

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 637 065**

51 Int. Cl.:

**C07K 14/22** (2006.01)

**C12N 15/62** (2006.01)

**A61K 39/095** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.11.2003** **E 10182503 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.05.2017** **EP 2261239**

54 Título: **Múltiples variantes de la proteína meningocócica NMB1870**

30 Prioridad:

**22.11.2002 GB 0227346**

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

**10.10.2017**

73 Titular/es:

**GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS SA (100.0%)**  
**Rue de l'Institut, 89**  
**1330 Rixensart, BE**

72 Inventor/es:

**COMANDUCCI, MAURIZIO y**  
**PIZZA, MARIAGRAZIA**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

**ES 2 637 065 T3**

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

## DESCRIPCIÓN

Múltiples variantes de la proteína meningocócica NMB1870

**Campo técnico**

5 La presente invención está en el campo de la vacunación y, en particular, vacunación contra enfermedades provocadas por bacterias patógenas en el género *Neisseria*, tales como *N.meningitidis* (meningococo).

**Antecedentes de la técnica**

10 La *Neisseria meningitidis* es una bacteria encapsulada Gram negativa que coloniza el tracto respiratorio superior de aproximadamente el 10 % de la población humana. Aproximadamente, una vez de cada 10.000 personas colonizadas (o una vez de cada 100.000 de la población) la bacteria entra en el torrente sanguíneo donde se multiplica y provoca septicemia. Desde el torrente sanguíneo la bacteria puede atravesar la barrera hematoencefálica y provocar meningitis. Ambas enfermedades son devastadoras y pueden ocasionar la muerte del 5-15 % de niños y adolescentes afectados al cabo de horas, a pesar de la disponibilidad de antibióticos eficaces. Hasta el 25 % de las personas que sobreviven tienen secuelas permanentes.

15 La prevención de la enfermedad se ha conseguido parcialmente mediante vacunación. La inmunización se hizo posible en 1969 cuando se descubrió que la protección de la enfermedad se correlacionaba con la presencia de anticuerpos de suero capaces de inducir destrucción de bacterias mediada por complemento, y que el polisacárido capsular purificado era capaz de inducir estos anticuerpos. Aunque se dispone de polisacáridos y de vacunas conjugadas contra los serogrupos A, C, W135 e Y, este enfoque no puede aplicarse al serogrupo B porque el polisacárido capsular es un polímero de ácido polisialico, que es un autoantígeno en seres humanos. Para desarrollar una vacuna contra el serogrupo B, se han usado proteínas expuestas en superficie contenidas en vesículas de membrana externa (VME). Estas vacunas inducen respuestas de anticuerpos bactericidas en suero y protegen contra la enfermedad, pero no consiguen inducir protección para distintas cepas [1].

20 La secuencia genómica completa de *N. meningitidis* del serogrupo B se ha publicado [2] y se ha sometido a análisis para identificar antígenos de vacuna [3]. También se conoce la secuencia genómica completa del serogrupo A de *N. meningitidis* [4], y está disponible la secuencia genómica completa de la cepa de *Neisseria gonorrhoeae* FA1090 [5]. Las referencias 6 a 9 desvelan proteínas de *Neisseria meningitidis* y *Neisseria gonorrhoeae* y se desvelan enfoques para la expresión de estas proteínas en las referencias 10 a 12.

Es un objeto de la invención proporcionar composiciones adicionales y mejoradas para proporcionar inmunidad contra enfermedad meningocócica y/o infección, particularmente para el serogrupo B.

**Divulgación de la invención**

30 Una de las ~2200 proteínas desveladas en la referencia 2 es "NMB1870". La proteína se desveló originalmente como proteína "741" de la cepa MC58 [SEQ ID 2535 y 2536 en ref. 8; SEQ ID 1 en el presente documento], y también se ha denominado "GNA1870" [siguiendo la ref. 3] o "ORF2086" [13].

35 Se ha descubierto ahora que NMB1870 es un antígeno extremadamente eficaz para inducir respuestas de anticuerpos antimeningocócicos, y que se expresa en todos los serogrupos meningocócicos. Se ha descubierto NMB 1870 en todas las cepas meningocócicas ensayadas hasta la fecha. Se han identificado 42 secuencias de NMB1870 meningocócicas diferentes, y se ha descubierto que estas secuencias se agrupan en tres variantes. Además, se ha descubierto que el suero inducido contra una variante dada es bactericida dentro del mismo grupo variante, pero no es activo contra cepas que expresan una de las otras dos variantes, es decir hay protección cruzada intravariante, pero no protección cruzada intervariante. Para máxima eficacia entre cepas, por lo tanto, debería usarse más de una variante para inmunizar a un paciente.

40 La invención proporciona por lo tanto una composición que comprende (a) una primera proteína que es capaz de inducir anticuerpos bactericidas, que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos  $a$  % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 24, y (b) una segunda proteína que es capaz de inducir anticuerpos bactericidas, que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos  $b$  % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 41; en la que las primera y segunda proteínas tienen menos de  $i$  % de identidad de secuencia entre sí. La composición también puede incluir (c) una tercera proteína que es capaz de inducir anticuerpos bactericidas, que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos  $c$  % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 33; en la que las primera, segunda y tercera proteínas tienen todas menos de  $i$  % de identidad de secuencia entre sí. Los valores de  $a$ ,  $b$ ,  $c$  e  $i$  se analizan posteriormente.

**Variabilidad en y entre (a), (b) y (c)**

El valor de  $a$  es al menos 85, por ejemplo 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 99,5 o más. El valor de  $b$  es al menos 85, por ejemplo 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 99,5 o más. El valor de  $c$  es al menos 85, por ejemplo 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 99,5 o más. Los valores de  $a$ ,  $b$  y  $c$  no

están intrínsecamente relacionados entre sí.

La proteína (a) tiene menos de  $i$  % de identidad de secuencia con la proteína (b). El valor de  $i$  es 75.

5 En una realización de dos proteínas de la invención, por lo tanto, la proteína (a) tiene >85 % de identidad de secuencia con SEQ ID 24, la proteína (b) tiene >85 % de identidad de secuencia con SEQ ID 41, pero la proteína (a) y (b) tienen menos del 75 % de identidad de secuencia entre sí. Las proteínas (a) y (b) están por lo tanto cada una estrechamente relacionadas con sus secuencias "prototipo", pero no están tan estrechamente relacionadas entre sí.

10 En un ejemplo de una realización de tres proteínas de la invención, por lo tanto, la proteína (a) podría tener >85 % de identidad de secuencia con SEQ ID 24, la proteína (b) podría tener > 85 % de identidad de secuencia con SEQ ID 33, la proteína (c) podría tener >85 % de identidad de secuencia con SEQ ID 41, pero la proteína (a) y (b) tienen menos de 75 % de identidad de secuencia entre sí, la proteína (a) y (c) tienen menos de 75 % de identidad de secuencia entre sí, y la proteína (b) y (c) tienen menos de 75 % de identidad de secuencia entre sí.

La mezcla de dos o más de (a), (b) y (c) pueden inducir preferentemente una respuesta de anticuerpo que es bactericida contra al menos una cepa de *N. meningitidis* de cada uno de al menos dos de los siguientes tres grupos de cepas:

- 15 (a) MC58, gb185 (=M01-240185), m4030, m2197, m2937, iss1001, NZ394/98, 67/00, 93/114, bz198, m1390, nge28, 1np17592, 00-241341, f6124, 205900, m198/172, bz133, gb149 (=M01-240149), nm008, nm092, 30/00, 39/99, 72/00, 95330, bz169, bz83, cu385, h44/76, m1590, m2934, m2969, m3370, m4215, m4318, n44/89, 14847.
- 20 (b) 961-5945, 2996, 96217, 312294, 11327, a22, gb013 (=M01-240013), e32, m1090, m4287, 860800, 599, 95N477, 90-18311, c11, m986, m2671, 1000, m1096, m3279, bz232, dk353, m3697, ngh38, L93/4286.
- (c) M1239, 16889, gb355 (=M01-240355), m3369, m3813, ngp165.

Por ejemplo, la mezcla puede inducir una respuesta bactericida eficaz contra cada una de las cepas de *N. meningitidis* de serogrupo B MC58, 961-5945 y M1239.

25 La mezcla de dos o más de (a), (b) y (c) puede inducir preferentemente una respuesta de anticuerpo que es bactericida contra al menos 50 % de las cepas de serogrupo B meningocócicas clínicamente relevantes (por ejemplo, al menos 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 % o más).

La mezcla de dos o más de (a), (b) y (c) puede inducir preferentemente una respuesta de anticuerpo que es bactericida contra las cepas de *N. meningitidis* de serogrupo B y cepas de al menos uno (por ejemplo 1, 2, 3, 4) de los serogrupos A, C, W135 e Y.

30 La mezcla de dos o más de (a), (b) y (c) puede inducir preferentemente una respuesta de anticuerpo que es bactericida contra cepas de *N. gonococcus* y/o *N. cinerea*.

La mezcla de dos o más de (a), (b) y (c) puede inducir preferentemente una respuesta de anticuerpo que es bactericida contra cepas de al menos dos de las tres ramas principales del dendrograma mostrado en la Figura 9 (es decir el dendrograma obtenido analizando SEQ ID 1 a 23 por el algoritmo de Kimura y Jukes-Cantor).

35 La mezcla de dos o más de (a), (b) y (c) puede inducir preferentemente una respuesta de anticuerpo que es bactericida contra cepas de *N. meningitidis* en al menos 2 (por ejemplo 2, 3, 4, 5, 6, 7) de los linajes hipervirulentos ET-37, ET-5, grupo A4, linaje 3, subgrupo I, subgrupo III y subgrupo IV-1 [14, 15].

Las composiciones de la invención pueden inducir adicionalmente respuestas de anticuerpos bactericidas contra uno o más linajes hiperinvasivos.

40 La mezcla de dos o más de (a), (b) y (c) puede inducir preferentemente una respuesta de anticuerpo que es bactericida contra cepas de *N. meningitidis* en al menos 2 (por ejemplo 2, 3, 4, 5, 6, 7) de los siguientes tipos de secuencia multilocus: ST1, ST4, ST5, ST8, ST11, ST32 y ST41 [16]. La mezcla también puede inducir una respuesta de anticuerpo que es bactericida contra las cepas ST44

45 Las respuestas de anticuerpos bactericidas se miden convenientemente en ratones y son un indicador convencional de la eficacia de la vacuna [por ejemplo véase nota final 14 de la referencia 3]. No es necesario que la composición induzca anticuerpos bactericidas contra todos y cada uno de la cepa MenB dentro de los linajes especificados o MLST; en su lugar, para cualquier grupo dado de cuatro o más cepas de meningococo de serogrupo B dentro de un linaje hipervirulento particular o MLST, los anticuerpos inducidos por la composición son bactericidas contra al menos 50 % (por ejemplo 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o más) del grupo. Los grupos preferidos de cepas incluirán cepas aisladas en al menos cuatro de los siguientes países: GB, AU, CA, NO, IT, US, NZ, NL, BR y CU. El suero tiene preferentemente un título bactericida de al menos 1024 (por ejemplo,  $2^{10}$ ,  $2^{11}$ ,  $2^{12}$ ,  $2^{13}$ ,  $2^{14}$ ,  $2^{15}$ ,  $2^{16}$ ,  $2^{17}$ ,  $2^{18}$  o más, preferentemente al menos  $2^{14}$ ) es decir el suero es capaz de matar al menos el 50 % de las bacterias de ensayo de una cepa particular cuando se diluye 1/1024, por ejemplo como se describe en la nota final 14 de la referencia 3.

50

**Lipoproteínas**

NMB1870 es de forma natural una lipoproteína en *N. meningitidis*. También se ha descubierto que está lipídada cuando se expresa en *E. coli*.

5 Se prefiere que una o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10) proteínas NMB1870 incluidas en las composiciones de la invención sean una lipoproteína.

10 Preferentemente, la lipoproteína tiene un resto de cisteína N terminal, al que se une covalentemente el lípido. Para preparar la lipoproteína mediante expresión bacteriana se requiere en general un péptido señal N terminal adecuado para dirigir la lipidación por diacilgliceril transferasa, seguido de escisión por SPasa específica de lipoproteína (tipo II). Aunque la lipoproteína de la invención puede tener una cisteína N terminal (por ejemplo SEQ ID 24 a 45), por lo tanto, será un producto de la modificación postraducciona de una proteína naciente que tiene la metionina N terminal habitual (por ejemplo SEQ ID 1 a 22).

La lipoproteína puede asociarse con una bicapa lipídica y puede solubilizarse con detergente.

**Secuencias**

15 Un subconjunto preferido de proteínas útil con la invención no incluye la secuencia de aminoácidos TRSKP (SEQ ID NO: 70) o TRSKPV (SEQ ID NO: 71) a una distancia de 10 aminoácidos del extremo N terminal de la proteína. Otro subconjunto preferido de proteínas no incluye la secuencia de aminoácidos PSEPPFG (SEQ ID NO: 72) a una distancia de 10 aminoácidos del extremo N terminal de la proteína.

Otro subconjunto preferido de proteínas para uso con la invención incluye la secuencia de aminoácidos (Gly)<sub>n</sub>, donde n es 1, 2, 3, 4 o más, por ejemplo SEQ ID NO: 73.

20 Una característica de las proteínas usadas con la invención es la capacidad de inducir anticuerpos antimeningocócicos bactericidas después de la administración a un animal huésped.

25 Las proteínas pueden prepararse por diversos medios, por ejemplo mediante síntesis química (al menos en parte), digiriendo polipéptidos más largos usando proteasas, mediante traducción a partir de ARN, mediante purificación a partir de cultivo celular (por ejemplo de expresión recombinante o de cultivo de *N. meningitidis*), etc. La expresión heteróloga en un hospedador de *E. coli* es una vía de expresión preferida (por ejemplo, las cepas DH5α, BL21(DE<sub>3</sub>), BLR, etc.).

Las proteínas de la invención pueden unirse o inmovilizarse en un soporte sólido.

Las proteínas de la invención pueden comprender un marcador detectable, por ejemplo un marcador radiactivo, un marcador fluorescente o un marcador de biotina. Esto es particularmente útil en técnicas de inmunoensayo.

30 Las proteínas pueden tomar diversas formas (por ejemplo, nativas, fusiones, glucosiladas, no glucosiladas, lipídadas, enlaces disulfuro, etc.). Las proteínas son preferentemente proteínas meningocócicas.

35 Las proteínas se preparan preferentemente en forma sustancialmente pura o sustancialmente aislada (es decir sustancialmente sin otras proteínas de células de *Neisseria* u hospedadoras) o forma sustancialmente aislada. En general, las proteínas se proporcionan en un ambiente de origen no natural, por ejemplo se separan de su ambiente de origen natural. En ciertas realizaciones, la proteína objeto está presente en una composición que está enriquecida con respecto a la proteína en comparación con un control. Como tal, se proporciona proteína purificada, entendiéndose por purificada que la proteína está presente en una composición que está sustancialmente libre de otras proteínas expresadas, entendiéndose por sustancialmente libre que menos del 90 %, habitualmente menos del 60 % y más habitualmente menos del 50 % de la composición está compuesta de otras proteínas expresadas.

40 El término "proteína" se refiere a polímeros de aminoácidos de cualquier longitud. El polímero puede ser lineal o ramificado, puede comprender aminoácidos modificados y puede estar interrumpido por no aminoácidos. Los términos también abarcan un polímero de aminoácidos que se ha modificado de forma natural o por intervención; por ejemplo, formación de enlaces disulfuro, glucosilación, lipidación, acetilación, fosforilación o cualquier otra manipulación o modificación, tal como conjugación con un componente de marcaje. También se incluyen dentro de  
45 la definición, por ejemplo, proteínas que contienen uno o más análogos de un aminoácido (incluyendo, por ejemplo, aminoácidos no naturales, etc.), así como otras modificaciones conocidas en la técnica. Las proteínas pueden producirse como cadenas individuales o cadenas asociadas.

**Proteínas híbridas y en tándem**

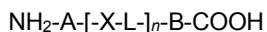
50 Como se ha mencionado anteriormente, NMB1870 puede usarse en forma de una proteína de fusión, aunque las proteínas también pueden expresarse de una forma distinta a una proteína de fusión (por ejemplo sin GST, MBP, marcador his o similares).

Las proteínas de fusión pueden tener un compañero de fusión C terminal y/o N terminal. Cuando se usa un

compañero de fusión N terminal con SEQ ID 1 a 23, el experto en la materia se dará cuenta de que el codón de inicio (si se incluye) se expresará como una valina, porque GTG se traduce como valina excepto cuando se usa como un codón de inicio, en cuyo caso se traduce como N-formil-metionina.

5 Los compañeros de fusión N terminales adecuados incluyen péptidos líderes de otras proteínas (particularmente otras lipoproteínas), que pueden sustituir los péptidos líder NMB1870 naturales (es decir la secuencia antes de la cisteína N terminal puede reemplazarse con otro péptido líder de interés). Son ejemplos las secuencias que comprenden SEQ ID 46, y la secuencia líder de lipoproteína P4 de *H. influenzae* [por ejemplo 17].

10 Un tipo preferido de proteína de fusión se desvela en las referencias 10, 11 y 12 en las que dos o más (por ejemplo, 3, 4, 5, 6 o más) proteínas de *Neisseria* se unen de modo que se traduzcan como una única cadena polipeptídica. En general, dichas proteínas híbridas pueden representarse por la fórmula:



15 en la que X es una secuencia de aminoácidos que comprende una secuencia de *Neisseria*, L es una secuencia de aminoácidos enlazadora opcional, A es una secuencia de aminoácidos N terminal opcional, B es una secuencia de aminoácidos C terminal opcional y  $n$  es un número entero mayor de 1. El valor de  $n$  es entre 2 y  $x$ , y el valor de  $x$  es típicamente 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10. Preferentemente  $n$  es 2, 3 o 4; es más preferentemente 2 o 3; más preferentemente,  $n = 2$ .

20 De acuerdo con la presente invención, al menos uno de los restos -X- es una secuencia de NMB1870 como se ha definido anteriormente. En algunas proteínas híbridas, denominadas proteínas "en tándem", al menos uno de los restos -X- tiene identidad de secuencia con al menos uno de los otros restos X, por ejemplo  $X_1$  es SEQ ID NO: 24 y  $X_2$  es una SEQ ID NO: 25. Se prefieren proteínas en las que dos o tres de los tres variantes de NMB1870 se unen como una proteína en tándem.

25 Para X restos distintos de  $X_1$ , se prefiere que el péptido líder nativo se omita, particularmente cuando  $X_1$  no es una secuencia de NMB1870. En una realización, los péptidos líder se suprimirán excepto por el del resto -X- localizado en el extremo N terminal de la proteína híbrida, es decir el péptido líder de  $X_1$  se conservará, pero los péptidos líderes de  $X_2 \dots X_n$  se omitirán. Esto es equivalente a suprimir todos los péptidos líder y a usar el péptido líder de  $X_1$  como resto -A-.

