser Tyr Val Glu Lys Leu Ala Val
2150 2155 2160

Ile Gly Asn Xaa Thr His Ile Gly Ala His Tyr

5

1

5

10

10

<210> 67

<211> 8

<212> PRT

15 <213> Porphyromonas gingivales

<400> 67

20

Glu Gly Gly Pro Ser Ala Asp Asn
1 5

25

<210> 68

<211> 7

30 <212> PRT

<213> Porphyromonas gingivales

35

<220>

<221> MISC_CHARACTERISTICA

<222> (1) .. (1)

<223> X puede ser N o D

40

<220>

<221> MISC_CHARACTERISTICA

<222> (3) .. (3)

<223> X puede ser S o Y

45

<220>

<221> MISC_CHARACTERISTICA

<222> (6) .. (6)

<223> X puede ser S o P

50

<400> 68

55

Xaa Gln Xaa Trp Ala Xaa Pro
1 5

60

<210> 69

<211> 23

<212> PRT

65 <213> Porphyromonas gingivales

<400> 69

ES 2 633 738 T3

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

Lys Trp Asp Ala Pro Ser Thr
20

10

15 <210> 70
<211> 23
<212> PRT
<213> Porphyromonas gingivalis

20 <400> 70

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

Lys Trp Glu Ala Pro Ser Ala

30 <210> 71
<211> 23
<212> PRT
<213> Porphyromonas gingivalis

35 <400> 71

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

Lys Trp Asp Ala Pro Ser Thr
20

45 <210> 72
<211> 23
<212> PRT
<213> Porphyromonas gingivalis

50 <400> 72

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

Lys Trp Asp Ala Pro Asn Gly
20

60

65 <210> 73
<211> 23
<212> PRT
<213> Porphyromonas gingivalis

ES 2 633 738 T3

<400> 73

Pro Val Lys Asn Leu Lys Ala Gln Pro Asp Gly Gly Asp Val Val Leu
1 5 10 15

Lys Trp Glu Ala Pro Ser Ala
20

5 <210> 74
<211> 23
<212> PRT
<213> Porphyromonas gingivalis

10 <400> 74

15 Pro Val Gln Asn Leu Thr Ala Glu Gln Ala Pro Asn Ser Met Asp Ala
1 5 10 15

Ile Leu Lys Trp Asn Ala Pro
20

20 <210> 75
<211> 24
<212> PRT
<213> Porphyromonas gingivalis

25 <400> 75

30 Pro Val Gln Asn Leu Thr Gln Trp Ser Val Ser Gly Gln Thr Val Thr
1 5 10 15

Leu Thr Trp Gln Ala Pro Ala Ser
20

35 <210> 76
<211> 27
<212> PRT
<213> Porphyromonas gingivalis

40 <400> 76

45 Tyr Thr Tyr Thr Val Tyr Arg Asp Gly Thr Lys Ile Lys Glu Gly Leu
1 5 10 15

50 Thr Glu Thr Thr Phe Glu Glu Asp Gly Val Ala
20 25

55 <210> 77
<211> 27
<212> PRT
<213> Porphyromonas gingivalis

<400> 77

5 Tyr Thr Tyr Thr Val Tyr Arg Asp Asn Val Val Ile Ala Gln Asn Leu
1 5 10 15
10 Thr Ala Thr Thr Phe Asn Gln Glu Asn Val Ala
20 25

<210> 78
<211> 28
<212> PRT
<213> Porphyromonas gingivales

15 <400> 78

20 Tyr Thr Tyr Thr Val Tyr Arg Asp Gly Thr Lys Ile Lys Glu Gly Leu
1 5 10 15
25 Thr Ala Glu Thr Thr Phe Glu Glu Asp Gly Val Ala
20 25

<210> 79
<211> 16
<212> PRT
<213> Porphyromonas gingivales

30 <220>
<221> MISC_CHARACTERISTICA
<222> (6) .. (7)
<223> X puede ser NP o NPNP o NPNPNP o NPNPNPNP o NPNPNPNPNP o NPNPNPNPNPNP
35 <400> 79