Las secuencias preferidas de NMB1870 para uso como restos -X- están truncadas hasta e incluyendo la secuencia de poliglicina halladas cerca del extremo N terminal maduro, por ejemplo la secuencia de NMB1870 comenzará VAA ... (o IAA ... para la cepa m3813). Dichas secuencias de NMB1870 incluyen SEQ ID NO: 80, 81 y 84.

30 Para cada  $n$  casos de  $[-\text{X-L-}]$ , la secuencia de aminoácidos enlazadora -L- puede estar presente o ausente. Por ejemplo, cuando  $n = 2$ , el híbrido puede ser  $\text{NH}_2\text{-X}_1\text{-L}_1\text{-X}_2\text{-L}_2\text{-COOH}$ ,  $\text{NH}_2\text{-X}_1\text{-X}_2\text{-COOH}$ ,  $\text{NH}_2\text{-X}_1\text{-L}_1\text{-X}_2\text{-COOH}$ ,  $\text{NH}_2\text{-X}_1\text{-X}_2\text{-L}_2\text{-COOH}$ , etc. La secuencia o las secuencias de aminoácidos de enlazadores -L- serán típicamente cortas (por ejemplo de 20 o menos aminoácidos es decir 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1). Los ejemplos incluyen secuencias peptídicas cortas que facilitan la clonación, enlazadores de poliglicina (es decir  $\text{Gly}_n$  donde  $n = 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10$  o más) y marcadores de histidina (es decir  $\text{His}_n$  donde  $n = 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10$  o más). Otras secuencias de aminoácidos enlazadoras adecuadas resultarán evidentes para los expertos en la técnica. Un enlazador útil es GSGGGG (SEQ ID NO: 144), formándose el dipéptido Gly-Ser a partir de un sitio de restricción *Bam*HI, ayudando de este modo a la clonación y manipulación, y el tetrapéptido  $\text{Gly}_4$  (SEQ ID NO: 73) es otro enlazador de poliglicina típico. Otro enlazador útil es SEQ ID NO: 78.

40 -A- es una secuencia de aminoácidos N terminal opcional. Esta será típicamente corta (por ejemplo de 40 o menos aminoácidos, es decir 39, 38, 37, 36, 35, 34, 33, 32, 31, 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1). Los ejemplos incluyen secuencias líder para dirigir el tráfico de proteínas, o secuencias peptídicas cortas que facilitan la clonación o purificación (por ejemplo marcadores de histidina, es decir  $\text{His}_n$ , donde  $n = 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10$  o más). Otras secuencias de aminoácidos N terminales adecuadas resultarán evidentes para los expertos en la materia. Si  $X_1$  carece de su propia metionina N terminal, -A- puede proporcionar dicho resto de metionina en la proteína traducida (por ejemplo -A- es un único resto de Met). Un resto -A- útil para expresar NMB1870 es SEQ ID NO: 86. En lipoproteínas maduras, -A- preferentemente proporciona una cisteína N terminal (por ejemplo -A- es un único resto de Cys).

50 -B- es una secuencia de aminoácidos C-terminal opcional. Esta será típicamente corta (por ejemplo 40 o menos aminoácidos, es decir 39, 38, 37, 36, 35, 34, 33, 32, 31, 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1). Los ejemplos incluyen secuencias para dirigir el tráfico de proteínas, secuencias peptídicas cortas que faciliten la clonación o purificación (por ejemplo que comprenden marcadores de histidina, es decir  $\text{His}_n$  donde  $n = 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10$  o más), o secuencias que potencian la estabilidad proteica. Otras secuencias de aminoácidos C terminales adecuadas resultarán evidentes para los expertos en la materia.

55 En proteínas híbridas preferidas de la invención, uno de los restos X es una secuencia de "proteína 936". Por ejemplo, cuando  $n = 2$ , A = Met,  $X_1$  es una secuencia 936 (por ejemplo SEQ ID NO: 76, que es la proteína MC58 procesada),  $L_1$  = enlazador de apoliglicina (por ejemplo SEQ ID NO: 144),  $X_2$  = secuencia de aNMB1870 en la que el

extremo N terminal se ha suprimido hasta e incluyendo su propia secuencia de poliglicina, y L<sub>2</sub> y B pueden omitirse. Un ejemplo de dicha proteína híbrida es SEQ ID NO: 77, en la que NMB1870 truncada de la cepa m1239 está cadena abajo de la 936 procesada de la cepa MC58. Son ejemplos adicionales de proteínas híbridas de 936 (cepas 2996) y NMB1870 truncada (cepas 2996 o M1239) SEQ ID NO: 91, 92, 93 y 94.

- 5 Las proteínas en tándem preferidas donde  $n = 3$  pueden tener las tres variantes de NMB1870 en cualquier orden:

X <sub>1</sub>	1	1	2	2	3	3
X <sub>2</sub>	2	3	1	3	1	2
X <sub>3</sub>	3	2	3	1	2	1

Las proteínas en tándem preferidas en las que  $n = 2$  pueden tener dos variantes de NMB1870 diferentes:

X <sub>1</sub>	1	1	2	2	3	3
X <sub>2</sub>	2	3	1	3	1	2

- 10 Son ejemplos de proteínas en tándem en las que  $n = 2$  (dos variantes de NMB1870 diferentes) SEQ ID NO: 79, 82, 83, 85, 87, 88, 89 y 90, que usan las cepas MC58 (variante 1), 2996 (variante 2) y M1239 (variante 3).

Un ejemplo de una proteína en tándem en la que  $n = 3$  se proporciona como SEQ ID NO: 142.

### Ácidos nucleicos

La invención proporciona un ácido nucleico que codifica una proteína de la invención como se ha definido anteriormente.

- 15 Los ácidos nucleicos de la invención pueden prepararse de muchas maneras, por ejemplo mediante síntesis química completamente o en parte, digiriendo polinucleótidos más largos usando nucleasas (por ejemplo enzimas de restricción), de bibliotecas genómicas o de ADNc, de la bacteria en sí misma, etc.

Los ácidos nucleicos de la invención pueden tomar diversas formas, por ejemplo, monocatenarios, bicatenarios, vectores, cebadores, sondas, marcados, no marcados, etc.

- 20 Los ácidos nucleicos de la invención están preferentemente en forma aislada o sustancialmente aislada.

La invención incluye ácido nucleico que comprende secuencias complementarias a las descritas anteriormente por ejemplo para antisentido o exploración, o para su uso como cebadores.

La expresión "ácido nucleico" incluye ADN y ARN, y también sus análogos, tales como los que contienen cadenas principales modificadas, y también ácidos nucleicos peptídicos (PNA), etc.

- 25 El ácido nucleico de acuerdo con la invención puede marcarse, por ejemplo con un marcador radiactivo o fluorescente. Esto es particularmente útil cuando el ácido nucleico va a usarse en técnicas de detección de ácido nucleico, por ejemplo, cuando el ácido nucleico es un cebador o como una sonda para su uso en técnicas tales como PCR, LCR, TMA, NASBA, etc.

- 30 La invención también proporciona vectores que comprenden secuencias de nucleótidos de la invención (por ejemplo vectores de clonación o expresión, tales como los adecuados para inmunización de ácido nucleico) y células hospedadoras transformadas con dichos vectores.

### Componentes antigénicos adicionales

- 35 Las composiciones de la invención incluyen un número pequeño (por ejemplo menos de  $t$  antígenos, donde  $t$  es 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4 o 3) de antígenos de serogrupo B purificados. Se prefiere particularmente que la composición no incluya mezclas complejas o no definidas de antígenos, por ejemplo se prefiere no incluir vesículas de membrana externa en la composición. Los antígenos se expresan preferentemente de forma recombinante en un hospedador heterólogo y después se purifican.

- 40 La composición de la invención incluye al menos dos proteínas NMB1870 diferentes. También puede incluir otro antígeno de *Neisseria*, ya que una vacuna que se dirige a más de un antígeno por bacteria reduce la posibilidad de seleccionar mutantes de escape. Los antígenos de *Neisseria* para inclusión en las composiciones incluyen proteínas que comprenden:

- (a) las SEQ ID pares de 446 (es decir, 2, 4, 6, ..., 890, 892) desveladas en la referencia 6.
- (b) las SEQ ID pares de 45 (es decir, 2, 4, 6, ..., 88, 90) desveladas en la referencia 7;
- (c) las SEQ ID pares de 1674 2-3020, las SEQ ID pares 3040-3114 y todas las SEQ ID 3115-3241, desveladas en la referencia 8;
- 5 (d) las secuencias de aminoácidos de 2160 NMB0001 a NMB2160 de la referencia 2;
- (e) una secuencia de aminoácidos desvelada en la referencia 10, 11 o 12;
- (f) una variante, un homólogo, un ortólogo, un parálogo, un mutante, etc. de (a) a (e); o
- (g) una vesícula de membrana externa preparada a partir de *N. meningitidis* [por ejemplo véase referencia 139].

Además de antígenos de *Neisseria*, la composición puede incluir antígenos para inmunizar contra otras enfermedades o infecciones. Por ejemplo, la composición puede incluir uno o más de los siguientes antígenos adicionales:

- antígenos de *Helicobacter pylori* tales como CagA [18 a 21], VacA [22, 23], NAP [24, 25, 26], HopX [por ejemplo 27], HopY [por ejemplo 27] y/o ureasa.
- un antígeno de sacárido de *N. meningitidis* serogrupo A, C, W135 y/o Y, tal como el oligosacárido desvelado en ref. 28 del serogrupo C [véase también ref. 29] o los oligosacáridos de ref. 30.
- 15 - un antígeno de sacárido de *Streptococcus pneumoniae* [por ejemplo 31, 32, 33].
- un antígeno del virus de la hepatitis A, tal como el virus inactivado [por ejemplo 34, 35].
- un antígeno del virus de la hepatitis B, tal como los antígenos de superficie y/o núcleo [por ejemplo 35, 36].
- un antígeno de difteria, tal como un toxoide de difteria [por ejemplo capítulo 3 de ref. 37] por ejemplo el mutante de CRM<sub>197</sub> [por ejemplo 38].
- 20 - un antígeno del tétanos, tal como un toxoide del tétanos [por ejemplo capítulo 4 de ref. 37].
- un antígeno de *Bordetella pertussis*, tal como holotoxina de pertussis (PT) y hemaglutinina filamentosa (FHA) de *B. pertussis*, opcionalmente también en combinación con pertactina y/o aglutinógenos 2 y 3 [por ejemplo ref. 39 y 40].
- 25 - un antígeno de sacárido de *Haemophilus influenzae* B [por ejemplo 29].
- un antígeno del virus de la hepatitis C [por ejemplo 41].
- un antígeno de *N. gonorrhoeae* [por ejemplo 6, 7, 8, 42].
- un antígeno de *Chlamydia pneumoniae* [por ejemplo ref. 43 a 49].
- un antígeno de *Chlamydia trachomatis* [por ejemplo 50].
- 30 - un antígeno de *Porphyromonas gingivalis* [por ejemplo 51].
- antígeno o antígenos de la polio [por ejemplo 52, 53] tales como IPV.
- antígeno o antígenos de la rabia [por ejemplo 54] tales como virus inactivado liofilizado [por ejemplo 55, RabAvert™].
- antígenos de sarampión, paperas y/o rubéola [por ejemplo capítulos 9, 10 y 11 de ref. 37].
- 35 - antígeno o antígenos de la gripe [por ejemplo capítulo 19 de ref. 37], tales como las proteínas de superficie de hemaglutinina y/o neuraminidasa.
- un antígeno de *Moraxella catarrhalis* [por ejemplo 56].
- un antígeno proteico de *Streptococcus agalactiae* (estreptococo del grupo B) [por ejemplo 57, 58].
- un antígeno de sacárido de *Streptococcus agalactiae* (estreptococo del grupo B).
- 40 - un antígeno de *Streptococcus pyogenes* (estreptococo del grupo A) [por ejemplo 58, 59, 60].
- un antígeno de *Staphylococcus aureus* [por ejemplo 61].
- un antígeno de *Bacillus anthracis* [por ejemplo 62, 63, 64].
- un antígeno de un virus de la familia de flaviviridae (género flavivirus), tal como de virus de la fiebre amarilla, virus de la encefalitis japonesa, cuatro serotipos de virus Dengue, virus de la encefalitis portada por garrapatas y virus del Nilo Occidental.
- 45 - un antígeno de pestivirus, tal como virus de la fiebre porcina clásica, virus de la diarrea vírica bovina y/o virus de la enfermedad de la frontera.
- un antígeno de parvovirus, por ejemplo de parvovirus B 19.
- una proteína priónica (por ejemplo la proteína priónica CJD)
- 50 - una proteína amiloide, tal como un péptido beta [65]
- un antígeno de cáncer, tal como los enumerados en la Tabla 1 de ref. 66 o en las tablas 3 y 4 de ref. 67

La composición puede comprender uno o más de estos antígenos adicionales.

Los antígenos proteicos tóxicos pueden destoxificarse cuando sea necesario (por ejemplo destoxificación de toxina pertussis por medios químicos y/o genéticos [40]).

55 Cuando se incluye un antígeno de difteria en la composición se prefiere también que incluya antígeno del tétanos y antígenos de pertussis. De forma similar, cuando se incluye un antígeno del tétanos se prefiere también que incluya antígenos de difteria y pertussis. De forma similar, cuando se incluye un antígeno de pertussis se prefiere también incluir antígenos de difteria y tétanos. Se prefieren por lo tanto combinaciones DTP.

60 Los antígenos de sacáridos están preferentemente en forma de conjugados. Las proteínas vehículo para los conjugados incluyen la proteína de la membrana externa de *N. meningitidis* [68], péptidos sintéticos [69, 70], proteínas de choque térmico [71, 72], proteínas de pertussis [73,74], proteína D de *H. influenzae* [75], citocinas [76],

linfocinas [76], proteínas estreptocócicas, hormonas [76], factores de crecimiento [76], toxina A o B de *C. difficile* [77], proteínas de captación de hierro [78], etc. Una proteína vehículo preferida es el toxoide de la difteria CRM197 [79].

- 5 Estarán presentes típicamente antígenos en la composición a una concentración de al menos 1 µg/ml cada uno. En general, la concentración de cualquier antígeno dado será suficiente para inducir una respuesta inmunitaria contra ese antígeno.

Las composiciones inmunogénicas de la invención pueden usarse de forma terapéutica (es decir para tratar una infección existente) o profiláctica (es decir para prevenir infección futura).

- 10 Como alternativa al uso de antígenos proteicos en las composiciones inmunogénicas de la invención, puede usarse ácido nucleico (preferentemente ADN, por ejemplo, en forma de un plásmido) que codifica el antígeno.

Las composiciones particularmente preferidas de la invención incluyen uno, dos o tres de: (a) antígenos de sacáridos de serogrupos de meningococo Y, W135, C y (opcionalmente) A; (B) un antígeno de sacárido de *Haemophilus influenzae* tipo B; y/o (c) un antígeno de *Streptococcus pneumoniae*.

Serogrupos de meningococo Y, W135, C y (opcionalmente) A

- 15 Se han conocido durante muchos años vacunas de polisacáridos contra los serogrupos A, C, W135 e Y. Estas vacunas (MENCEVAX ACWY™ y MENOMUNE™) se basan en los polisacáridos capsulares de los organismos y, aunque son eficaces en adolescentes y adultos, proporcionan una respuesta inmunitaria escasa y protección de corta duración, y no pueden usarse en niños.

- 20 A diferencia de los antígenos polisacáridos no conjugados en estas vacunas, las vacunas del serogrupo C recientemente aprobadas (Menjugate™ [80,28], Meningitec™ y NeisVac-C™) incluyen sacáridos conjugados. Menjugate™ y Meningitec™ tienen antígenos oligosacáridos conjugados con un vehículo de CRM<sub>197</sub>, mientras que NeisVac-C™ usa el polisacárido completo (des-O-acetilado) conjugado con un vehículo de toxoide del tétanos. La vacuna MenActra™ propuesta contiene antígenos de sacáridos capsulares conjugados de cada uno de los serogrupos Y, W135, C y A.

- 25 Las composiciones de la presente invención preferentemente incluyen antígenos de sacáridos capsulares de uno o más de los serogrupos de meningococo Y, W135, C y (opcionalmente) A, en los que los antígenos se conjugan con una proteína o proteínas vehículos y/o son oligosacáridos. Por ejemplo, la composición puede incluir un antígeno de sacárido capsular de: serogrupo C; serogrupos A y C; serogrupos A, C y W135; serogrupos A, C e Y; serogrupos C, W135 e Y; o de los cuatro serogrupos A, C, W135 e Y.

- 30 Una cantidad típica de cada antígeno de sacárido meningocócico por dosis es de entre 1 µg y 20 µg, por ejemplo de aproximadamente 1 µg, aproximadamente 2,5 µg, aproximadamente 4 µg, aproximadamente 5 µg o aproximadamente 10 µg (expresado como sacárido).

- 35 Cuando una mezcla comprende sacáridos capsulares de ambos serogrupos A y C, la relación (p/p) de sacárido MenA:sacárido MenC puede ser mayor de 1 (por ejemplo 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 10:1 o mayor). Cuando una mezcla comprende sacáridos capsulares del serogrupo Y y uno o ambos de los serogrupos C y W135, la relación (p/p) de sacárido MenY:sacárido MenW135 puede ser mayor de 1 (por ejemplo 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 10:1 o mayor) y/o que la relación (p/p) de sacárido MenY:sacárido MenC puede ser menor de 1 (por ejemplo 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, o menor). Son relaciones preferidas (p/p) para sacáridos de serogrupos A:C:W135:Y: 1:1:1:1; 1:1:1:2; 2:1:1:1; 4:2:1:1; 8:4:2:1; 4:2:1:2; 8:4:1:2; 4:2:2:1; 2:2:1:1; 4:4:2:1; 2:2:1:2; 4:4:1:2 y 2:2:2:1. Son relaciones preferidas (p/p) para sacáridos de serogrupos C:W135:Y: 1:1:1; 1:1:2; 1:1:1; 2:1:1; 4:2:1; 2:1:2; 4:1:2; 2:2:1 y 2:1:1. Se prefiere usar una masa sustancialmente igual de cada sacárido.

- 40 Se usarán en general sacáridos capsulares en forma de oligosacáridos. Estos se forman convenientemente por fragmentación de polisacárido capsular purificado (por ejemplo mediante hidrólisis), que habitualmente se seguirá de purificación de los fragmentos del tamaño deseado.

- 45 Se realiza preferentemente fragmentación de polisacáridos para proporcionar un grado promedio final de polimerización (DP) en el oligosacárido de menos de 30 (por ejemplo entre 10 y 20, preferentemente aproximadamente 10 para el serogrupo A, entre 15 y 25 para los serogrupos W135 e Y, preferentemente aproximadamente 15-20; entre 12 y 22 para el serogrupo C; etc.). Puede medirse el DP convenientemente mediante cromatografía de intercambio iónico o mediante ensayos colorimétricos [81].

- 50 Si se realiza hidrólisis, el tamaño del hidrolizado se elegirá en general para retirar oligosacáridos de longitud corta [29]. Esto puede conseguirse de diversas maneras, tal como ultrafiltración seguida de cromatografía de intercambio iónico. Se retiran preferentemente oligosacáridos con un grado de polimerización de menos de o igual a aproximadamente 6 para el serogrupo A y los de menos de aproximadamente 4 se retiran preferentemente para los serogrupos W135 e Y.



Se desvelan antígenos de sacáridos MenC preferidos en la referencia 80, como se usa en Menjugate™.

El antígeno de sacárido puede modificarse químicamente. Esto es particularmente útil para reducir la hidrólisis para el serogrupo A [82; véase posteriormente]. Puede realizarse des-O-acetilación de sacáridos meningocócicos. Para oligosacáridos, la modificación puede tener lugar antes o después de la despolimerización.

- 5 Cuando una composición de la invención incluye un antígeno de sacárido MenA, el antígeno es preferentemente un sacárido modificado en el que uno o más de los grupos hidroxilo en el sacárido nativo se han reemplazado por un grupo de bloqueo [82]. Esta modificación mejora la resistencia a la hidrólisis.

10 El número de unidades de monosacáridos que tienen grupos de bloqueo puede variar. Por ejemplo, todas o sustancialmente todas las unidades de monosacáridos pueden tener grupos de bloqueo. Como alternativa, al menos el 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 % o 90 % de las unidades de monosacáridos pueden tener grupos de bloqueo. Al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 o 30 unidades de monosacáridos pueden tener grupos de bloqueo.

15 De forma similar, el número de grupos de bloqueo en una unidad de monosacárido puede variar. Por ejemplo, el número de grupos de bloqueo en una unidad de monosacárido puede ser 1 o 2. El grupo de bloqueo estará en general en la posición 4 y/o la posición 3 de las unidades de monosacáridos.

20 La unidad de monosacárido terminal puede tener o no un grupo de bloqueo en lugar de su hidroxilo nativo. Se prefiere conservar un grupo hidroxilo anomérico libre en una unidad de monosacárido terminal para proporcionar un punto de conexión para reacciones posteriores (por ejemplo conjugación). Los grupos hidroxilo anoméricos pueden convertirse en grupos amino (-NH<sub>2</sub> o -NH-E, donde E es un grupo protector de nitrógeno) mediante aminación reductora (usando, por ejemplo, NaBH<sub>3</sub>CN/NH<sub>4</sub>Cl), y pueden después regenerarse después de haberse convertido otros grupos de hidroxilo en grupos de bloqueo.

25 Los grupos de bloqueo para reemplazar grupos hidroxilo pueden ser accesibles directamente mediante una reacción de derivatización del grupo hidroxilo, es decir reemplazando el átomo de hidrógeno del grupo hidroxilo con otro grupo. Los derivados adecuados de grupos hidroxilo que actúan como grupos de bloqueo son, por ejemplo, carbamatos, sulfonatos, carbonatos, ésteres, éteres (por ejemplo, silil éteres o alquil éteres) y acetales. Algunos ejemplos específicos de dichos grupos de bloqueo son alilo, Aloc, bencilo, BOM, t-butilo, trilito, TBS, TBDPS, TES, TMS, TIPS, PMB, MEM, MOM, MTM, THP, etc. Otros grupos de bloqueo que no son directamente accesibles y que reemplazan completamente el grupo hidroxilo incluyen alquilo C<sub>1-12</sub>, alquilo C<sub>3-12</sub>, arilo C<sub>5-12</sub>, arilo C<sub>5-12</sub>-alquilo C<sub>1-6</sub>, NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup> (R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se definen en el siguiente párrafo), H, F, Cl, Br, CO<sub>2</sub>H, CO<sub>2</sub>(alquilo C<sub>1-6</sub>), CN, CF<sub>3</sub>, CCl<sub>3</sub>, etc. Son grupos de bloqueo preferidos los grupos que retiran electrones.

30 Son grupos de bloqueo preferidos los de la fórmula: -O-X-Y u -OR<sup>3</sup> en la que: X es C(O), S(O) o SO<sub>2</sub>; Y es alquilo C<sub>1-12</sub>, alcoxi C<sub>1-12</sub>, cicloalquilo C<sub>3-12</sub>, arilo C<sub>5-12</sub> o arilo C<sub>5-12</sub>-alquilo C<sub>1-6</sub>, cada uno de los cuales puede sustituirse opcionalmente con 1, 2 o 3 grupos seleccionados de forma independiente de F, Cl, Br, CO<sub>2</sub>H, CO<sub>2</sub>(alquilo C<sub>1-6</sub>), CN, CF<sub>3</sub> o CCl<sub>3</sub>; o Y es NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>; R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se seleccionan independientemente de H, alquilo C<sub>1-12</sub>, cicloalquilo C<sub>3-12</sub>, arilo C<sub>5-12</sub>, arilo C<sub>5-12</sub>-alquilo C<sub>1-6</sub>; o R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> pueden unirse para formar un grupo heterocíclico saturado C<sub>3-12</sub>; R<sup>3</sup> es alquilo C<sub>1-12</sub> o cicloalquilo C<sub>3-12</sub>, cada uno de los cuales puede sustituirse opcionalmente con 1, 2 o 3 grupos seleccionados de forma independiente de F, Cl, Br, CO<sub>2</sub>(alquilo C<sub>1-6</sub>), CN, CF<sub>3</sub> o CCl<sub>3</sub>; o R<sup>3</sup> es arilo C<sub>5-12</sub> o arilo C<sub>5-12</sub>-alquilo C<sub>1-6</sub>, cada uno de los cuales puede sustituirse opcionalmente con 1, 2, 3, 4 o 5 grupos seleccionados de F, Cl, Br, CO<sub>2</sub>H, CO<sub>2</sub>(alquilo C<sub>1-6</sub>), CN, CF<sub>3</sub> o CCl<sub>3</sub>. Cuando R<sup>3</sup> es alquilo C<sub>1-12</sub> o cicloalquilo C<sub>3-12</sub>, este se sustituye típicamente con 1, 2 o 3 grupos como se ha definido anteriormente. Cuando se unen R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> para formar un grupo heterocíclico saturado C<sub>3-12</sub>, se entiende que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> junto con el átomo de nitrógeno forman un grupo heterocíclico saturado que contiene cualquier número de átomos de carbono entre 3 y 12 (por ejemplo C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub>, C<sub>6</sub>, C<sub>7</sub>, C<sub>8</sub>, C<sub>9</sub>, C<sub>10</sub>, C<sub>11</sub>, C<sub>12</sub>). El grupo heterocíclico puede contener 1 o 2 heteroátomos (tales como N, O o S) distintos del átomo de nitrógeno. Son ejemplos de grupos heterocíclicos saturados C<sub>3-12</sub> pirrolidinilo, piperidinilo, morfolinilo, piperazinilo, imidazolidinilo, acetidinilo y aziridinilo.

Los grupos de bloqueo -O-X-Y y -OR<sup>3</sup> pueden prepararse a partir de grupos -OH por procedimientos de derivatización convencionales, tales como reacción del grupo hidroxilo con un acil haluro, alquil haluro, sulfonyl haluro, etc. Por lo tanto, el átomo de oxígeno en -O-X-Y es preferentemente el átomo de oxígeno del grupo hidroxilo, mientras que el grupo -X-Y en -O-X-Y reemplaza preferentemente el átomo de hidrógeno del grupo hidroxilo.

50 Como alternativa, los grupos de bloqueo pueden ser accesibles mediante una reacción de sustitución, tal como una sustitución de tipo Mitsunobu. Se conocen bien estos y otros procedimientos de preparación de grupos de bloqueo a partir de grupos hidroxilo.

Más preferentemente, el grupo de bloqueo es -OC(O)CF<sub>3</sub> [83], o un grupo carbamato -OC(O)NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>, donde R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se seleccionan independientemente de alquilo C<sub>1-6</sub>. Más preferentemente, R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son ambos metilo, es decir el grupo de bloqueo es -OC(O)NMe<sub>2</sub>. Los grupos de bloqueo de carbamato tienen un efecto estabilizante en el enlace glucosídico y pueden prepararse en condiciones suaves.

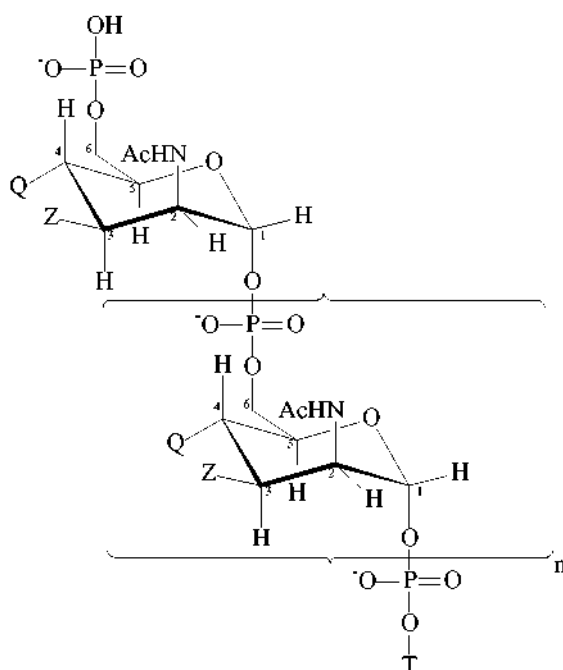
Los sacáridos MenA modificados preferidos contienen *n* unidades de monosacáridos, donde al menos *h* % de las

unidades de monosacáridos no tienen grupos -OH en las posiciones tanto 3 como 4. El valor de  $h$  es 24 o más (por ejemplo, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 98, 99 o 100) y es preferentemente 50 o más. Los grupos -OH ausentes son preferentemente grupos de bloqueo como se ha definido anteriormente.

5 Otros sacáridos MenA modificados preferidos comprenden unidades de monosacáridos, en los que al menos  $s$  de las unidades de monosacáridos no tienen -OH en la posición 3 y no tienen -OH en la posición 4. El valor de  $s$  es de al menos 1 (por ejemplo 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90). Los grupos -OH ausentes son preferentemente grupos de bloqueo como se ha definido anteriormente.

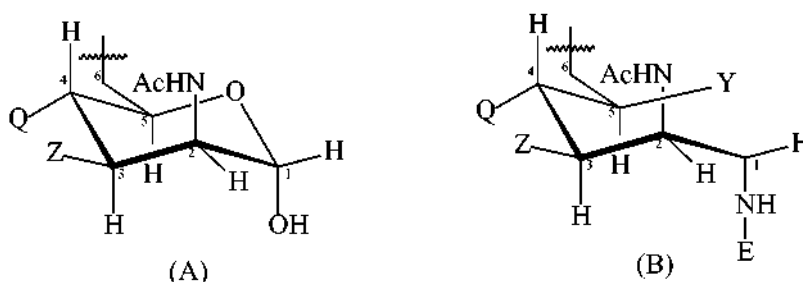
Los sacáridos MenA modificados adecuados para su uso con la invención tienen la fórmula:

10



en la que

$n$  es un número entero de 1 a 100 (preferentemente un número entero de 15 a 25);  
T es de la formula (A) o (B):



15

20 cada grupo Z se selecciona de forma independiente de OH o un grupo de bloqueo como se ha definido anteriormente;  
cada grupo Q se selecciona de forma independiente de OH o un grupo de bloqueo como se ha definido anteriormente;  
Y se selecciona de OH o un grupo de bloqueo como se ha definido anteriormente;  
E es H o un grupo protector de nitrógeno;

y en la que más de aproximadamente el 7 % (por ejemplo, 8 %, 9 %, 10 % o más) de los grupos Q son grupos de bloqueo.

25 Cada uno de los  $n + 2$  grupos Z pueden ser iguales o diferentes entre sí. De forma similar, cada uno de los  $n + 2$  grupos Q pueden ser iguales o diferentes entre sí. Todos los grupos Z pueden ser OH. Como alternativa, al menos

10 %, 20, 30 %, 40 %, 50 % o 60 % de los grupos Z pueden ser OAc. Preferentemente, aproximadamente el 70 % de los grupos Z son OAc, siendo el resto de los grupos Z OH o grupos de bloqueo como se ha definido anteriormente. Al menos aproximadamente 7 % de los grupos Q son grupos de bloqueo. Preferentemente, al menos 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o incluso 100 % de los grupos Q son grupos de bloqueo.

5 Los polisacáridos capsulares meningocócicos se preparan típicamente por un procedimiento que comprende las etapas de precipitación de polisacáridos (por ejemplo usando un detergente catiónico), fraccionamiento de etanol, extracción de fenol en frío (para retirar proteínas) y ultracentrifugación (para retirar LPS) [por ejemplo ref. 84]. Un procedimiento más preferido [30], sin embargo, implica precipitación de polisacárido seguida de solubilización del polisacárido precipitado usando un alcohol inferior. La precipitación puede realizarse usando un detergente catiónico tal como sales de tetrabutilamonio y cetiltrimetilamonio (por ejemplo, las sales de bromuro), o bromuro de hexadimetrina y sales de miristiltrimetilamonio. Se prefiere en particular bromuro de cetiltrimetilamonio ("CTAB") [85].  
 10 Puede conseguirse solubilización del material precipitado usando un alcohol inferior tal como metanol, propan-1-ol, propan-2-ol, butan-1-ol, butan-2-ol, 2-metil-propan-1-ol, 2-metil-propan-2-ol, dioles, etc., pero el etanol es particularmente adecuado para solubilizar complejos de CTAB-polisacárido. Se añade preferentemente etanol al polisacárido precipitado para proporcionar una concentración final (basada en el contenido total de etanol y agua) de entre 50 % y 95 %.

Después de la resolubilización, el polisacárido puede tratarse adicionalmente para retirar contaminantes. Esto es particularmente importante en situaciones en las que no es aceptable una contaminación incluso mínima (por ejemplo para producción de vacunas humanas). Esto implicará típicamente una o más etapas de filtración, por ejemplo, puede usarse filtración profunda, filtración mediante carbono activado, filtración por tamaño y/o ultrafiltración. Una vez filtrado para retirar los contaminantes, el polisacárido puede precipitarse para tratamiento y/o procesamiento adicional. Esto puede conseguirse convenientemente intercambiando cationes (por ejemplo mediante la adición de sales de calcio o sodio).

20 Como alternativa a la purificación, pueden obtenerse sacáridos capsulares de la presente invención por síntesis total o parcial, por ejemplo se desvela síntesis de Hib en ref. 86, y síntesis de MenA en ref. 87.

Las composiciones de la invención comprenden sacáridos capsulares de al menos dos serogrupos de *N. meningitidis*. Los sacáridos se preparan preferentemente por separado (incluyendo cualquier fragmentación, conjugación, modificación, etc.) y después se mezclan para proporcionar una composición de la invención.

30 Cuando la composición comprende sacárido capsular del serogrupo A, sin embargo, se prefiere que el sacárido del serogrupo A no se combine con el otro sacárido o los otros sacáridos hasta poco antes de su uso, para minimizar el potencial de hidrólisis. Esto puede conseguirse convenientemente teniendo el componente del serogrupo A (típicamente junto con excipientes apropiados) en forma liofilizada y el componente o los componentes del otro serogrupo en forma líquida (también con excipientes apropiados), usándose los componentes líquidos para reconstituir el componente de MenA liofilizado cuando esté listo para su uso. Cuando se usa un adyuvante de sal de aluminio, se prefiere incluir el adyuvante en el vial que contiene la vacuna líquida, y liofilizar el componente de MenA sin adyuvante.

Una composición de la invención puede por lo tanto prepararse a partir de un kit que comprende: (a) sacárido capsular de serogrupo A de *N. meningitidis*, en forma liofilizada; y (b) los antígenos adicionales de la composición, en forma líquida. La invención también proporciona un procedimiento para preparar una composición de la invención, que comprende mezclar un sacárido capsular liofilizado del serogrupo A de *N. meningitidis* con los antígenos adicionales, en el que dichos antígenos adicionales están en forma líquida.

40 La invención también proporciona un kit que comprende: (a) un primer recipiente que contiene sacáridos capsulares de dos o más de los serogrupos de *N. meningitidis* C, W135 e Y, todos en forma liofilizada; y (b) un segundo recipiente que contiene en forma líquida (i) una composición que, después de la administración a un sujeto, es capaz de inducir una respuesta de anticuerpos en ese sujeto, en el que la respuesta de anticuerpo es bactericida contra dos o más (por ejemplo 2 o 3) de los linajes hipervirulentos A4, ET-5 y el linaje 3 del serogrupo B de *N. meningitidis*, (ii) sacáridos capsulares de ninguno o uno de los serogrupos de *N. meningitidis* C, W135 e Y, y opcionalmente (iii) antígenos adicionales (véase posteriormente) que no incluyen sacáridos capsulares meningocócicos, en el que la reconstitución de los contenidos del recipiente (a) por los contenidos del recipiente (b) proporciona una composición de la invención.

Dentro de cada dosis, la cantidad de un antígeno de sacárido individual generalmente será de entre 1-50 µg (medido como masa de sacárido), prefiriéndose aproximadamente 2,5 µg, 5 µg o 10 µg de cada uno. Con relaciones en peso de A:C:W135:Y de 1:1:1:1; 1:1:1:2; 2:1:1:1; 4:2:1:1; 8:4:2:1; 4:2:1:2; 8:4:1:2; 4:2:2:1; 2:2:1:1; 4:4:2:1; 2:2:1:2; 4:4:1:2 y 2:2:2:1, por lo tanto, la cantidad representada por el número 1 es preferentemente de aproximadamente 2,5 µg, 5 µg o 10 µg. Para una relación 1:1:1:1 de composición de A:C:W:Y y 10 µg por sacárido, por lo tanto, se administran 40 µg de sacárido por dosis. Las composiciones preferidas tienen aproximadamente los siguientes µg de sacárido por dosis:

A	10	0	0	0	10	5	2,5
C	10	10	5	2,5	5	5	2,5
W135	10	10	5	2,5	5	5	2,5
Y	10	10	5	2,5	5	5	2,5

- Las composiciones preferidas de la invención comprenden menos de 50 µg de sacárido meningocócico por dosis. Otras composiciones preferidas comprenden ≤40 µg de sacárido meningocócico por dosis. Otras composiciones preferidas comprenden ≤30 µg de sacárido meningocócico por dosis. Otras composiciones preferidas comprenden ≤25 µg de sacárido meningocócico por dosis. Otras composiciones preferidas comprenden <20 µg de sacárido meningocócico por dosis. Otras composiciones preferidas comprenden ≤10 µg de sacárido meningocócico por dosis, pero idealmente, las composiciones de la invención comprenden al menos 10 µg de sacárido meningocócico por dosis.
- 10 Los conjugados de MenC Menjugate™ y NeisVac™ usan un adyuvante de hidróxido, mientras que Meningitec™ usa un fosfato. Es posible en composiciones de la invención adsorber algunos antígenos en un hidróxido de aluminio pero teniendo otros antígenos en asociación con un fosfato de aluminio. Para combinaciones de serogrupos tetravalentes, por ejemplo, están disponibles las siguientes permutaciones:

Serogrupo	Sal de aluminio (H = un hidroxilo; P = un fosfato)															
A	P	H	P	H	H	H	P	P	P	H	H	H	P	P	P	H
C	P	H	H	P	H	H	P	H	H	P	P	H	P	H	P	P
W135	P	H	H	H	P	H	H	P	H	H	P	P	P	P	H	P
Y	P	H	H	H	H	P	H	H	P	P	H	P	H	P	P	P

- 15 Para combinaciones de serogrupos de *N. meningitidis* trivalentes, están disponibles las siguientes permutaciones:

Serogrupo	Sal de aluminio (H = un hidróxido; P = un fosfato)							
C	P	H	H	H	P	P	P	H
W135	P	H	H	P	H	P	H	P
Y	P	H	P	H	H	H	P	P

Haemophilus influenzae tipo B

Cuando la composición incluye un antígeno de *H. influenzae* de tipo B, este será típicamente un antígeno de sacárido capsular Hib. Se conocen bien antígenos de sacáridos de *H. influenzae* b.