40 Pro Asn Gly Thr Pro Xaa Xaa Gly Thr Thr Thr Leu Ser Glu Ser Phe
1 5 10 15

<210> 80
<211> 325
<212> PRT
<213> Porphyromonas gingivales

50 <400> 80

55

60

ES 2 633 738 T3

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

10 Gly Ile Arg Thr Ser Lys Ala Lys Asp Leu Arg Asp Pro Ile Pro Ala
20 25 30

15 Gly Met Ala Arg Ile Ile Leu Glu Ala His Asp Val Trp Glu Asp Gly
35 40 45

20 Thr Gly Tyr Gln Met Leu Trp Asp Ala Asp His Asn Gln Tyr Gly Ala
50 55 60

25 Ser Ile Pro Glu Glu Ser Phe Trp Phe Ala Asn Gly Thr Ile Pro Ala
65 70 75 80

30 Gly Leu Tyr Asp Pro Phe Glu Tyr Lys Val Pro Val Asn Ala Asp Ala
85 90 95

35 Ser Phe Ser Pro Thr Asn Phe Val Leu Asp Gly Thr Ala Ser Ala Asp
100 105 110

40 Ile Pro Ala Gly Thr Tyr Asp Tyr Val Ile Ile Asn Pro Asn Pro Gly
115 120 125

45 Ile Ile Tyr Ile Val Gly Glu Gly Val Ser Lys Gly Asn Asp Tyr Val
130 135 140

50 Val Glu Ala Gly Lys Thr Tyr His Phe Thr Val Gln Arg Gln Gly Pro
145 150 155 160

55 Gly Asp Ala Ala Ser Val Val Val Thr Gly Glu Gly Gly Asn Glu Phe
165 170 175

60 Ala Pro Val Gln Asn Leu Gln Trp Ser Val Ser Gly Gln Thr Val Thr
180 185 190

65 Leu Thr Trp Gln Ala Pro Ala Ser Asp Lys Arg Thr Tyr Val Leu Asn
195 200 205

70 Glu Ser Phe Asp Thr Gln Thr Leu Pro Asn Gly Trp Thr Met Ile Asp
210 215 220

ES 2 633 738 T3

5 Ala Asp Gly Asp Gly His Asn Trp Leu Ser Thr Ile Asn Val Tyr Asn
 225 230 235 240

10 Thr Ala Thr His Thr Gly Asp Gly Ala Met Phe Ser Lys Ser Trp Thr
 245 250 255

15 Ala Ser Ser Gly Ala Lys Ile Asp Leu Ser Pro Asp Asn Tyr Leu Val
 260 265 270

20 Thr Pro Lys Phe Thr Val Pro Glu Asn Gly Lys Leu Ser Tyr Trp Val
 275 280 285

25 Ser Ser Gln Glu Pro Trp Thr Asn Glu His Tyr Gly Val Phe Leu Ser
 290 295 300

30 Thr Thr Gly Asn Glu Ala Ala Asn Phe Thr Ile Lys Leu Leu Glu Glu
 305 310 315 320

35 Thr Leu Gly Ser Gly
 325

<210> 81
 <211> 260
 <212> PRT
 <213>gingivales Porphyromonas
 <400> 81

30

35

40

45

50

55

60

ES 2 633 738 T3

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

ES 2 633 738 T3

<210> 82
 <211> 258
 <212> PRT
 <213>gingivales Porphyromonas

5

<400> 82

10

Pro Gln Ser Val Trp Ile Glu Arg Thr Val Asp Leu Pro Ala Gly Thr
 1 5 10 15

15

Lys Tyr Val Ala Phe Arg His Tyr Asn Cys Ser Asp Leu Asn Tyr Ile
 20 25 30

20

Leu Leu Asp Asp Ile Gln Phe Thr Met Gly Gly Ser Pro Thr Pro Thr
 35 40 45

25

Asp Tyr Thr Tyr Thr Val Tyr Arg Asp Gly Thr Lys Ile Lys Glu Gly
 50 55 60

30

Leu Thr Glu Thr Thr Phe Glu Glu Asp Gly Val Ala Thr Gly Asn His
 65 70 75 80

Glu Tyr Cys Val Glu Val Lys Tyr Thr Ala Gly Val Ser Pro Lys Glu
 85 90 95

35

Cys Val Asn Val Thr Val Asp Pro Val Gln Phe Asn Pro Val Gln Asn
 100 105 110

40

Leu Thr Gly Ser Ala Val Gly Gln Lys Val Thr Leu Lys Trp Asp Ala
 115 120 125

Pro Asn Gly Thr Pro Asn Pro Asn Pro Gly Thr Thr Thr Leu Ser Glu
 130 135 140

45

Ser Phe Glu Asn Gly Ile Pro Ala Ser Trp Lys Thr Ile Asp Ala Asp
 145 150 155 160

Gly Asp Gly Asn Asn Trp Thr Thr Thr Pro Pro Pro Gly Gly Thr Ser
 165 170 175

50

Phe Ala Gly His Asn Ser Ala Ile Cys Val Ser Ser Ala Ser Tyr Ile
 180 185 190

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

55

Leu Ser Leu Pro Asn Gly Gly Thr Leu Thr Phe Trp Val Cys Ala Gln
 210 215 220

60

Asp Ala Asn Tyr Ala Ser Glu His Tyr Ala Val Tyr Ala Ser Ser Thr
 225 230 235 240

Gly Asn Asp Ala Ser Asn Phe Ala Asn Ala Leu Leu Glu Glu Val Leu
 245 250 255

Thr Ala

ES 2 633 738 T3

<210> 83
<211> 15
<212> PRT
<213> Porphyromonas gingivalis

5

<400> 83

10

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

15

<210> 84
<211> 15
<212> PRT
<213> Porphyromonas gingivalis

20

<400> 84

25

Glu Gly Leu Thr Ala Thr Thr Phe Glu Glu Asp Gly Val Ala Ala
1 5 10 15

30

<210> 85
<211> 17
<212> PRT
<213> Porphyromonas gingivalis

35

<400> 85

40

Gly Thr Pro Asn Pro Asn Pro Asn Pro Asn Pro Asn Pro Asn Pro Gly
1 5 10 15

45

Thr

50

55

60

65

Reivindicaciones

- 5 1. Una proteína quimérica o de fusión capaz de inducir una respuesta inmune a *P. gingivalis*, comprendiendo la proteína un primer péptido unido directamente o a través de un conector a un segundo polipéptido, en el que:
- (A) dicho primer péptido comprende una región de una enzima similar a tripsina *P.gingivales* seleccionada del grupo que consiste en:
- 10 (i) una secuencia que es la misma que la secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 1;
(ii) una secuencia que es la misma que la secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 2;
(iii) la secuencia mostrada en una de SEQ ID NOs: 27 a 30; y
(iv) la secuencia mostrada en una de SEQ ID NOs: 31 a 34;
- (B) dicho segundo polipéptido comprende un dominio de adhesina de *P. gingivalis*, seleccionado del grupo que
- 15 consiste en:
- (i) una secuencia que es la misma que la secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 35; y
(ii) una secuencia que es la misma que la secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 36 o 37.
- 20 2. La proteína quimérica o de fusión de acuerdo con la reivindicación 1, en donde:
- (a) dicho primer péptido comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 27-30 y dicho segundo polipéptido comprende una secuencia que es la misma que una secuencia seleccionada del
- 25 grupo que consiste en SEQ ID NOs: 36-37.
3. La proteína quimérica o de fusión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el residuo C-terminal de dicho primer péptido está unido covalentemente directamente o a través de un enlazador que es o bien (i) hasta 15 aminoácidos de longitud, o (ii) menos de 5 aminoácidos de longitud, al residuo N-terminal de dicho segundo polipéptido.
- 30 4. La proteína quimérica o de fusión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el residuo N-terminal de dicho primer péptido está unido covalentemente directamente o a través de un enlazador que es o bien (i) hasta 15 aminoácidos de longitud, o (ii) menos de 5 aminoácidos de longitud, al residuo C-terminal de dicho segundo polipéptido.
- 35 5. La proteína quimérica o de fusión de acuerdo con la reivindicación 2 en la que dicho primer péptido comprende una secuencia que es la misma que o al menos 90% idéntica a la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 28 y dicho segundo polipéptido comprende una secuencia que es la misma que o al menos 90% idéntica a la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 37.
- 40 6. La proteína quimérica o de fusión de acuerdo con la reivindicación 2 en la que dicho primer péptido comprende una secuencia que es la misma que o al menos 90% idéntica a la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 27 y dicho segundo polipéptido comprende una secuencia que es la misma que o al menos 90% idéntica a la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 36.
- 45 7. Una composición que comprende una proteína quimérica o de fusión de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores.
- 50 8. La composición de acuerdo con la reivindicación 7, que comprende además un adyuvante.
9. Una proteína quimérica o de fusión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-6, o una composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 7-8 para su uso en la prevención o reducción de la incidencia de gravedad de una condición o enfermedad *P.gingivales* relacionada en un sujeto.
- 55 10. Una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia que codifica una proteína quimérica o de fusión de acuerdo con una de las reivindicaciones 1-6.
11. La molécula de ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 10, en el que dicha secuencia está enlazada de modo operable a al menos un elemento regulatorio.
- 60 12. Un método para la diagnosis o monitorización de una condición o enfermedad relacionada con *P.gingivales* en un sujeto, que comprende el uso de una proteína quimérica o de fusión de acuerdo con una de las reivindicaciones 1-6 para detectar anticuerpos anti-*P.gingivales* en una muestra biológica obtenida de dicho sujeto.
- 65 13. Una proteína quimérica o de fusión de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, para uso en un método de detección de anticuerpos anti-*P.gingivales* en una muestra biológica obtenida de un sujeto