- 20 Provechosamente, el sacárido Hib está conjugado covalentemente con una proteína vehículo, para potenciar su inmunogenicidad, especialmente en niños. La preparación de conjugados de polisacáridos en general, y del polisacárido capsular Hib en particular, está bien documentada [por ejemplo referencias 88 a 96, etc.]. La invención puede usar cualquier conjugado de Hib adecuado. Se describen posteriormente proteínas vehículos adecuadas, y son vehículos preferidos para sacáridos Hib CRM197 (“HbOC”), toxoide del tétanos (“PRP-T”) y el complejo de membrana externa de *N. meningitidis* (“PRP-OMP”).
- 25 El resto de sacárido del conjugado puede ser un polisacárido (por ejemplo polirribosilribitol fosfato (PRP) de longitud completa), pero se prefiere hidrolizar polisacáridos para formar oligosacáridos (por ejemplo PM de ~1 a ~5 kDa).

Un conjugado preferido comprende un oligosacárido Hib unido covalentemente con CRM<sub>197</sub> mediante un enlazador de ácido adipico [97, 98]. El toxoide del tétanos también es un vehículo preferido.

- 30 Las composiciones de la invención pueden comprender más de un antígeno Hib.
- Cuando una composición incluye un antígeno de sacárido Hib, se prefiere que no incluya también un adyuvante de

hidróxido de aluminio. Si la composición incluye un adyuvante de fosfato de aluminio entonces el antígeno Hib puede adsorberse en el adyuvante [99] o puede no estar adsorbido [100].

Los antígenos Hib pueden liofilizarse, por ejemplo junto con antígenos meningocócicos.

#### *Streptococcus pneumoniae*

5 Cuando la composición incluye un antígeno de *S. pneumoniae*, este será típicamente un antígeno de sacárido capsular que se conjuga preferentemente con una proteína vehículo [por ejemplo referencias 31 - 33]. Se prefiere incluir sacáridos de más de un serotipo de *S. pneumoniae*. Por ejemplo, se usan ampliamente mezclas de polisacáridos de 23 serotipos diferentes, así como vacunas conjugadas con polisacáridos de entre 5 y 11 serotipos diferentes [101]. Por ejemplo, PrevNar™ [102] contiene antígenos de siete serotipos (4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F y 23F) con cada sacárido conjugado individualmente con CRM<sub>197</sub> por aminación reductora, con 2 µg de cada sacárido por cada 0,5 ml de dosis (4 µg de serotipo 6B), y con conjugados adsorbidos en un adyuvante de fosfato de aluminio. Las composiciones de la invención incluyen preferentemente al menos los serotipos 6B, 14, 19F y 23F. Los conjugados pueden adsorberse en un fosfato de aluminio.

15 Como una alternativa al uso de antígenos de sacáridos de neumococos, la composición puede incluir uno o más antígenos polipeptídicos. Están disponibles secuencias genómicas para varias cepas de neumococos [103, 104] y pueden someterse a vacunología inversa [105-108] para identificar antígenos polipeptídicos adecuados [109, 110]. Por ejemplo, la posición puede incluir uno o más de los siguientes antígenos: PhtA, PhtD, PhtB, PhtE, SpsA, LytB, LytC, LytA, Sp125, Sp101, Sp128 y Sp130, como se define en la referencia 111.

20 En algunas realizaciones, la composición puede incluir antígenos tanto de sacáridos como polipéptidos de neumococos. Estos pueden usarse en mezcla sencilla, o el antígeno de sacárido de neumococo puede conjugarse con una proteína neumocócica. Las proteínas vehículo adecuadas para dichas realizaciones incluyen los antígenos enumerados en el párrafo anterior [111].

Los antígenos neumocócicos pueden estar liofilizados, por ejemplo junto con antígenos meningocócicos y/o Hib.

#### Conjugación covalente

25 Los sacáridos capsulares en composiciones de la invención habitualmente estarán conjugados con proteína o proteínas vehículo. En general, la conjugación potencia la inmunogenicidad de sacáridos ya que los convierte de antígenos independientes de T a antígenos dependientes de T, permitiendo de este modo la sensibilización para memoria inmunológica. La conjugación es particularmente útil para vacunas pediátricas y es una técnica bien conocida [por ejemplo revisada en ref. 112 y 88-96].

30 Son proteínas vehículo preferidas toxinas o toxoides bacterianos, tales como toxoide de la difteria o toxoide del tétanos. Se prefiere en particular la toxina de la difteria mutante CRM197 [79, 113, 114]. Otras proteínas vehículo adecuadas incluyen la proteína de membrana externa de *N. meningitidis* [68], péptidos sintéticos [69,70], proteínas de choque térmico [71,72], proteínas de pertussis [73,74], citocinas [76], linfocinas [76], hormonas [76], factores de crecimiento [76], proteínas artificiales que comprenden múltiples epítopos de linfocitos T CD4<sup>+</sup> humanos de diversos antígenos derivados de patógenos [115], proteína D de *H. influenzae* [75,116], proteína de superficie neumocócica PspA [117], proteínas de captación de hierro [78], toxina A o B de *C. difficile* [77], etc. Son vehículos preferidos toxoide de la difteria, toxoide del tétanos, proteína D de *H. influenzae* y CRM<sub>197</sub>.

40 Dentro de una composición de la invención, es posible usar más de una proteína vehículo para por ejemplo reducir el riesgo de supresión de vehículo. Por lo tanto pueden usarse diferentes proteínas vehículo para diferentes serogrupos, por ejemplo sacáridos del serogrupo A podían conjugarse con CRM<sub>197</sub> mientras que sacáridos del serogrupo C podrían conjugarse con toxoide del tétanos. También es posible usar más de una proteína vehículo para un antígeno de sacárido particular, por ejemplo los sacáridos del serogrupo A podrían estar en dos grupos, con algunos conjugados con CRM<sub>197</sub> y otros conjugados con toxoide del tétanos. En general, sin embargo, se prefiere usar la misma proteína vehículo para todos los sacáridos.

45 Una única proteína vehículo podría portar más de un antígeno de sacárido [118]. Por ejemplo, una única proteína vehículo podría tener sacáridos de los serogrupos A y C conjugados con ella. Para conseguir este objetivo, los sacáridos pueden mezclarse antes de la reacción de conjugación. En general, sin embargo, se prefiere tener conjugados separados para cada serogrupo.

50 Se prefieren conjugados con una relación de sacárido:proteína (p/p) de entre 1:5 (es decir exceso de proteína) y 5:1 (es decir exceso de sacárido). Se prefieren relaciones entre 1:2 y 5:1, así como se prefieren más relaciones entre 1:1,25 y 1:2,5. Se prefiere proteína vehículo en exceso para MenA y MenC.

55 Los conjugados pueden usarse junto con proteína vehículo libre [119]. Cuando está presente una proteína vehículo dada tanto en forma libre como en forma conjugada en una composición de la invención, la forma no conjugada es preferentemente no más del 5 % de la cantidad total de la proteína vehículo en la composición en su conjunto, y más preferentemente está presente a menos de 2 % en peso.

Puede usarse cualquier reacción de conjugación adecuada, con cualquier enlazador adecuado cuando sea necesario.

5 El sacárido típicamente se activará o funcionalizará antes de la conjugación. La activación puede implicar, por ejemplo, cianilar reactivos tales como CDAP (por ejemplo tetrafluoroborato de 1-ciano-4-dimetilamino piridinio [120, 121, etc.]). Otras técnicas adecuadas usan carbodiimidas, hidrazidas, ésteres activos, norborano, ácido p-nitrobenzoico, N-hidroxisuccinimida, S-NHS, EDC, TSTU; véase también la introducción a la referencia 94).

10 Pueden prepararse enlaces mediante un grupo enlazador usando cualquier procedimiento conocido, por ejemplo, los procedimientos descritos en las referencias 122 y 123. Un tipo de enlace implica aminación reductora del polisacárido, acoplado el grupo amino resultante con un extremo de un grupo enlazador de ácido adípico, y después acoplado una proteína con el otro extremo del grupo enlazador de ácido adípico [92, 124, 125]. Otros enlazadores incluyen B-propionamido [126], nitrofenil-etilamina [127], haloacil haluros [128], enlaces glucosídicos [129], ácido 6-aminocaproico [130], ADH [131], restos C<sub>4</sub> a C<sub>12</sub> [132], etc. Como alternativa al uso de un enlazador, puede usarse enlace directo. Los enlaces directos con la proteína pueden comprender oxidación del polisacárido seguida de aminación reductora con la proteína, como se describe, por ejemplo, en las referencias 133 y 134.

15 Se prefiere un procedimiento que implica la introducción de grupos amino en el sacárido (por ejemplo reemplazando grupos =O terminales con -NH<sub>2</sub>) seguido por derivatización con un diéster adípico (por ejemplo N-hidroxisuccinimido diéster de ácido adípico) y reacción con proteína vehículo. Otra reacción preferida usa activación de CDAP con un vehículo de proteína D, por ejemplo para MenA o MenC.

20 Después de la conjugación, pueden separarse sacáridos libres y conjugados. Hay muchos procedimientos adecuados, incluyendo cromatografía hidrófoba, ultrafiltración tangencial, diafiltración, etc. [véase también ref. 135 y 136, etc.].

Cuando la composición de la invención incluye un oligosacárido conjugado, se prefiere que la preparación de oligosacárido preceda a la conjugación.

#### Vesículas de membrana externa

25 Se prefiere que las composiciones de la invención no incluyan mezclas complejas o indefinidas de antígenos, que son características típicas de VME. Sin embargo, un modo en que la invención puede aplicarse a VME es cuando se van a administrar VME en un programa de múltiples dosis.

30 Cuando se va a administrar más de una dosis de VME, cada dosis puede complementarse (añadiendo la proteína purificada o por expresión de la proteína dentro de las bacterias de las que derivan las VME) por una de la primera proteína, segunda proteína o tercera proteína como se ha definido anteriormente. Preferentemente diferentes dosis se complementan con diferentes variantes de NMB1870. En un programa de VME de tres dosis, por ejemplo, cada dosis podría contener una proteína diferente de la primera proteína, segunda proteína y tercera proteína de modo que, tras recibir tres dosis de VME, se hayan recibido las tres variantes. En un programa de VME de dos dosis, podría usarse una variante por cada dosis de VME (omitiendo de este modo una variante), o una o ambas dosis de VME podrían complementarse con más de una variante para proporcionar cobertura con las tres variantes. En realizaciones preferidas, hay tres dosis de VME, y cada una de las tres dosis de VME contiene tres poblaciones de vesículas modificadas genéticamente diferentes que presentan cada una tres subtipos, proporcionando de este modo nueve subtipos diferentes en total.

40 Este enfoque puede usarse en general para mejorar preparaciones de microvesículas de *N. meningitidis* serogrupo B [137], "VME nativas" [138], ampollas o vesículas de la membrana externa [ref. 139 a 144, etc.]. Estas pueden prepararse a partir de bacterias que se han manipulado genéticamente [145-148] por ejemplo para aumentar la inmunogenicidad (por ejemplo hiperexpresar inmunógenos), para reducir la toxicidad, para inhibir la síntesis de polisacáridos capsulares, para regular negativamente la expresión de PorA, etc. Pueden prepararse a partir de cepas de alta formación de ampollas [149-152]. Pueden incluirse vesículas de una *Neisseria* no-patógena [153].  
 45 Puede prepararse VME sin el uso de detergentes [154, 155]. Pueden expresarse proteínas que no son de *Neisseria* en su superficie [156]. Pueden tener LPS agotados. Pueden mezclarse con antígenos recombinantes [139, 157]. Pueden usarse vesículas de bacterias con diferentes subtipos de proteína de membrana externa de clase I, por ejemplo seis subtipos diferentes [158, 159] usando dos poblaciones de vesículas modificadas por ingeniería genética diferentes que presentan cada una tres subtipos, o nueve subtipos diferentes que usan tres poblaciones de vesículas modificadas por ingeniería genética diferentes que presentan cada una tres subtipos, etc. Los subtipos  
 50 útiles incluyen: P1.7,16; P1.5-1,2-2; P1.19,15-1; P1.5-2,10; P1.12-1,13; P1.7-2,4; P1.22,14; P1.7-1,1; P1.18-1,3,6.

También es posible, por supuesto, complementar las preparaciones de vesículas con dos o tres variantes diferentes.

**Inmunización**

5 La composición de la invención es preferentemente una composición inmunogénica, y la invención proporciona una composición inmunogénica de la invención para su uso como un medicamento. Por ejemplo, la composición puede usarse en un procedimiento para inducir una respuesta de anticuerpo en un mamífero, que comprende administrar una composición inmunogénica de la invención al mamífero. La respuesta de anticuerpo es preferentemente una respuesta de anticuerpo protectora y/o bactericida.

La composición puede usarse para proteger a un mamífero contra una infección por *Neisseria* (por ejemplo meningocócica) administrándola al mamífero.

El mamífero es preferentemente un ser humano. El ser humano puede ser un adulto o, preferentemente un niño.

10 Las composiciones inmunogénicas de la invención pueden usarse de forma terapéutica (es decir para tratar una infección existente) o profiláctica (es decir para evitar infección futura).

Las composiciones son particularmente útiles para prevenir/tratar enfermedades incluyendo, pero sin limitación, meningitis (particularmente meningitis bacteriana) y bacteriemia.

15 La eficacia del tratamiento terapéutico puede ensayarse supervisando la infección por *Neisseria* después de la administración de la composición de la invención. La eficacia del tratamiento profiláctico puede ensayarse supervisando las respuestas inmunitarias contra NMB1870 después de la administración de la composición. La inmunogenicidad de composiciones de la invención puede determinarse administrándolas a sujetos de ensayo (por ejemplo niños de 12-16 meses de edad, o modelos animales [160]) y determinando después parámetros convencionales incluyendo anticuerpos bactericidas en suero (ABS) y títulos de ELISA (GMT) de IgG anticápsula de alta avidéz. Estas respuestas inmunitarias se determinarán generalmente aproximadamente 4 semanas después de la administración de la composición, y se compararán con valores determinados antes de la administración de la composición. Se prefiere un aumento de ABS de al menos 4 veces u 8 veces. Cuando se administra más de una dosis de la composición, puede realizarse más de una determinación después de la administración.

20  
25 Las composiciones preferidas de la invención pueden conferir un título de anticuerpo en un paciente que es superior al criterio para seroprotección para cada componente antigénico para un porcentaje aceptable de sujetos humanos. Se conocen bien antígenos con un título de anticuerpo asociado por encima del que se considera que un hospedador está seroconvertido contra el antígeno, y dichos títulos son publicados por organizaciones tales como la OMS. Preferentemente más del 80 % de una muestra estadísticamente significativa de sujetos está seroconvertido, más preferentemente más del 90 %, aun más preferentemente más del 93 % y más preferentemente 96-100 %.

30 Las composiciones de la invención se administrarán en general directamente a un paciente. El suministro directo puede conseguirse mediante inyección parenteral (por ejemplo por vía subcutánea, por vía intraperitoneal, por vía intravenosa, por vía intramuscular o al espacio intersticial de un tejido) o mediante administración rectal, oral, vaginal, tópica, transdérmica, intranasal, ocular, ótica, pulmonar u otra mucosa. Se prefiere la administración intramuscular en el muslo o en la parte superior del brazo. La inyección puede ser mediante una aguja (por ejemplo una aguja hipodérmica), pero también puede usarse como alternativa inyección sin aguja. Una dosis intramuscular típica es de 0,5 ml.

Las composiciones pueden usarse para inducir inmunidad sistémica y/o mucosa.

40 El tratamiento de dosificación puede ser un programa de dosis individual o un programa de múltiples dosis. Pueden usarse múltiples dosis en un programa de inmunización primaria y/o en un programa de inmunización de refuerzo. Un programa de dosis primaria puede seguirse de un programa de dosis de refuerzo. El tiempo adecuado entre dosis de sensibilización (por ejemplo entre 4-16 semanas) y entre sensibilización y refuerzo, puede determinarse de forma rutinaria.

45 La composición inmunogénica de la invención generalmente incluirá un vehículo farmacéuticamente aceptable, que puede ser cualquier sustancia que no induzca en sí misma la producción de anticuerpos perjudiciales para el paciente que recibe la composición, y que pueden administrarse sin toxicidad indebida. Los vehículos adecuados pueden ser macromoléculas grandes, que se metabolizan lentamente, tales como proteínas, polisacáridos, ácidos polilácticos, ácidos poliglicólicos, aminoácidos poliméricos, copolímeros de aminoácidos y partículas de virus inactivas. Los expertos en la materia conocen bien dichos vehículos. Los vehículos farmacéuticamente aceptables pueden incluir líquidos tales como agua, solución salina, glicerol y etanol. También pueden estar presentes en dichos vehículos sustancias adyuvantes, tales como agentes humectantes o emulsionantes, sustancias tamponantes de pH y similares. Son vehículos adecuados los liposomas. Un análisis exhaustivo de vehículos farmacéuticos está disponible en ref. 161.

50  
55 Las infecciones por *Neisseria* afectan a diversas áreas del cuerpo y por lo tanto las composiciones de la invención pueden prepararse de diversas formas. Por ejemplo, las composiciones pueden prepararse como inyectables, como soluciones o suspensiones líquidas. También pueden prepararse formas sólidas adecuadas para solución, o suspensión, en vehículos líquidos antes de la inyección. La composición puede prepararse para administración

tópica, por ejemplo como una pomada, crema o polvo. La composición puede prepararse para administración oral, por ejemplo como un comprimido o una cápsula, o como un jarabe (opcionalmente aromatizado). La composición puede prepararse para administración pulmonar, por ejemplo como un inhalador, usando un polvo fino o una pulverización. La composición puede prepararse como un supositorio o un pesario. La composición puede prepararse para administración nasal, ótica u ocular, por ejemplo como gotas.

La composición es preferentemente estéril. Está preferentemente sin pirógenos. Se tampona preferentemente por ejemplo a entre pH 6 y pH 8, generalmente aproximadamente pH 7. Cuando una composición comprende una sal de hidróxido de aluminio, se prefiere usar un tampón de histidina [162]. Las composiciones de la invención pueden ser isotónicas con respecto a seres humanos.

Las composiciones inmunogénicas comprenden una cantidad inmunológicamente eficaz de inmunógeno, así como cualquier otro de otros componentes especificados, según sea necesario. Por "cantidad inmunológicamente eficaz", se entiende que la administración de esa cantidad a un individuo, bien en una única dosis o bien como parte de una serie, es eficaz para el tratamiento o la prevención. Esta cantidad varía dependiendo de la salud y condición física del individuo para tratar, la edad, el grupo taxonómico del individuo para tratar (por ejemplo primate no humano, primate, etc.), la capacidad del sistema inmunitario del individuo para sintetizar anticuerpos, el grado de protección deseado, la formulación de la vacuna, la evaluación por el médico tratante de la situación médica, y otros factores relevantes. Se espera que la cantidad quede en un intervalo relativamente amplio que pueda determinarse mediante ensayos rutinarios. El tratamiento de dosificación puede ser un programa de dosis individual o un programa de múltiples dosis (por ejemplo incluyendo dosis de refuerzo). La composición puede administrarse junto con otros agentes inmunorreguladores.

Una composición inmunogénica generalmente incluirá un adyuvante. Los adyuvantes preferidos para potenciar la eficacia de la composición incluyen, pero sin limitación: (A) MF59 (Escualeno 5 %, Tween 80 0,5 % y Span 85 0,5 %, formulados en partículas submicrométricas usando un microfluidificador) [véase capítulo 10 de ref. 163; véase también ref. 164]; (B) micropartículas (es decir una partícula de ~100 nm a ~150 µm de diámetro, más preferentemente de ~200 nm a ~30 µm de diámetro y más preferentemente de ~500 nm a ~10 µm de diámetro) formadas a partir de materiales que son biodegradables y no tóxicos (por ejemplo un poli(α-hidroxiácido), un ácido polihidroxibutírico, un poliortoéster, un polianhídrido, una policaprolactona, etc.), prefiriéndose poli(lactida-co-glicólido) (PLG), que tiene opcionalmente una superficie con carga (por ejemplo añadiendo un detergente catiónico, aniónico o no iónico tal como SDS (negativo) o CTAB (positivo) [por ejemplo ref. 165 y 166]); (C) liposomas [véase Capítulos 13 y 14 de ref. 163]; (D) ISCOM [véase capítulo 23 de ref. 163], que pueden estar desprovistos de detergente adicional [167]; (E) SAF, que contiene Escualano 10 %, Tween 80 0,4 %, polímero en bloque de Pluronic L121 5 % y thr-MDP, bien microfluidificado en una emulsión submicrométrica o agitado vorticialmente para generar una emulsión de mayor tamaño de partícula [véase Capítulo 12 de ref. 163]; (F) sistema de adyuvante Ribi™ (RAS), (Ribi Immunochem) que contiene Escualeno 2 %, Tween 80 0,2 % y uno o más componentes de la pared celular bacteriana del grupo que consiste en monofosforil lípido A (MPL), trehalosa dimicolato (TDM) y esqueleto de la pared celular (CWS), preferentemente MPL + CWS (Detox™); (G) adyuvantes de saponina, tales como QuilA o QS21 [véase el Capítulo 22 de ref. 163], también conocido como Stimulon™; (H) quitosano [por ejemplo 168]; (I) adyuvante completo de Freund (CFA) y adyuvante incompleto de Freund (IFA); (J) citocinas, tales como interleucinas (por ejemplo, IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-12, etc.), interferones (por ejemplo interferón-γ), factor estimulante de colonias de macrófagos, factor de necrosis tumoral, etc. [véase capítulos 27 y 28 de ref. 163], RC529; (K) una saponina (por ejemplo QS21) + 3dMPL + IL-12 (opcionalmente + un estero) [169]; (L) monofosforil lípido A (MPL) o MPL 3-O-desacilado (3dMPL) [por ejemplo capítulo 21 de ref. 163]; (M) combinaciones de 3dMPL con, por ejemplo, QS21 y/o emulsiones de aceite en agua [170]; (N) oligonucleótidos que comprenden motivos CpG [171] es decir que contienen al menos un dinucleótido CG, usándose opcionalmente 5-metilcitosina en lugar de citosina; (O) un éter de polioxi-etileno o un éster de polioxi-etileno [172]; (P) un tensioactivo de sorbitán éster de polioxi-etileno en combinación con un octoxinol [173] o un tensioactivo de polioxi-etileno alquil éter o éster en combinación con al menos un tensioactivo no iónico adicional tal como un octoxinol [174]; (Q) un oligonucleótido inmunoestimulante (por ejemplo un oligonucleótido CpG) y una saponina [175]; (R) un inmunoestimulante y una partícula de sal metálica [176]; (S) una saponina y una emulsión de aceite en agua [177]; (T) enterotoxina termolábil de *E. coli* ("LT"), o mutantes destoxificados de la misma, tales como los mutantes de K63 o R72 [por ejemplo Capítulo 5 de ref. 38]; (U) toxina del cólera ("CT"), o mutantes destoxificados de los mismos [por ejemplo Capítulo 5 de ref. 38]; (V) ARN bicatenario; (W) sales de aluminio, tales como hidróxidos de aluminio (incluyendo oxihidróxidos), fosfatos de aluminio (incluyendo hidroxifosfatos), sulfato de aluminio, etc. [Capítulos 8 y 9 en ref. 163] o sales de calcio, tales como fosfato cálcico; y (X) otras sustancias que actúan como agentes inmunoestimulantes para potenciar la eficacia de la composición [por ejemplo véase capítulo 7 de ref. 163]. Son adyuvantes preferidos para inmunización parenteral sales de aluminio (fosfatos de aluminio y particularmente hidroxifosfatos, y/o hidróxidos y particularmente oxihidróxido) y MF59. Los mutantes de toxina son adyuvantes de mucosa preferidos. QS21 es otro adyuvante útil para NMB1870, que puede usarse solo o en combinación con cualquiera de (A) a (X), por ejemplo con una sal de aluminio.

Los péptidos de muramilo incluyen N-acetil-muramil-L-treonil-D-isoglutamina (thr-MDP), N-acetil-normuramil-L-alanil-D-isoglutamina (nor-MDP), N-acetilmuramil-L-alanil-D-isoglutaminil-L-alanina-2-(1'-2'-dipalmitoil-*sn*-glicero-3-hidroxifosforiloxi)-etilamina MTP-PE), etc.



**Expresión de proteínas**

Se conocen en este campo técnicas de expresión bacterianas. Un promotor bacteriano es cualquier secuencia de ADN capaz de unirse con ARN polimerasa bacteriana e iniciar la transcripción corriente abajo (3') de una secuencia codificante (por ejemplo gen estructural) en ARNm. Un promotor tendrá una región de inicio en la transcripción que se sitúa habitualmente próxima al extremo 5' de la secuencia codificante. Esta región de inicio de la transcripción habitualmente incluye un sitio de unión a ARN polimerasa y un sitio de inicio de la transcripción. Un promotor bacteriano también puede tener un segundo dominio denominado un operador, que puede solapar con un sitio de unión a ARN polimerasa adyacente en el que comienza la síntesis de ARN. El operador permite la transcripción regulada (inducible) negativa, ya que una proteína represora génica puede unirse con el operador y de este modo inhibir la transcripción de un gen específico. Puede producirse expresión constitutiva en ausencia de elementos reguladores negativos, tales como el operador. Además, puede conseguirse regulación positiva por una secuencia de unión a proteína activadora génica, que, si está presente, está habitualmente próxima (5') a la secuencia de unión a ARN polimerasa. Un ejemplo de una proteína activadora génica es la proteína activadora de catabolitos (CAP), que ayuda a iniciar la transcripción del operón *lac* en *Escherichia coli* (*E. coli*) [Raibaud y col. (1984) Annu. Rev. Genet. 18: 173]. La expresión regulada puede ser por lo tanto positiva o negativa, potenciando o reduciendo de este modo la transcripción.

Las secuencias que codifican enzimas de ruta metabólica proporcionan secuencias promotoras particularmente útiles. Los ejemplos incluyen secuencias promotoras derivadas de enzimas metabolizadoras de azúcar, tales como galactosa, lactosa (*lac*) [Chang y col. (1977) Nature 198: 1056] y maltosa. Los ejemplos adicionales incluyen secuencias promotoras derivadas de enzimas biosintéticas tales como triptófano (*trp*) [Goeddel y col. (1980) Nuc. Acids Res. 8: 4057; Yelverton y col. (1981) Nucl. Acids Res. 9: 731; Patente de Estados Unidos 4.738.921; documentos EP-A-0036776 y EP-A-0121775]. El sistema promotor de  $\beta$ -lactamasa (*bla*) [Weissmann (1981) "The cloning of interferon and other mistakes" en Interferon 3 (ed. I. Gresser)], los sistemas promotores de bacteriófago lambda PL [Shimatake y col. (1981) Nature 292: 128] y T5 [patente de Estados Unidos 4.689.406] también proporcionan secuencias promotoras útiles. Otro promotor de interés es un promotor de arabinosa inducible (pBAD).

Además, promotores sintéticos que no aparecen en la naturaleza también actúan como promotores bacterianos. Por ejemplo, pueden unirse secuencias de activación de la transcripción de un promotor bacteriano o de bacteriófago con las secuencias de operón de otro promotor bacteriano o de bacteriófago, creando un promotor híbrido sintético [Patente de Estados Unidos 4.551.433]. Por ejemplo, el promotor *tac* es un promotor *trp-lac* híbrido que comprende secuencias tanto de promotor de *trp* como de operón *lac* que están reguladas por el represor *lac* [Amann y col. (1983) Gene 25: 167; De Boer y col. (1983) Proc. Natl. Acad. Sci. 80: 21]. Además, un promotor bacteriano puede incluir promotores de origen natural de origen no bacteriano que tienen la capacidad de unirse con ARN polimerasa bacteriana e iniciar la transcripción. También puede acoplarse un promotor natural de origen no bacteriano con una ARN polimerasa compatible para producir altos niveles de expresión de algunos genes en procariontes. El sistema de promotor/ARN polimerasa T7 de bacteriófago es un ejemplo de un sistema de promotor acoplado [Studier y col. (1986) J. Mol. Biol. 189: 113; Tabor y col. (1985) Proc Natl. Acad. Sci. 82: 1074]. Además, un promotor híbrido también puede estar comprendido por un promotor de bacteriófago y una región operadora de *E. coli* (documento EPO-A-0 267 851).

Además de una secuencia promotora activa, un sitio de unión a ribosoma eficaz también es útil para la expresión de genes ajenos en procariontes. En *E. coli*, el sitio de unión a ribosoma se denomina la secuencia Shine-Dalgarno (SD) e incluye un codón de inicio (ATG) y una secuencia de 3-9 nucleótidos de longitud localizada 3-11 nucleótidos cadena arriba del codón de inicio [Shine y col. (1975) Nature 254: 34]. Se cree que la secuencia SD promueve la unión del ARNm con el ribosoma por el emparejamiento de bases entre la secuencia SD y el extremo 3' y de ARNr 16S de *E. coli* [Steitz y col. (1979) "Genetic signals and nucleotide sequences in messenger RNA." En Biological Regulation and Development: Gene Expression (ed. R. F. Goldberger)]. Para expresar genes eucariotas y genes procariontes con sitio de unión al ribosoma débil [Sambrook y col. (1989) "Expression of cloned genes in *Escherichia coli*." En Molecular Cloning: A Laboratory Manual].

Una secuencia promotora puede unirse directamente con la molécula de ADN, en cuyo caso el primer aminoácido en el extremo N terminal será siempre una metionina, que está codificada por el codón de inicio ATG. Si se desea, puede escindirse metionina en el extremo N terminal de la proteína mediante incubación *in vitro* con bromuro de cianógeno o mediante incubación *in vivo* o *in vitro* con una peptidasa N terminal de metionina bacteriana (documento EP-A-0219237).

Habitualmente, las secuencias de terminación de la transcripción reconocidas por bacterias son regiones reguladoras localizadas 3' del codón de terminación de la traducción, y por lo tanto junto con el promotor flanquean la secuencia codificante. Estas secuencias dirigen la transcripción de un ARNm que puede traducirse al polipéptido codificado por el ADN. Las secuencias de terminación de la transcripción incluyen frecuentemente secuencias de ADN de aproximadamente 50 nucleótidos capaces de formar estructuras de tallo y bucle que ayudan a terminar la transcripción. Los ejemplos incluyen secuencias de terminación de la transcripción derivadas de genes con fuertes promotores, tales como el gen *trp* en *E. coli* así como otros genes biosintéticos.

Habitualmente, los componentes descritos anteriormente, que comprenden una secuencia señal, promotora (si se

desea), secuencia codificante de interés, y secuencia de terminación de la transcripción, se ponen juntas en construcciones de expresión. Las construcciones de expresión se mantienen con frecuencia en un replicón, tal como un elemento extracromosómico (por ejemplo plásmidos) capaz de tener mantenimiento estable en un hospedador, tal como bacteria. El replicón tendrá un sistema de replicación, permitiendo de este modo que se mantenga en un  
 5 hospedador procarionta bien para expresión o bien para clonación y amplificación. Además, un replicón puede ser un plásmido de un número de copias alto o bajo. Un plásmido de un número de copias alto generalmente tendrá un número de copias que varía de aproximadamente 5 a aproximadamente 200, y habitualmente de aproximadamente 10 a aproximadamente 150. Un hospedador que contiene un plásmido de número de copias alto preferentemente contendrá al menos aproximadamente 10, y más preferentemente al menos aproximadamente 20 plásmidos. Puede  
 10 seleccionarse un vector de número de copias alto o bajo, dependiendo del efecto del vector y la proteína ajena en el hospedador.

Como alternativa, las construcciones de expresión pueden integrarse en el genoma bacteriano con un vector integrador. Los vectores integradores habitualmente contienen al menos una secuencia homóloga del cromosoma bacteriano que permite que el vector se integre. Las integraciones parecen resultar de recombinaciones entre ADN  
 15 homólogo en el vector y el cromosoma bacteriano. Por ejemplo, los vectores de integración construidos con ADN de diversas cepas de *Bacillus* se integran en el cromosoma de *Bacillus* (documento EP-A-0127328). Los vectores de integración también pueden estar comprendidos por secuencias de bacteriófago o transposón.

Habitualmente, las construcciones de expresión extracromosómicas y de integración pueden contener marcadores seleccionables para permitir la selección de cepas bacterianas que se han transformado. Los marcadores  
 20 seleccionables pueden expresarse en el hospedador bacteriano y pueden incluir genes que hacen a las bacterias resistentes a fármacos tales como ampicilina, cloranfenicol, eritromicina, kanamicina (neomicina) y tetraciclina [Davies y col. (1978) Annu. Rev. Microbiol. 32: 469]. Los marcadores seleccionables pueden incluir también genes biosintéticos, tales como los de las rutas biosintéticas de histidina, triptófano y leucina.

Como alternativa, algunos de los componentes anteriormente descritos pueden unirse en vectores de transformación. Los vectores de transformación están comprendidos habitualmente por un marcador seleccionable  
 25 que se mantiene en un replicón o se desarrolla a un vector integrador, como se ha descrito anteriormente.

Se han desarrollado vectores de expresión y transformación, bien replicones extracromosómicos o bien vectores de integración, para transformación en muchas bacterias. Por ejemplo, se han desarrollado vectores de expresión para,  
 30 entre otras, las siguientes bacterias: *Bacillus subtilis* [Palva y col. (1982) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 79: 5582; documentos EP-A-0 036 259 y EP-A-0 063 953; WO 84/04541], *Escherichia coli* [Shimatake y col. (1981) Nature 292: 128; Amann y col. (1985) Gene 40: 183; Studier y col. (1986) J. Mol. Biol. 189: 113; documentos EP-A-0 036 776, EP-A-0 136 829 y EP-A-0 136 907], *Streptococcus cremoris* [Powell y col. (1988) Appl. Environ. Microbiol. 54: 655]; *Streptococcus lividans* [Powell y col. (1988) Appl. Environ. Microbiol. 54: 655], *Streptomyces lividans* [patente de Estados Unidos 4.745.056].

Se conocen bien en la técnica procedimientos para introducir ADN exógeno en hospedadores bacterianos y habitualmente incluyen la transformación de bacterias tratadas con  $\text{CaCl}_2$  u otros agentes, tales como cationes divalentes y DMSO. También puede introducirse ADN en células bacterianas por electroporación. Los  
 35 procedimientos de transformación habitualmente varían con la especie bacteriana para transformar. Véase, por ejemplo [Masson y col. (1989) FEMS Microbiol. Lett. 60:2 73; Palva y col. (1982) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 79: 5582; documentos EP-A-0 036 259 y EP-A-0 063 953; WO 84/04541, Bacillus], [Miller y col. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. 85: 856; Wang y col. (1990) J. Bacteriol. 172: 949, Campylobacter], [Cohen y col. (1973) Proc. Natl. Acad. Sci. 69: 2110; Dower y col. (1988) Nucleic Acids Res. 16: 6127; Kushner (1978) "An improved method for transformation of *Escherichia coli* with ColEI-derived plasmids. En Genetic Engineering: Proceedings of the International Symposium on Genetic Engineering (eds. H. W. Boyer y S. Nicosia); Mandel y col. (1970) J. Mol. Biol. 53: 159; Taketo (1988)  
 40 Biochim. Biophys. Acta 949: 318; *Escherichia*], [Chassy y col. (1987) FEMS Microbiol. Lett. 44:173 *Lactobacillus*]; [Fiedler y col. (1988) Anal. Biochem 170:38, *Pseudomonas*]; [Augustin y col. (1990) FEMS Microbiol. Lett. 66: 203, *Staphylococcus*], [Barany y col. (1980) J. Bacteriol. 144: 698; Harlander (1987) "Transformation of *Streptococcus lactis* by electroporation, en: *Streptococcal Genetics* (ed. J. Ferretti y R. Curtiss III); Perry y col. (1981) Infect. Immun. 32: 1295; Powell y col. (1988) Appl. Environ. Microbiol. 54: 655; Somkuti y col. (1987) Proc. 4th Evr. Cong. Biotechnology 1: 412, *Streptococcus*].  
 45  
 50

### General

La expresión "que comprende" significa "que incluye" así como "que consiste en" por ejemplo una composición "que comprende" X puede consistir exclusivamente en X o puede incluir algo adicional, por ejemplo X + Y.

El término "aproximadamente" en relación con un valor numérico x significa, por ejemplo,  $x \pm 10\%$ .

55 La palabra "sustancialmente" no excluye "completamente", por ejemplo una composición que está "sustancialmente libre" de Y puede estar completamente libre de Y. Cuando sea necesario, la palabra "sustancialmente" puede omitirse de la definición de la invención.