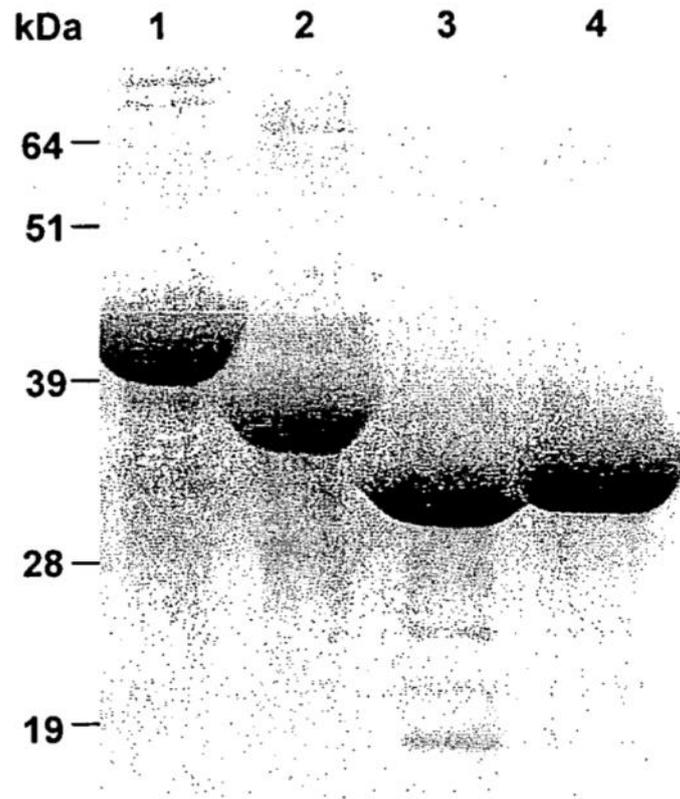


Fig 1.