La "identidad de secuencia" se determina preferentemente por el algoritmo de búsqueda de homología de Smith-

Waterman como se implementa en el programa MPSRCH (Oxford Molecular), usando una búsqueda de huecos afín con los parámetros *penalización de apertura de hueco* = 12 y *penalización de extensión de hueco* = 1.

Después del serogrupo, la clasificación meningocócica incluye serotipo, serosubtipo y después inmunotipo, y la nomenclatura convencional enumera serogrupo, serotipo, serosubtipo e inmunotipo, cada uno separado por dos puntos, por ejemplo B:4:P1,15:L3,7,9. Dentro del serogrupo B, algunos linajes provocan enfermedad con frecuencia (hiper-invasivos), algunos linajes provocan formas más graves de enfermedad que otros (hipervirulentos) y otros provocan pocas veces enfermedad en absoluto. Se reconocen siete linajes hipervirulentos, concretamente los subgrupos I, III y IV-1, complejo ET-5, complejo ET-37, grupo A4 y linaje 3. Estos se han definido por electroforesis de enzimas multilocus (MLEE)), pero también se ha usado tipificación de secuencia multilocus (MLST) para clasificar meningococos [ref. 16]. Los cuatro grupos hipervirulentos principales son los complejos ST32, ST44, ST8 y ST11.

El término "alquilo" se refiere a grupos alquilo en formas tanto sencilla como ramificada. El grupo alquilo puede estar interrumpido con 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados de -O-, -NH- o -S-. El grupo alquilo también puede estar interrumpido con 1, 2 o 3 enlaces dobles y/o triples. Sin embargo, el término "alquilo" se refiere habitualmente a grupos alquilo que no tienen interrupciones de heteroátomos o interrupciones de doble o triple enlace. Cuando se hace referencia a alquilo C<sub>1-12</sub>, se entiende que el grupo alquilo puede contener cualquier número de átomos de carbono entre 1 y 12 (por ejemplo, C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub>, C<sub>6</sub>, C<sub>7</sub>, C<sub>8</sub>, C<sub>9</sub>, C<sub>10</sub>, C<sub>11</sub>, C<sub>12</sub>). De forma similar, cuando se hace referencia a alquilo C<sub>1-6</sub>, se entiende que el grupo alquilo puede contener cualquier número de átomos de carbono entre 1 y 6 (por ejemplo, C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub>, C<sub>6</sub>).

El término "cicloalquilo" incluye grupos cicloalquilo, policicloalquilo y cicloalqueno, así como combinaciones de estos con grupos alquilo, tales como grupos cicloalquilalquilo. El grupo cicloalquilo puede interrumpirse con 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados de -O-, -NH- o -S-. Sin embargo, el término "cicloalquilo" se refiere habitualmente a grupos cicloalquilo que no tienen interrupciones de heteroátomos. Los ejemplos de grupos cicloalquilo incluyen grupos ciclopentilo, ciclohexilo, ciclohexenilo, ciclohexilmetilo y adamantilo. Cuando se hace referencia a cicloalquilo C<sub>3-12</sub>, se entiende que el grupo cicloalquilo puede contener cualquier número de átomos de carbono entre 3 y 12 (por ejemplo, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub>, C<sub>6</sub>, C<sub>7</sub>, C<sub>8</sub>, C<sub>9</sub>, C<sub>10</sub>, C<sub>11</sub>, C<sub>12</sub>).

El término "arilo" se refiere a un grupo aromático, tal como fenilo o naftilo. Cuando se hace referencia a arilo C<sub>5-12</sub>, se entiende que el grupo arilo puede contener cualquier número de átomos de carbono entre 5 y 12 (por ejemplo C<sub>5</sub>, C<sub>6</sub>, C<sub>7</sub>, C<sub>8</sub>, C<sub>9</sub>, C<sub>10</sub>, C<sub>11</sub>, C<sub>12</sub>).

La expresión "arilo C<sub>5-12</sub>-alquilo C<sub>1-6</sub>" se refiere a grupos tales como bencilo, feniletilo y naftilmetilo.

Los grupos protectores de nitrógeno incluyen grupos sililo (tales como TMS, TES, TBS, TIPS), derivados de acilo (tales como ftalimididas, trifluoroacetamididas, metoxicarbonilo, etoxicarbonilo, t-butoxicarbonilo (Boc), benciloxicarbonilo (Z o Cbz), 9-fluorenilmetoxicarbonilo (Fmoc), 2-(trimetilsilil)etoxi carbonilo, 2,2,2-tricloroetoxicarbonilo (Troc)), derivados de sulfonilo (tales como β-trimetilsililetanosulfonilo (SES)), derivados de sulfenilo, alquilo C<sub>1-12</sub>, bencilo, benzhidrido, trilito, 9-fenilfluorenilo, etc. Un grupo protector de nitrógeno preferido es Fmoc.

### **Breve descripción de los dibujos**

La Figura 1 muestra la secuencia de nucleótidos de la región cadena arriba de NMB1870.

La Figura 2 es una representación esquemática de la estructura de proteínas TbpB y de los antígenos NMB2132 y NMB1870. Los péptidos líder y regiones ricas en glicina próximas están indicados. Se indican cinco cajas conservadas por diferentes motivos y sus posiciones se mapean en la secuencia proteica.

La Figura 3 muestra el aumento de los niveles de NMB1870 en *N. meningitidis* MC58 durante la curva de crecimiento.

La Figura 4 muestra el aumento de los niveles de NMB1870 en el sobrenadante durante el mismo periodo. Los niveles de PorA y los niveles de NMB1380 no aumentan. Los números encima de los carriles se refieren a DO<sub>620nm</sub> del cultivo. KO indica un mutante de desactivación de NMB1870 de MC58, y Lcc significa el control de lisado celular completo.

La Figura 5 muestra VME explorados con anti NMB1870.

La Figura 6 muestra análisis por FACS de MC58 encapsulado o un MC58 mutante no encapsulado usando anti NMB1870.

La Figura 7 es una transferencia de western de un gel de SDS-PAGE de gradiente cargado con lisados celulares totales de expresión de NMB1870 alta (carriles 1 y 2), intermedia (3 y 4) y baja (5 y 6). El carril 7 contiene una desactivación de NMB1870 MC58. Los carriles son: (1) MC58; (2) H44/76; (3) NZ394/98; (4) 961-5945; (5) 67/00; (6) M1239; (7) MC58Δnmb1870.

La Figura 8 muestra FACS y títulos bactericidas para cada uno de una expresión alta, intermedia y baja, y

también para la desactivación de NMB1870. Los que tienen expresión intermedia y baja tienen secuencias de aminoácidos de NMB1870 idénticas, con una coincidencia del 91,6 % con MC58.

La Figura 9 es un dendrograma que muestra el agrupamiento de cepas de acuerdo con las distancias entre proteínas NMB1870. Las etiquetas "1", "2" y "3" indican las tres variantes. Los números entre corchetes indican el número de cepas con secuencia idéntica presentes en cada rama del dendrograma. Se indican los linajes hipervirulentos, seguidos del número de cepas cuando este es diferente del número total. También se muestran serogrupos distintos de B. Las tres tipos de cepas (MC58, 961-5965 y M1239) y las otras cepas usadas en el análisis serológico están dentro de círculos.

La Figura 10 es un alineamiento de secuencias de variante 1 (MC58), variante 2 (961-5945) y variante 3 (M1239). Los números de aminoácidos se inician desde la cisteína que se ha predicho que será el primer aminoácido de la proteína madura. Los fondos gris y negro indican restos conservados e idénticos, respectivamente.

La Figura 11 muestra análisis de FACS de sueros frente a variante 1 (primera fila), variante 2 (segunda fila) y variante 3 (tercera fila), usando la cepa tipo de variante 1 (MC58), variante 2 (961-5945) y variante 3 (M1239). Se muestra el suero de control frente al polisacárido capsular en la fila 4 (anticuerpo monoclonal Seam3). Se muestra el suero de control frente a una proteína citoplasmática en la fila 5 (anti NMB1380). La fila 6 contiene los mutantes de desactivación (KO) de cada cepa tipo, explorados con el antisuero homólogo.

Las Figuras 12 (variante 1), 13 (variante 2) y 14 (variante 3) muestran dendrogramas para las tres variantes separadas de NMB1870, clasificadas por tipos de secuencia multilocus (ST).

## **Modos de llevar a cabo la invención**

### ***NMB1870 en la cepa de serogrupo B MC58 - identificación del codón de inicio***

El gen de NMB1870 se identificó en las secuencias genómicas de MenB y MenA publicadas por The Institute for Genomic Research (TIGR) y Sanger Center, respectivamente [2,4; NMB1870 y NMA0586]. Sin embargo, hay una discrepancia acerca de la posición del codón de inicio ATG ya que el codón de inicio de MenB está 120 pb cadena arriba del codón de inicio de MenA. A diferencia de ambas anotaciones de la técnica anterior, la presente invención coloca el codón de inicio como un codón GTG que está cadena abajo de los codones de inicio de la técnica anterior (18 pb cadena abajo para MenA, 138 pb para MenB) y de acuerdo con la referencia 8. Como se muestra en la Figura 1, el inicio GTG (+1) es coherente con la presencia de un sitio de unión a ribosoma correctamente separado y con la predicción de la identificación lipoproteica. El codón de inicio de MenB TIGR de la técnica anterior se muestra en una caja, y el codón de inicio MenA Sanger está en un círculo. Se muestran repeticiones invertidas por flechas horizontales.

NMB1870 es un gen monocistrónico localizado 157 bases cadena abajo del codón de terminación del gen de la fructosa-bisfosfato aldolasa nmb1869. En MenA Z2491 la organización general es similar, pero 31 pares de bases cadena arriba del codón de inicio GTG hay una inserción de 186 nucleótidos que son homólogos de una región de repetición interna de IS 1106 y están flanqueados por dos repeticiones invertidas de 16 pares de bases. Está presente un sitio de unión a ribosoma potencial (sombreado) 8 pb cadena arriba del codón de inicio GTG. Se localiza una caja fur (11/19 coincidencias con el consenso de caja fur de *E. coli* [178]; SEQ ID NO: 74 y 75) 35 pb cadena arriba del codón de inicio, como se predice por GCG FindPatterns partiendo de SEQ ID NO: 75 y que permite un máximo de nueve desapareamientos. También se detectaron secuencias promotoras potenciales.

El paquete de programas GCG Wisconsin Package (versión 10.0) se usó para análisis secuencial informático de secuencias génicas y proteicas. Se usó el programa PSORT [179] para predicción de localizaciones. NMB1870 tiene la típica identificación de una lipoproteína expuesta en superficie, caracterizada por un péptido señal con un motivo de caja lipo del tipo -Leu-X-X-Cys-, donde la cisteína estaba seguida de una serina, un aminoácido generalmente asociado con localización de membrana externa de lipoproteínas [180]. La caja lipo se ha perdido en gonococo debido a una inserción de una única base (G) que desplaza la fase después del nucleótido 36 de MC58, restableciéndose la fase correcta de lectura por una inserción de 8 pb después de la posición 73.

Se predice que la proteína MC58 madura es una lipoproteína con un peso molecular de 26.964 Da y un pl de 7,96, y se caracteriza por la presencia de cuatro glicinas cadena abajo del motivo de caja lipo.

El análisis de predicción de estructura secundaria usando el software PredictProtein [181] indica que NMB1870 es una proteína globular compuesta principalmente de láminas beta.

### ***Análisis de secuencia***

Se usó el algoritmo PSI-BLAST para búsquedas de homología [182] usando la base de datos de proteínas no redundante. No se descubrieron proteínas homólogas buscando en bases de datos de proteínas procariontas y eucariotas no redundantes existentes mantenidas en el sitio de NCBI, incluyendo el genoma humano, lo que sugiere que NMB1870 es específico de *Neisseria*. Sin embargo, se descubrió un dominio con algo de homología (28 % de

identidad sobre 146 aminoácidos) con la parte C terminal de la proteína de unión a transferrina TfbA de *Actinobacillus pleuropneumoniae* [183] (Figura 2). Una inspección más cercana de este dominio reveló homologías también con las proteínas de unión a transferrina de *N. meningitidis* [184], *H. influenzae* [185], *Moraxella catarrhalis* [186] y con el antígeno de superficie de *N. meningitidis* NMB2132, previamente indicado como homólogo de TbpB [3].

Para ver si esta homología de secuencia refleja una homología funcional, se dializaron NMB1870 recombinante (véase posteriormente), transferrina humana hTF (Sigma T-4132) y la mezcla de las dos (concentración final de 7  $\mu$ M) durante una noche en PBS a 4 °C. Después de diálisis se cargaron 20  $\mu$ l de cada proteína y la mezcla de ellas en una columna de filtración en gel de HPLC Superdex 200 PC 3.2/30 (Amersham) usando PBS como tampón de ejecución [187]. Se usaron Azul Dextrano 2000 y los patrones de peso molecular ribonucleasa A, quimotripsina A, ovoalbúmina A, albúmina de suero bovino (Amersham) para calibrar la columna. Se realizó filtración en gel usando un sistema Smart con un caudal de 0,04 ml/min y el material eluido se supervisó a 214 nm y 280 nm (el volumen de retención de NMB1870 fue de 1,68 ml y 1,47 ml para htf). Se recogieron fracciones de 40  $\mu$ l y se analizaron mediante SDS-PAGE. Se usó la proteína de unión a transferrina recombinante MC58 2 (Tbp2) como control positivo.

La proteína recombinante no consiguió unirse con transferrina humana *in vitro*.

La caja Fur en el promotor sugiere que la expresión de NMB1870 puede regularse por hierro. Sin embargo, la expresión de la proteína no parece aumentar en condiciones de bajo hierro.

Una característica interesante de la proteína es la presencia de un tramo de cuatro glicinas cadena abajo de la cisteína lipidada. Tres o más glicinas consecutivas cadena abajo de una cisteína lipidada están presentes también en otras cinco lipoproteínas en *N. meningitidis*, concretamente la proteína de unión a transferrina B (TbpB), el componente de membrana externa de un transportador ABC NMB0623, la proteína hipotética NMB1047, el homólogo de TbpB NMB2132, y la lipoproteína AspA [188]. En ninguna de estas proteínas el tramo de poliglicina está codificado por un tramo de poli G, lo que sugiere que esta característica no se usa para generar modulación antigénica.

Se llevó a cabo una búsqueda de lipoproteínas con una región rica en glicina en 22 secuencias genómicas completas recuperadas en el sitio de NCBI [189] usando FindPatterns. La búsqueda recuperó 29 lipoproteínas en algunas de las especies bacterianas, pero no en todas. Los organismos con este tipo de lipoproteínas incluyen bacterias tanto Gram negativas como Gram positivas, incluyendo *Haemophilus influenzae*, *Enterococcus faecalis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Lysteria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*, mientras que otras tales como *E. coli*, *Bacillus subtilis*, *Helicobacter pylori*, *Streptococcus pneumoniae*, *S. pyogenes* y *Vibrio cholerae* no tienen ninguna. La mayoría de lipoproteínas con este distintivo pertenecen a transportadores ABC, seguido de proteínas de función desconocida. Aunque esta característica común en la estructura primaria sugiere un papel común para las repeticiones de glicina, hasta la fecha se desconoce la función. Sin embargo, puede actuar para guiar las lipoproteínas a una ruta específica de secreción y localización superficial [190].

### Secuenciación para otras cepas

Se seleccionaron 70 cepas representativas de la diversidad genética y geográfica de la población de *N. meningitidis* para investigación adicional de NMB1870. Las cepas derivan de 19 países diferentes, 73 % pertenece al serogrupo B y 32 se han aislado en los últimos cinco años. El panel de cepas incluye principalmente cepas de serogrupo B, algunas cepas de serogrupos A, C, Y, W-135 y Z, y una cepa de cada una de *N. gonorrhoeae* y *N. cinerea*. Las cepas se desvelan en más detalle en las referencias 191 y 192. Algunas cepas están disponibles de la ATCC (por ejemplo la cepa MC58 está disponible con la referencia BAA-335).

El gen de NMB1870 se amplificó usando cebadores externos a la secuencia codificante (A1, SEQ ID 55; y B2, SEQ ID 56). Se usaron aproximadamente 10 ng de ADN cromosómico como molde para la amplificación. Las condiciones de PCR fueron: 30 ciclos, 94 °C durante 40 s, 58 °C durante 40 s, 68 °C durante 40 s. Los fragmentos de PCR se purificaron por el Kit de Purificación de PCR QIAquick Qiagen y se enviaron para análisis de secuencia, que se realizó usando un Secuenciador Automático ABI 377. La secuenciación se realizó usando los cebadores A1, B2, 22 (SEQ ID 57) y 32 (SEQ ID 58).

El gen se detectó por PCR en las 70 cepas de *Neisseria*. En *N. lactamica* pudo detectarse una banda mediante transferencia de Western, pero no se pudo amplificar el gen.

La secuencia de nucleótidos del gen se determinó en las 70 cepas. Estaban codificadas un total de 23 secuencias proteicas diferentes (SEQ ID NO 1 a 23). El análisis informático de estas 23 secuencias, usando algoritmo de Kimura y Jukes-Cantor, las dividió en tres variantes (Figura 9). El dendrograma se obtuvo partiendo del alineamiento de múltiples secuencias de secuencias de proteína NMB1870 (PileUP) usando el Procedimiento de Parsimonia de Secuencia Proteica (ProtPars), un programa disponible dentro del Paquete de Inferencia de Filogenia (Phylip) y se confirmó mediante el programa GCG Distances, usando los algoritmos Kimura y Jukes-Cantor.

Se determinaron las secuencias de NMB1870 de 100 cepas adicionales. Muchas de estas fueron idénticas a una de las SEQ ID NO 1 a 23, pero se proporcionan 19 secuencias únicas adicionales como SEQ ID NO 140 a 158.

5 Las Figuras 12-14 muestran dendrogramas de las diversas secuencias, clasificadas por tipos de secuencia multilocus ST. Dentro de la variante 1 (Figura 12) la cepa de referencia es MC58, siendo la menor identidad de secuencia con la referencia 89,4 % frente a un promedio de 93,7 %. Dentro de la variante 2 (Figura 13) la cepa de referencia es 2996 y las secuencias se extienden hasta 93,4 % de identidad (promedio 96,3 %). Dentro de la variante 3 (Figura 14) la menor identidad con la cepa de referencia M1239 es 94,7 % (promedio 95,8 %). ST32cpx es el grupo hipervirulento más homogéneo, que alberga solamente una secuencia de NMB8170 de la variante 1 (también solamente de una forma de NMB 1343 y de NadA). La mayoría de las cepas de ST44cpx albergan la variante 1 (varias secuencias diferentes) de NMB1870, teniendo algunas la variante 3 (secuencia individual). Estos datos sugieren que ST32cpx está más cerca de ST44cpx, en comparación con otros grupos, que coincide con datos basados en el genotipo de porA (clase III). Los complejos ST11 y ST8 están representados principalmente por diferentes secuencias dentro de la variante 2 de NMB1870, lo que sugiere que estos complejos están más cerca entre sí, en comparación con otros grupos, y que coinciden con el genotipo de porA (clase II). ST11cpx alberga las tres variantes, lo que indica que es el grupo hipervirulento más diverso de los cuatro.

10 Las cepas MC58, 961-5945 y M1239 se seleccionaron arbitrariamente como cepas tipo para las variantes 1, 2 y 3, respectivamente. La diversidad de secuencia entre las tres cepas tipo se muestra en la Figura 10. La identidad de aminoácidos fue de 74,1 % entre la variante 1 y la variante 2, 62,8 % entre la variante 1 y la variante 3 y 84,7 % entre la variante 2 y la variante 3. Las secuencias dentro de cada variante estaban bien conservadas, mostrando las más distantes 91,6 %, 93,4 % y 93,2 % de identidad con sus cepas tipo, respectivamente. *N. cinerea* pertenece a la variante 1, y comparte 96,7 % de homología con MC58. Como se muestra en la Figura 9, la variante 1 alberga todas las cepas de los linajes hipervirulentos ET-5, la mayoría de las cepas del linaje 3, las cepas del serogrupo A, dos aislados recientes de W-135 y un ET-37. La variante 2 alberga todas las cepas del complejo hipervirulento A4, de los serogrupos Y y Z, un aislado de W-135 viejo y cinco cepas ET-37. La variante 3 alberga cuatro cepas ST únicas, una cepa de ET-37, una cepa de linaje 3 y gonococo.

Las cepas en cada grupo de variante, y sus secuencias de NMB1870, son las siguientes:

1	gb185 (secuencia compartida con ES14784, M.00.0243291) m4030 (secuencia compartida con M3812) m2197
	m2937 iss1001 (secuencia compartida con NZ394/98, 67/00, 93/114, bz198, m1390, nge28, 14996, 65/96, ISS1120, S59058, ISS1017, ISS1043, ISS1026, ISS1102, ISS1106, ISS656, ISS678, ISS740, ISS749, ISS995, ISS845, ISS1167, ISS1157, ISS1182, M4717, M6094, D8273) Inp17592 (secuencia compartida con 00-241341, 00-241357, 2ND80. 2ND221, ISS1142) f6124 (secuencia compartida con 205900) m198/172 (secuencia compartida con bz133, gb149, nm008, nm092, ES14963, FN131218, S5902, S90307, M4105, ISS1180, FN131345) mc58 (secuencia compartida con 30/00, 39/99, 72/00, 95330, bz169, bz83, cu385, h44/76, m1590, m2934, m2969, m3370, m4215, m4318, n44/89, 14847, ES14898, Inp15709, Inp17391, Inp17503, FN131654, M3985, S590104, S9029, S9097, D8346, FN131682, ISS832, ISS648, ISS1067,ISS1071,ISS1159) FN131217 ES14933 GB0993 M6190 F19324 ISS1113 gb0345 (secuencia compartida con M1820, ISS1082)

(continuación)

	M0445	17 secuencias, 98 cepas
2	L93/4286 m2671 961-6945 (secuencia compartida con 2996, 96217, 312294, 11327, a22, ISS1141, ISS1173, ISS759, ISS743, ISS866, F17094, NMB, SWZ107) gb013 (secuencia compartida con e32, m1090, m4287, 66094, M3153, M4407, NGH36) 860800 (secuencia compartida con 599) 95N477 (secuencia compartida con 90-18311, c11, m986, F370/85, M.00.0243143, ISS838, ISS839, ISS1092, M1569) 1000 (secuencia compartida con m1096, M2552, M4458, M5149, M6208) m3279 (secuencia compartida con bz232, dk353, m3697, ngh38, M5258, D8221) MK82 8047 C4678 ISS1133 NG6/88 M0579 F16325	15 secuencias, 56 cepas
3	16889 m3813 m1239 ngp165 gb355 (secuencia compartida con m3369, D8300, gb0364, M2441) gb988 [fa1090 gonococo]	7 secuencias, 11 cepas
NB: la abreviatura "gb" al comienzo del nombre de una cepa significa "M.01.0240".		

SEQ ID NO 139 (cepa 220173i), 140 (cepas gb101 e ISS908) y 141 (cepa nge31) están distantes de estas tres variantes (como lo está, en menor grado, la cepa m3813).

- 5 Dentro de la variante 1, la secuencia de la cepa lnp17592 (también vista en las cepas 00-241341, 00-241357, 2ND80, 2ND221 e ISS1142) se ve en el serogrupo W-135 Haji. Dentro de las cepas de Haji, la secuencia de NadA (SEQ ID NO: 143) es una recombinación entre los alelos 2 y 3 [191, 192].

**Clonación, expresión y purificación en E. coli**

- 10 Se amplificaron los genes de NMB1870 por PCR a partir del genoma de las cepas de *N. meningitidis* MC58, 961-5945 y M1239. Los cebadores directo e inverso se diseñaron para amplificar la secuencia codificante de nmb1870 desprovista de la secuencia codificante del péptido líder potencial. Se descubrió que las variantes M1239 y 961-5945

no eran expresables en *E. coli*. Se expresaron por lo tanto añadiendo al extremo N terminal la secuencia SEQ ID NO: 46 que está presente en la proteína de gonococo pero ausente en el homólogo de meningococo. Los oligonucleótidos usados para amplificación fueron los siguientes:



Cepa	Directo	Inverso
MC58	CGCGGATCCCATATATGGTGGCCGCCGACATCG ('Dir1' ; SEQ ID 47)	CCCGCTCGAGTTGCTTGGCGGCAAGGC ('Inv1' ; SEQ ID 48)
961/5945	CGCGGATCCCATATATGGCCCTGATTCTGACCGCCTGCAGCAGC GGAGGTCGCCGCCGACATCGG ('Dir2' ; SEQ ID 49)	CCCGCTCGAGCTGTTGCCGGCGATGCC ('Inv2' ; SEQ ID 50)
M1239	CGCGGATCCCATATATGGCCCTGATTCTGACCGCC TGCAGCAGCGGAGGGAGGGGGTGGTGTCCG ('Dir3' ; SEQ ID 51)	GCCCAAGCTTCTGTTGCCGGCGATGCC ('Inv3' ; SEQ ID 52)

Los sitios de restricción, correspondientes a *NdeI* para los cebadores directos y *XhoI* (*HindIII* para M1239) para los cebadores inversos están subrayados. Para los cebadores directos de 961-5945 y M1239, el resto de secuencia de *gonococo* se indica en cursiva, y las secuencias coincidentes de NMB1870 meningocócicas se indican en negrita.

5 Las condiciones de PCR en el caso de la combinación de cebadores Dir1/Inv1 fueron: desnaturalización a 94 °C durante 30 s, hibridación a 57 °C durante 30 s, elongación a 68 °C durante 1 min (5 ciclos), desnaturalización a 94 °C durante 30 s, hibridación a 68 °C durante 30 s, elongación a 68 °C durante 1 min (30 ciclos). En el caso de combinaciones de cebadores: Dir2/Inv2 y Dir3/Inv2 y Dir3/Inv3: 94 °C durante 30 s, 56 °C durante 30 s, 68 °C durante 1 min (5 ciclos), 94 °C durante 30 s, 71 °C durante 30 s, 68 °C durante 1 min (30 ciclos).

10 Se amplificó el gen de *nmb1870* de longitud completa a partir del genoma de MC58 usando los siguientes cebadores: f-1Dir (CGCGGATCCCATATGAATCGAACTGCCTTCTGCTGCC; SEQ ID 53) y f-1Inv (CCCGCTCGAGTTATTGCTTGGCGGCAAGGC; SEQ ID 54) y las siguientes condiciones: 94 °C durante 30 s, 58 °C durante 30 s, 72 °C durante 1 min (30 ciclos).

15 Se realizó PCR en aproximadamente 10 ng de ADN cromosómico usando ADN Polimerasa Taq de Alta Fidelidad (Invitrogen). Los productos de PCR se digirieron con *NdeI* y *XhoI* y se clonaron en los sitios *NdeI/XhoI* del vector de expresión pET-21b+ (Novagen).

Las proteínas recombinantes se expresaron como fusiones con marcador de His en *E. coli* y se purificaron por MCAC (cromatografía de afinidad de quelación metálica), como se ha descrito previamente [3], y se usaron para inmunizar ratones para obtener antisueros. Se usó *E. coli* DH5α para trabajo de clonación, y se usó BL21 (DE3) para expresión.

## 20 **Mutantes isogénicos de *nmb1870* y *siaD***

Se prepararon mutantes de desactivación isogénica en los que el gen de *nmb1870* estaba truncado y reemplazado con un casete de antibiótico eritromicina, transformando las cepas MC58, 961-5945 y M1239 con el plásmido *pBSΔnmb1870ERM*. Este plásmido contiene el gen de resistencia a eritromicina dentro de las regiones flanqueantes cadena arriba y cadena abajo *nmb1870* de 500 pb. Estas regiones se amplificaron a partir del genoma de MC58 usando los siguientes oligonucleótidos Udir GCTCTAGACCAGCCAGGCGCATAC (SEQ ID 59, sitio *XbaI* subrayado); UInv TCCCCCGGGGACGGCATTGTTTACAGG (SEQ ID 60, *SmaI* subrayado); DDir TCCCCCGGGCGCCAAGCAATAACCATG (SEQ ID 61, *SmaI* subrayado) y DInv CCCGCTCGAGCAGCGTATCGAACCATGC (SEQ ID 62, *XhoI* subrayado). Se generó un mutante deficiente en cápsula usando el mismo enfoque. El gen *siaD* se suprimió y reemplazó con *ermC* usando el plásmido *pBSΔCapERM*. Las regiones flanqueantes cadena arriba y cadena abajo de 1000 pb y 1056 pb, respectivamente, se amplificaron a partir del genoma de MC58 usando los siguientes cebadores: UCapDir GCTCTAGATTCTTTCCAAGAACTCTC (SEQ ID 63, *XbaI* subrayado); UCapInv TCCCCCGGGCCCGTATCATCCACCAC (SEQ ID 64, *SmaI* subrayado); DCapDir TCCCCCGGGATCCACGCAAATACCCC (SEQ ID 65, *SmaI* subrayado) y DCapInv CCCGCTCGAGATATAAGTGAAGACGGA (SEQ ID 66, *XhoI* subrayado). Se clonaron fragmentos amplificados en pBluescript y se transformaron en la cepa de *N. meningitidis* competente de forma natural MC58. La mezcla se aplicó puntualmente en una placa de agar GC, se incubó durante 6 horas a 37 °C, CO<sub>2</sub> 5 %, después se diluyó en PBS y se extendió en placas de agar GC que contenían eritromicina 5 μg/ml. La supresión del gen de *nmb1870* en las cepas MC58Δ*nmb1870*, 961-5945Δ*nmb1870* y M1239Δ*nmb1870* se confirmó por PCR; se confirmó la falta de expresión de NMB1870 por análisis de transferencia de Western. La supresión del gen *siaD* y la falta de expresión de la cápsula en la cepa MC58Δ*siaD* se confirmaron por PCR y FACS, respectivamente.

## **Lipoproteínas**

Para investigar la lipidación de NMB1870, se ensayó la incorporación de palmitato de la cepa de *E. coli* BL21 (DE<sub>3</sub>) recombinante que portaba el gen de *nmb1870* de longitud completa como se ha descrito en la referencia 193.

45 Se cultivaron las cepas meningocócicas MC58 y MC58Δ*nmb1870* en medio GC y se marcaron con ácido [9,10-<sup>3</sup>H]-palmítico (Amersham). Se lisaron células de 5 ml de cultivo hirviendo durante 10 min y se centrifugaron a 13.000 rpm. Los sobrenadantes se precipitaron con TCA y se lavaron dos veces con acetona fría. Las proteínas se suspendieron en 50 μl de SDS 1,0 % y se analizaron 15 μl por SDS-PAGE, se tiñeron con azul brillante de Coomassie, se fijaron y se empaparon durante 15 min en solución Amplify (Amersham). Los geles se expusieron a Hyperfilm MP (Amersham) a -80 °C durante tres días.

50 Se detectó una banda radiactiva del peso molecular apropiado en MC58, pero no en el mutante de desactivación de Δ*nmb1870*.

55 *E. coli* recombinantes cultivadas en presencia de ácido [9,10-<sup>3</sup>H]-palmítico también producen una banda radiactiva en el peso molecular esperado, lo que confirma que *E. coli* reconoce el motivo de lipoproteína y añade una cola lipídica a la proteína recombinante.

**Detección de proteínas**

- Se cultivó la cepa MC58 a 37 °C con CO<sub>2</sub> 5 % en medio GC en fase estacionaria. Se recogieron muestras durante el crecimiento (DO<sub>620 nm</sub> 0,05-0,9). Se cultivó MC58Δnmb1870 hasta DO<sub>620nm</sub> 0,5. Se recogieron células bacterianas por centrifugación, se lavaron una vez con PBS, se resuspendieron en diversos volúmenes de PBS para normalizar los valores de DO. Se filtró el sobrenadante de cultivo usando un filtro de 0,2 μm y se precipitó 1 ml mediante la adición de 250 μl de ácido tricloroacético (TCA) al 50 %. La muestra se incubó en hielo durante 2 h, se centrifugó durante 40 min a 4 °C y el sedimento se lavó con etanol helado al 70 %, y se resuspendió en PBS. Se cargaron después 3 μl de cada muestra (correspondiente a una DO<sub>620</sub> de 0,03) en geles de poliacrilamida 12 % y se electrotransferieron a membranas de nitrocelulosa.
- Se realizaron análisis de transferencia de Western de acuerdo con procedimientos convencionales, usando anticuerpos policlonales inducidos contra proteína expresada en *E. coli*, a una dilución 1:1000, seguido de una dilución 1/2000 de IgG anti humano marcado con HPR (Sigma). Se realizó exploración usando un LabScan (Farmacia) y software Imagemaster (Farmacia).
- Como se muestra en la Figura 3, se detectó una proteína de ~29,5 kDa en los extractos celulares totales de *N. meningitidis*. La cantidad de la proteína en el lisado celular completo aproximadamente se duplicó durante la curva de crecimiento, mientras que la densidad óptica del cultivo aumentó de 0,05 a 0,9 DO<sub>620nm</sub>. También se detectó una banda del mismo tamaño en el sobrenadante del cultivo. La proteína no se detectó en el sobrenadante del cultivo recién inoculado (DO<sub>620 nm</sub> 0,05), y aumentó aproximadamente cuatro veces durante el crecimiento de 0,1 a 0,9 DO<sub>620 nm</sub> (Figura 4, panel izquierdo). La naturaleza genuina de la expresión en el sobrenadante se confirmó ensayando las mismas muestras para ampollas de membrana y proteínas citoplasmáticas. Como se muestra en el panel medio de la Figura 4, la ausencia de PorA en las preparaciones de sobrenadante de PorA descarta una posible contaminación con ampollas de membrana, mientras que la ausencia en el sobrenadante de proteína citoplasmática NMB1380 confirmó que las muestras de sobrenadantes no resultaban de la lisis celular (panel derecho).
- La cepa de desactivación de MC58Δnmb1870 no muestra ninguna proteína en lisado celular completo ni el sobrenadante de cultivo (carriles “KO” en las Figuras 3 y 4).
- Se detectó NMB1870 por transferencia de Western en vesículas de membrana externa, lo que confirma que la proteína se segrega con las fracciones de membrana de *N. meningitidis* (Figura 5). Sin embargo, los sueros de ratones inmunizados con los VME no reconocieron NMB1870 recombinante en transferencia de Western, lo que sugiere que la proteína no es inmunogénica en preparaciones de VME.
- El análisis de FACS usando los anticuerpos anti NMB1870 confirmó que la proteína está expuesta en superficie y es accesible a anticuerpos en cepas de *N. meningitidis* tanto encapsuladas como no encapsuladas (Figura 6). El análisis de FACS usó un citómetro de flujo FACS-Scan, con unión de anticuerpo detectada usando un anticuerpo secundario anti ratón (molécula completa) conjugado con FITC (Sigma). El control FACS positivo usó SEAM3, un mAb específico para el polisacárido capsular de meningococo B [194]; el control negativo consistió en un antisuero policlonal de ratón contra la proteína citoplasmática NMB1380 [195].
- El análisis de transferencia Western de 43 cepas mostró que NMB1870 se expresa en todas las cepas ensayadas. Como se muestra en la Figura 7, sin embargo, los niveles de expresión variaron considerablemente entre cepas. Las cepas ensayadas pudieron clasificarse ampliamente como expresión alta, intermedia y baja:

Cepas	Alta	Intermedia	Baja
ET5	9/9	0/9	0/9
Linaje 3	7/9	1/9	1/9
ET37	2/3	1/3	0/3
A4	0/4	2/4	2/4
Otras	6/15	7/15	2/15
<i>N. gonorrhoeae</i>	0/1	0/1	1/1
<i>N. cinerea</i>	0/1	0/1	1/1
<i>N. lactamica</i>	1/1	0/1	0/1
<b>Total</b>	<b>25/43 (58 %)</b>	<b>11/43 (25,5 %)</b>	<b>7/43 (16,5 %)</b>

La mayoría de las cepas de linajes hipervirulentos (ET-5, linaje 3, ET-37) expresaron altos niveles de la proteína, con la excepción de A4 cuando dos cepas expresaron niveles intermedios y dos cepas expresaron niveles bajos. Resulta interesante que la proteína se expresó a nivel alto por cepas que se han usado de forma clásica como cepas de vacuna de VME. No se ha descubierto que ningún patrón genético evidente prediga la cantidad de proteína expresada por cada cepa. Incluso la presencia del elemento de IS en la región promotora, que se descubrió en 8/70 cepas (una del serogrupo A, tres del linaje 3 y cuatro de las clasificadas como otras), no mostró ninguna correlación con la expresión de la proteína.

La exploración de las transferencias de Western mostró que la diferencia de expresión entre alto e intermedio, intermediado y bajo o alto y bajo podría ser de dos, cinco y nueve veces, respectivamente. No hay ninguna razón inmediatamente aparente para los niveles de expresión diferentes, y el análisis de las secuencias de ADN cadena arriba del gen no mostró ningún elemento que se correlacionara con la expresión.

### Respuestas de anticuerpos

Se analizaron sueros de sujetos sanos y convalecientes con respecto a anticuerpos anti NMB1870 por transferencia de Western. Se cargó NMB1870 purificado (1 µg/carril) en geles de SDS-poliacrilamida 12,5 % y se transfirieron a una membrana de nitrocelulosa. La proteína unida se detectó con dilución 1/200 de suero, seguido de una dilución 1/2000 de IgG anti humano marcado con HPR (Sigma). Aunque solamente 2/10 de los sueros de personas sanas reconocieron NMB1870, 21/40 sueros convalecientes reconocieron la proteína, lo que conduce a la conclusión de que NMB 1870 es inmunogénico *in vivo* durante la infección. Los antisueros de ratones inmunizados con NMB1870 recombinante se investigaron por lo tanto adicionalmente.