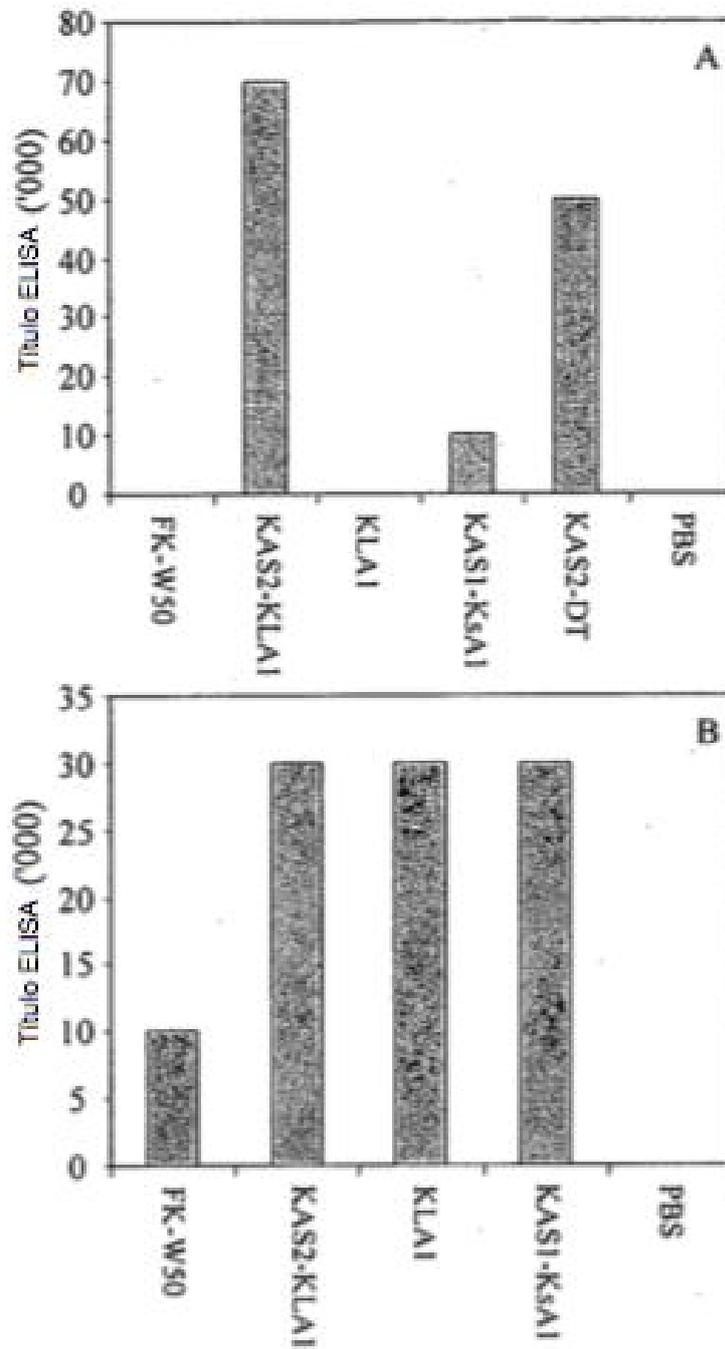


Fig. 2.

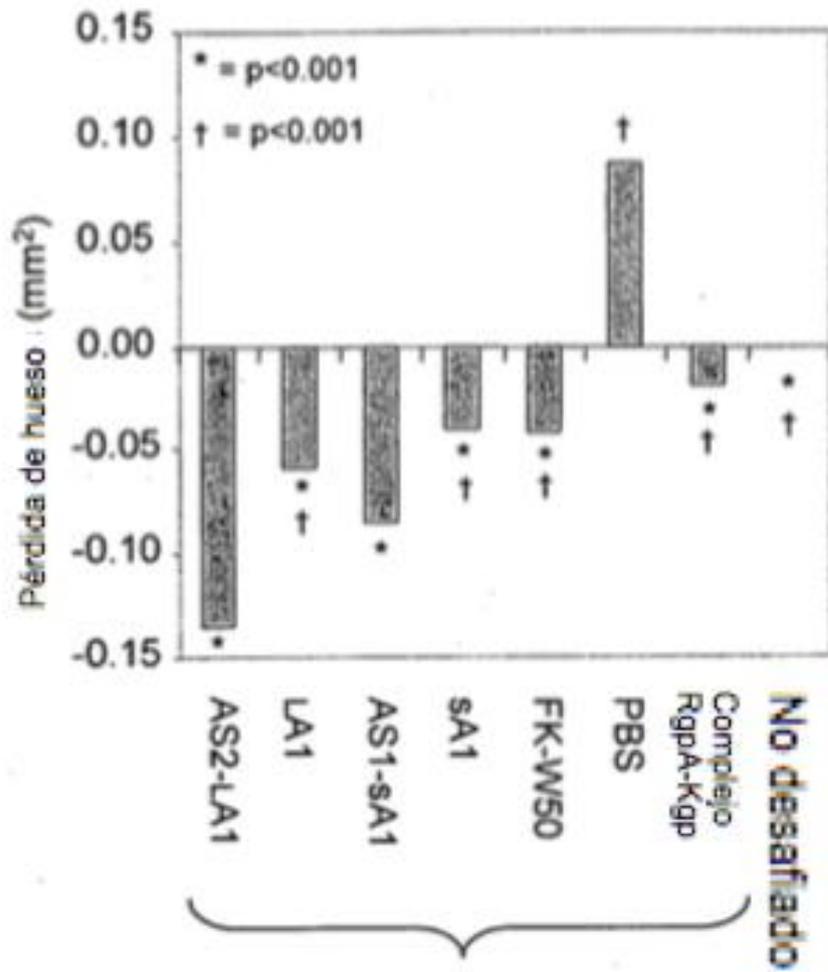


Fig. 3

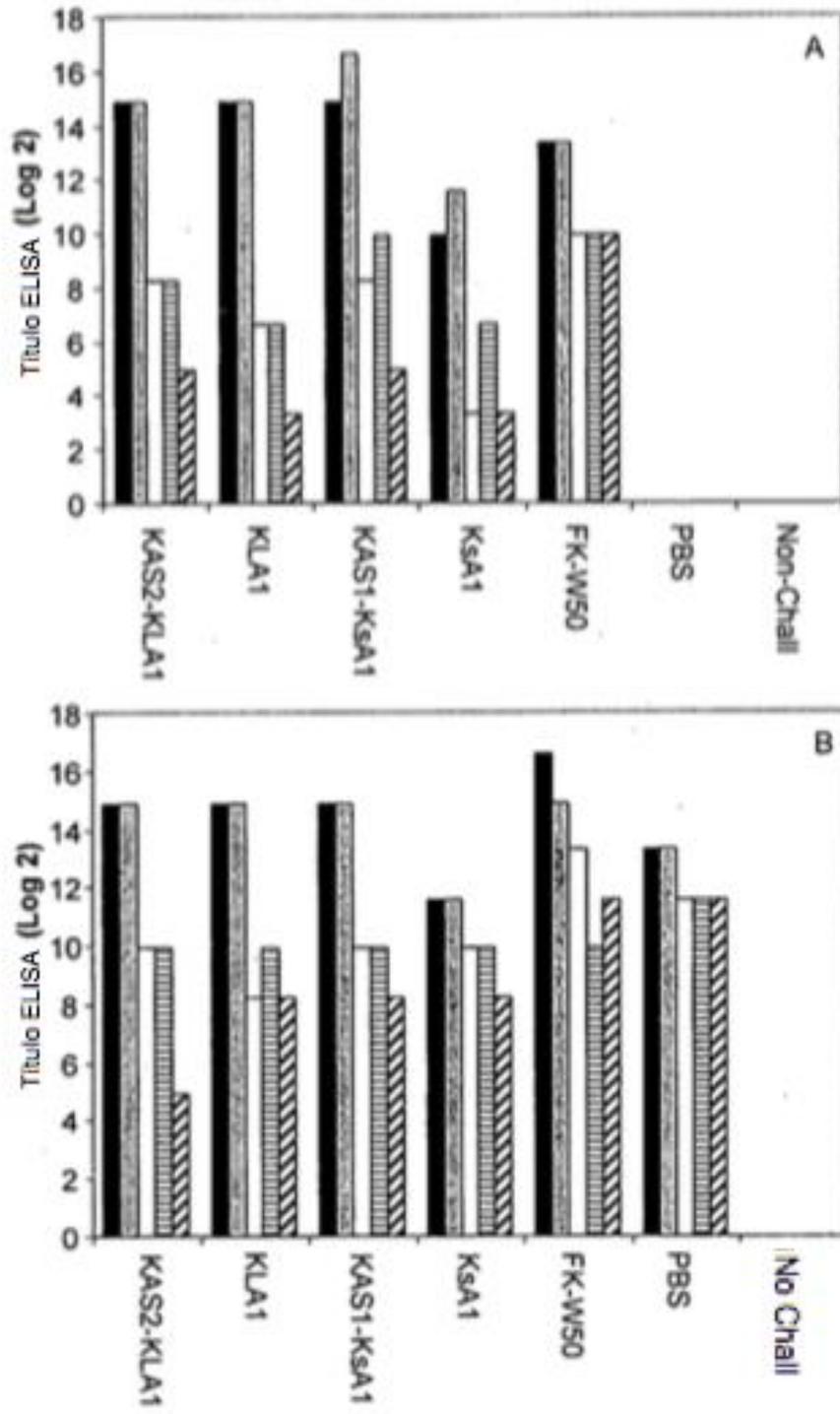


Fig 4.

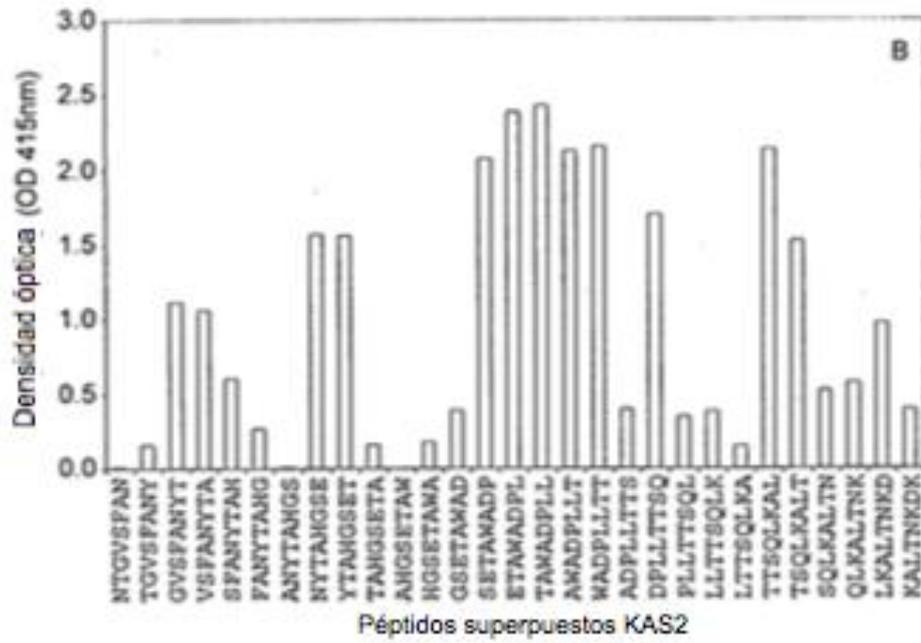
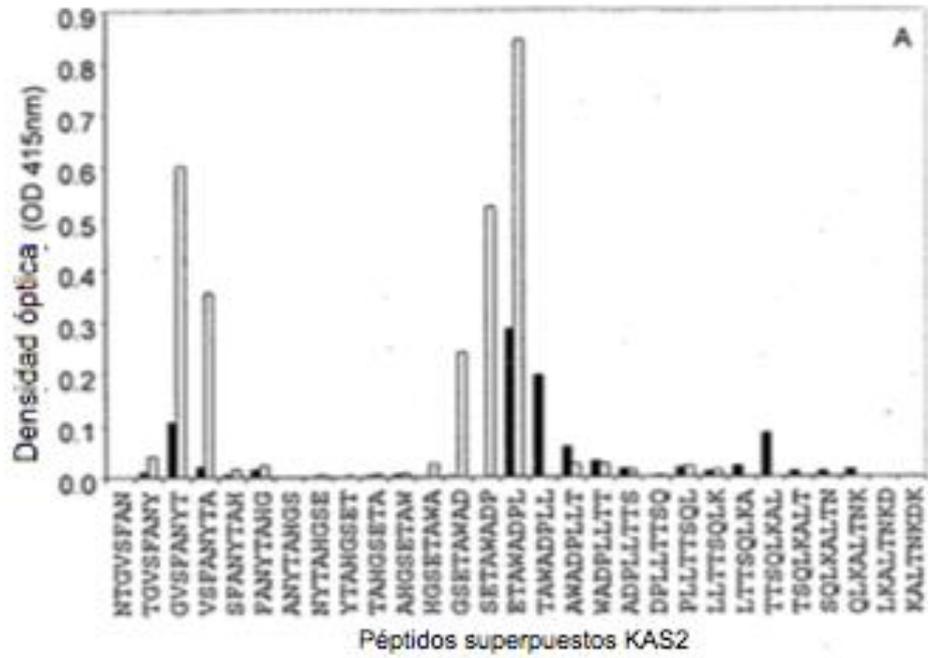


Fig 5.

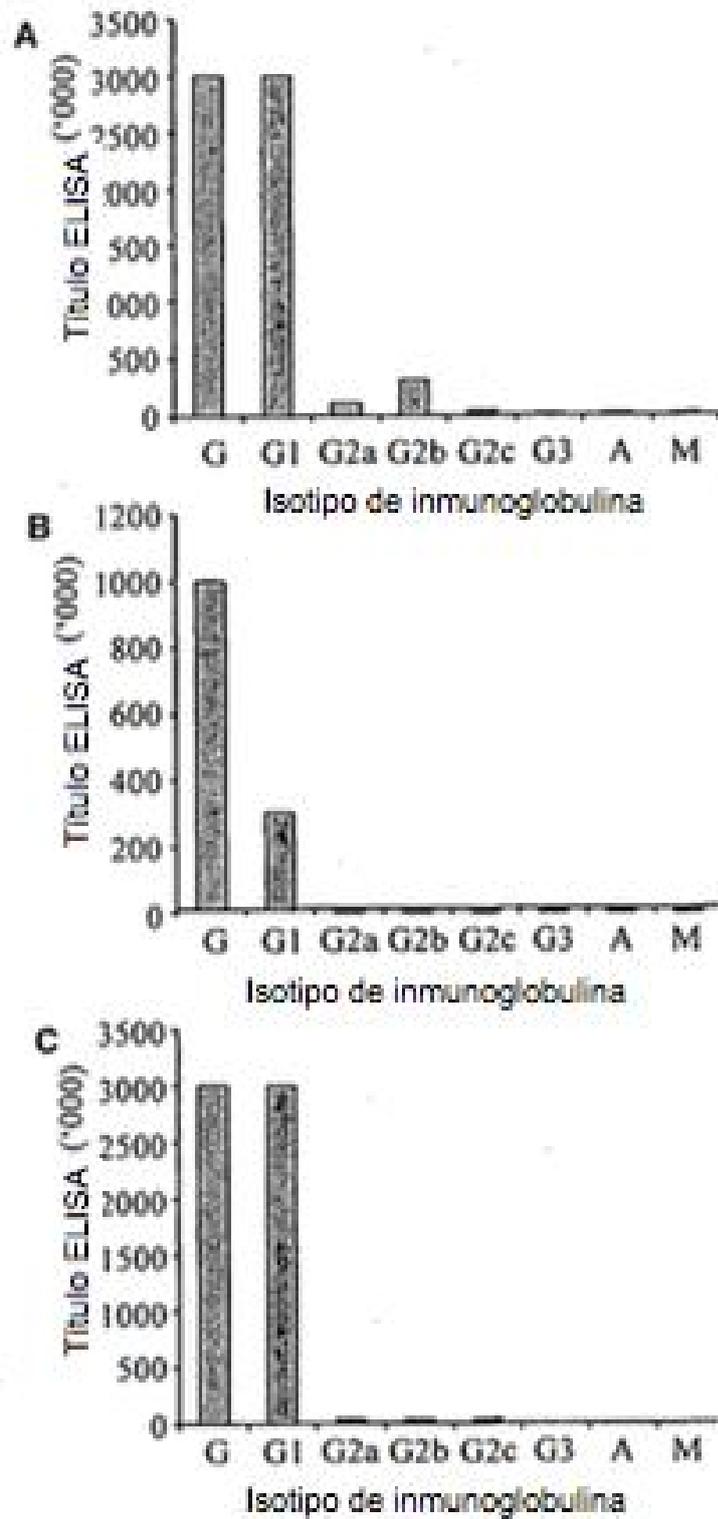


Fig.6

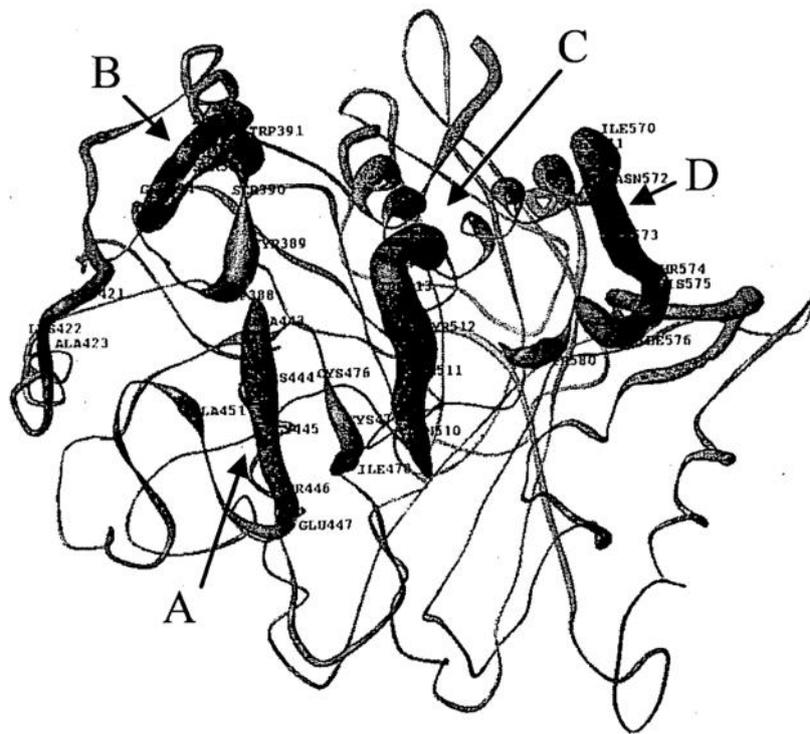


Fig. 7