Para preparar antisueros, se usaron 20 µg de proteínas recombinantes NMB1870 variante 1, variante 2 y variante 3 para inmunizar ratones hembra CD1 de seis semanas de edad (Charles River). Se usaron de cuatro a seis ratones por grupo. Las proteínas recombinantes se proporcionaron i.p., junto con adyuvante de Freund completo (CFA) para la primera dosis y adyuvante incompleto de Freund (IFA) para las segunda (día 21) y tercera (día 35) dosis de refuerzo. Se realizó el mismo programa de inmunización usando adyuvante de hidróxido de aluminio (3 mg/ml) en lugar de adyuvante de Freund. Se tomaron muestras de sangre para análisis el día 49.

Los antisueros se ensayaron con respecto a su capacidad para inducir destrucción mediada por complemento de cepas de *N. meningitidis* encapsuladas, como se ha descrito previamente [3, 196] usando suero de cría de conejo agrupado (CedarLane) usado como fuente de complemento. También se usó suero de un adulto humano sano (sin ninguna actividad bactericida intrínseca cuando se ensayó a una concentración final de 25 o 50 %) como fuente de complemento. Se definieron los títulos bactericidas en suero como la dilución en suero resultante en el 50 % de reducción en unidades formadoras de colonias (UFC) por ml después de 60 minutos de incubación de bacterias con mezcla de reacción, en comparación con UFC de control por ml en el tiempo 0. Típicamente, las bacterias incubadas con el anticuerpo de control negativo en presencia de complemento mostraron un aumento de 150 a 200 % en UFC/ml durante la incubación de 60 min.

Se seleccionaron cepas representativas de la expresión alta, intermedia y baja para el ensayo. La expresión diferencial de la proteína en la superficie de las cepas seleccionadas se confirmó por análisis de FACS (Figura 8) - MC58, un representante de las cepas de expresión alta se destruyó con alta eficacia por el suero diluido hasta 1/64.000; NZ394/98 (originalmente NZ98/254), un representante de la expresión intermedia también se destruyó con alta eficacia, por el suero diluido hasta 1/16.000 e incluso la cepa 67/00, un representante de las cepas de expresión baja se destruyó por el antisuero diluido hasta 1/2.048. Las cepas de control, en las que se había desactivado el gen *nmb1870*, no se destruyeron por el mismo antisuero.

Para confirmar si los sueros también eran capaces de conferir protección *in vivo*, se ensayaron con respecto a su capacidad para inducir protección pasiva en el modelo de cría de rata. Se pretrataron crías de rata de cinco días de edad i.p. con antisuero anti NMB1870 o con anticuerpo monoclonal anti PorA en el tiempo 0 y se expusieron dos horas después i.p. a  $5 \times 10^3$  UFC/rata de MenC 4243 (OAc-positivo) o MenB NZ394/98. Se obtuvieron cultivos de sangre cuantitativos 24 horas después. Se obtuvieron recuentos bacterianos en los cultivos de sangre (UFC/ml, medias geométricas) sembrando sangre en placas de agar chocolate. El suero de control positivo fue anti PorA (P1.2) para MenC y SEAM3 para MenB. Los resultados de los experimentos fueron los siguientes:

Pretratamiento	Cepa de Exposición 4243		Cepa de Exposición NZ394/98	
	Positivos	UFC/ml x10 <sup>3</sup>	Positivos	UFC/ml x10 <sup>3</sup>
PBS	5/5	450	-	-
Suero de control negativo	5/5	500	9/14	1260
Suero de control positivo	1/5	0,003	0/7	<0,001
Anti NMB1870	0/9	<0,001	0/14	<0,001

Por lo tanto, no se recuperó ninguna colonia bacteriana de la sangre de las ratas inmunizadas de forma pasiva con suero anti NMB1870, mientras que la mayoría de los animales de control negativo fueron bacteriémicos.

**La actividad bactericida es específica de variante**

5 Cada variante tipo se expresó en *E. coli* como una proteína marcada con His y se usó para inmunizar ratones. Los sueros se usaron para ensayar la reactividad cruzada inmunológica entre cepas de las tres variantes por FACS y ensayo bactericida. Como se muestra en la Figura 11, por análisis de FACS, todas las cepas se reconocieron por cada suero, aunque el grado de reconocimiento varió considerablemente, lo que reflejó habitualmente la homología de aminoácidos entre las proteínas.

10 En un análisis más estrecho, el suero anti variante 1 (Figura 11, primera fila) reconoció la cepa MC58 muy bien (como se esperaba), en un menor grado la cepa 961-5945 (74,1 % de identidad) y, en un menor grado, la cepa M1239 (62,8 % de identidad). Se descubrió una tendencia similar para antisueros contra las variantes 2 y 3 (filas 2 y 3 de la Figura 11), aunque con el suero anti variante 2 las diferencias no fueron tan sorprendentes.

15 Un anticuerpo monoclonal contra la cápsula reconoció las tres cepas igualmente bien (fila 4), mientras que un suero contra la proteína citoplásmica NMB1380 usado como control negativo no reconoció ninguna (fila 5). De forma similar, los mutantes de desactivación de nmb1870 no fueron reconocidos por ningún suero (fila 6).

Las diferencias en el inmunorreconocimiento entre las variantes fueron más evidentes por el ensayo bactericida:

Suero	MC58 (variante 1)	961/5945 (variante 2)	M1239 (variante 3)
Anti variante 1	64000	256	<4
Anti variante 2	<4	16000	128
Anti variante 3	<4	2048	16000

20 Los datos muestran que el suero contra cada variante fue capaz de inducir una destrucción mediada por complemento eficaz de la cepa homóloga (los títulos varían entre 16.000 y 64.000), mientras que la actividad fue baja (128-2.048) o ausente (<4) contra cepas de las otras variantes. Como se predice a partir de la homología de aminoácidos estrecha, los títulos bactericidas cruzados entre las variantes 2 y 3 fueron mayores que los otros. Cuando se usó complemento humano, se obtuvieron títulos bactericidas de 4.096, 256 y 512 con variantes 1, 2 y 3, respectivamente, usando las cepas tipo homólogas. No se detectó ningún título contra las cepas heterólogas.

**Proteínas híbridas y en tándem**

25 Las proteínas híbridas y en tándem pueden representarse por la fórmula: NH<sub>2</sub>-A-[-X-L]<sub>n</sub>-B-COOH. Se construyeron genes que codificaban diversas proteínas de este tipo, donde n = 2, los extremos N terminales de X<sub>1</sub> y X<sub>2</sub> se suprimen hasta el final de sus regiones de poliglicina, y -L<sub>2</sub>- y -B- están ausentes (o bien B es un marcador polihistidina usado para purificación). La siguiente tabla muestra los componentes de estas proteínas en sus formas maduras y proporciona las SEQ ID NO del polipéptido completo y las SEQ ID NO y cepas para las secuencias componentes A, X<sub>1</sub>, L<sub>1</sub> y X<sub>2</sub>:

	SEQ ID	A	X <sub>1</sub>	L <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	pI
(1)	79	-	MC58 (SEQ ID 80)	SEQ ID 78	2996 (SEQ ID 81)	6,74
(2)	82	-	MC58 (SEQ ID 80)	SEQ ID 144	2996 (SEQ ID 81)	6,63
(3)	83	-	MC58 (SEQ ID 80)	SEQ ID 78	M1239 (SEQ ID 84)	
(4)	85	-	MC58 (SEQ ID 80)	SEQ ID 144	M1239 (SEQ ID 84)	
(5)	87	SEQ ID 86	2996 (SEQ ID 81)	SEQ ID 78	M1239 (SEQ ID 84)	6,44
(6)	88	SEQ ID 86	2996 (SEQ ID 81)	SEQ ID 144	M1239 (SEQ ID 84)	6,35
(7)	89	SEQ ID 86	M1239 (SEQ ID 84)	SEQ ID 78	2996 (SEQ ID 81)	
(8)	90	SEQ ID 86	M1239 (SEQ ID 84)	SEQ ID 144	2996 (SEQ ID 81)	
(9)	91	Cys	'936' (SEQ ID 76)	SEQ ID 78	2996 (SEQ ID 81)	
(10)	92	Cys	'936' (SEQ ID 76)	SEQ ID 144	2996 (SEQ ID 81)	

(continuación)

	SEQ ID	A	X1	L1	X2	pl
(11)	93	Cys	'936' (SEQ ID 76)	SEQ ID 78	M1239 (SEQ ID 84)	
(12)	94	Cys	'936' (SEQ ID 76)	SEQ ID 144	M1239 (SEQ ID 84)	

5 De estas doce proteínas, por lo tanto, ocho son proteínas NMB1870 en tándem (PM ~ 55 kDa) y cuatro son proteínas híbridas con "936<sub>2996</sub>" en el extremo N terminal (PM ~ 49 kDa). Se usaron dos enlazadores: (a) SEQ ID NO: 78, que deriva del homólogo de NMB1870 gonocócico (SEQ ID NO: 46); y (b) un enlazador rico en glicina (SEQ ID NO: 144). También se usó SEQ ID NO: 78 en el extremo N de proteínas maduras, sin sus dos restos de *Bam*HI N terminales (Gly-Ser) es decir SEQ ID NO: 86.

10 Las doce proteínas fueron solubles cuando se expresaron en *E. coli* y, después de la purificación, se usaron para inmunizar ratones. Se evaluaron las respuestas de anticuerpo bactericida en suero (SBA) frente a hasta cuatro cepas meningocócicas, asegurando una de cada una de las tres variantes de NMB1870 1 a 3 (mostradas como superíndices). El adyuvante fue CFA (parte superior) o un hidróxido de aluminio (parte inferior)

Proteína	SBA			
	2996 <sup>(2)</sup>	MC58 <sup>(1)</sup>	M1239 <sup>(3)</sup>	961/5945 <sup>(2)</sup>
(1)	4096	262144	2048	32768
	1024	32768	128	2048
(2)	8192	262144	2048	32768
	1024	16384	512	1024
(3)	-	131072	32768	4096
	-	32768	4096	1024
(4)	-	262144	32768	8192
	-	32768	1024	512
(5)	512	<4	4096	32768
	1024	16	4096	8192
(6)	4096	<4	32768	32768
	2048	16	4096	16384
(7)	-	4	4096	32768
	-	16	4096	8192
(8)	2048	32	32768	32768
	1024	32	8192	16384
(9)	2048	<4	<4	32768
	4096	<4	512	16384
(10)	4096	<4	256	131072
	512	<4	<4	2048
(11)	256	<4	>32768	2048
	4	4	4096	128

(continuación)

Proteína	SBA			
	2996 <sup>(2)</sup>	MC58 <sup>(1)</sup>	M1239 <sup>(3)</sup>	961/5945 <sup>(2)</sup>
(12)	2048	<4	>32768	4096
	16	256	4096	256

5 Estos resultados muestran claramente la naturaleza específica de variante de las reacciones inmunitarias. Por ejemplo, las proteínas (1) y (2) incluyen secuencias de las variantes de NMB1870 1 y 2, y los mejores resultados de SBA se ven frente a estas dos variantes. De forma similar, los mejores resultados se ven frente a variantes 1 y 3 cuando se usan las proteínas (3) y (4). Se ve buena actividad usando NMB1870 de las variantes 2 y 3, en cualquier orden del extremo N terminal al extremo C terminal, usando las proteínas (5) a (8), con poca actividad contra la variante 1. La naturaleza específica de variante de la respuesta de NMB1870 también es evidente cuando se usan las proteínas híbridas, proporcionándose algo de actividad anti 2996 por el resto "936".

Los siguientes cebadores oligonucleotídicos se usaron durante la construcción de las 12 proteínas:

Proteína	Cebador SEQ ID NO (Dir e Inv)	Sitios de restricción
(1)	95 y 96	<i>Bam</i> HI y <i>Xho</i> I
(2)	97 y 98	<i>Bam</i> HI y <i>Xho</i> I
(3)	99 y 100	<i>Bam</i> HI y <i>Hind</i> III
(4)	101 y 102	<i>Bam</i> HI y <i>Hind</i> III
(5)	103 y 104	<i>Bam</i> HI y <i>Hind</i> III
(6)	105 y 106	<i>Bam</i> HI y <i>Hind</i> III
(7)	107 y 108	<i>Bam</i> HI y <i>Xho</i> I
(8)	109 y 110	<i>Bam</i> HI y <i>Xho</i> I
(9)	111 y 112	<i>Bam</i> HI y <i>Xho</i> I
(10)	113 y 114	<i>Bam</i> HI y <i>Xho</i> I
(11)	115 y 116	<i>Bam</i> HI y <i>Hind</i> III
(12)	117 y 118	<i>Bam</i> HI y <i>Hind</i> III
NMB1870 <sub>M1239</sub>	119 y 120	<i>Nde</i> I y <i>Bam</i> HI
NMB1870 <sub>2996</sub>	121 y 122	<i>Nde</i> I y <i>Bam</i> HI

10

**Proteína en tándem triple**

Se construyó una proteína "en tándem triple", donde  $n=3$ , basándose en las cepas (1) MC58, (2) 2996 y (3) m1239. La proteína en tándem triple de 757 unidades NH<sub>2</sub>-A-X<sub>1</sub>-L<sub>1</sub>-X<sub>2</sub>-L<sub>2</sub>-X<sub>3</sub>-L<sub>3</sub>-B-COOH tiene la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 142:

Resto	A	X <sub>1</sub>	L <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	L <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	L <sub>3</sub>	B
Detalle	-	NMB1870 <sub>MC58</sub>	Enlazador rico en Gly	NMB1870 <sub>2996</sub>	Enlazador rico en Gly	NMB1870 <sub>m1239</sub>	-	-
SEQ ID	-	80	144	81	144	84	-	-
Variante	-	1	-	2	-	3	-	-

15

X<sub>2</sub> y X<sub>3</sub> carecen ambos del extremo N terminal hasta sus regiones de poliglicina (es decir son secuencias ΔG).

**Títulos de SBA bactericidas**

Los ratones se inmunizaron con nueve proteínas diferentes y la actividad bactericida de los sueros resultantes se ensayó frente a diferentes cepas de meningococo, incluyendo ambas cepas que coinciden con las cepas de las que derivaron las proteínas inmunizadoras y cepas que son diferentes de las proteínas inmunizadoras. Las nueve proteínas fueron:

(A), (B) y (C) Proteínas híbridas de 936 y NMB1870

(A) NMB1870<sub>MC58</sub> = variante 1 [12]

(B) NMB1870<sub>2996</sub> = variante 2 por ejemplo SEQ ID NOS: 91 y 92

(C) NMB1870<sub>M1239</sub> = variante 3 por ejemplo SEQ ID NOS: 91 y 92

(D), (E) y (F) NMB 1870 de cepas individuales

(D) NMB1870<sub>MC58</sub> = variante 1 por ejemplo SEQ ID NO: 80

(E) NMB1870<sub>2996</sub> = variante 2 por ejemplo SEQ ID NO: 81

(F) NMB1870<sub>M1239</sub> = variante 3 por ejemplo SEQ ID NO: 84

(G), (H) y (I) proteínas en tándem de NMB1870

(G) NMB1870<sub>MC58</sub>-NMB1870<sub>2996</sub> = variantes 1 y 2 por ejemplo SEQ ID NO: 79 y 82

(H) NMB1870<sub>2996</sub>-NMB1870<sub>M1239</sub> = variantes 2 y 3 por ejemplo SEQ ID NO: 87 y 88

(I) NMB1870<sub>MC58</sub>-NMB1870<sub>M1239</sub> = variantes 1 y 3 por ejemplo SEQ ID NO: 83 y 85

Las respuestas bactericidas se midieron frente hasta 20 cepas que poseen la variante 1 de NMB 1870, frente hasta 22 cepas con la variante 2 de NMB1870 y frente hasta 5 cepas con la variante 3.

La eficacia bactericida de sueros inducidos contra proteínas (A) a (C) coincidió con el genotipo de las cepas de ensayo por ejemplo usando CFA como adyuvante para las inmunizaciones, los títulos de SBA contra la cepa MC58 (variante 1) fueron: (A) 262144; (B) <4; (C) <4. De forma similar, cuando los sueros se ensayaron frente a la cepa 961-5945 (variante 2) el SBA fue: (A) 256; (B) 32768; (C) 4096. Finalmente, frente a la cepa M1239 (variante 3) los títulos fueron: (A) <4; (B) 512; (C) 32768.

Usando CFA o hidróxido de aluminio como adyuvante, la proteína (A) proporcionó títulos de ABS de ≥512 frente a las siguientes cepas: M01-240185, M2197, LPN17592, M6190 (todas ET37); MC58, BZ83, CU385, N44/89, 44/76, M2934, M4215 (todas ET5); BZ133; M1390, ISS1026, ISS1106, ISS1102 (lin. 3); F6124 (sIII); y M2937 (otras). Estas cepas abarcan los serogrupos A, B, C y W135; no se ensayó ninguna cepa del serogrupo Y.

Usando CFA o hidróxido de aluminio como adyuvante, la proteína (B) proporcionó títulos de ABS ≥512 frente a las cepas: 2996, 961-5945, 96217 (grupo A4); M01-240013, C11, NGH38, M3279, M4287, BZ232 (otras). Estas cepas abarcan los serogrupos B y C; no se ensayó ninguna cepa de serogrupo A, W135 o Y.

Usando CFA o hidróxido de aluminio como adyuvante, la proteína (C) proporcionó títulos de ABS ≥512 frente a las cepas: M01-0240364, NGP165 (ET37); M1239 (lin. 3); M01-240355, M3369 (otras). Estas cepas están en el serogrupo B, y no se ensayó ninguna cepa de serogrupo A, C, W135 o Y.

Los patrones de ABS vistos con las proteínas (A) a (C) también se vieron con las proteínas (D) a (F). Contra la cepa MC58, el suero obtenido usando una proteína (D) y adyuvante de hidróxido de aluminio proporcionaron un título de ABS de 16384, mientras que los sueros obtenidos usando la proteína (E) o (F) y el mismo adyuvante proporcionó títulos de ABS <4. Frente a la cepa 961-5945, los sueros de proteína (D) y (F) proporcionaron títulos menores que los obtenidos usando (E). Frente a la cepa M1239, los títulos de ABS fueron: (D) <4; (E) 128; (F) 16384.

Con proteínas en tándem se amplió la eficacia de ABS. Los sueros obtenidos usando proteína (G) fueron bactericidas contra la cepa MC58 y 961-5945, así como otras cepas que poseen la variante 1 o variante 2 de NMB1870. Los sueros inducidos contra la proteína (H) proporcionaron títulos bajos frente a cepas que poseían la variante 1 de NMB1870, pero títulos altos contra otras cepas por ejemplo 163 84 frente a la cepa 961-5945 (variante 2) y 32768 frente a la cepa M3369 (variante 3).

Los sueros obtenidos por inmunización con proteína con CFA como adyuvante (H) proporcionaron títulos de ABS ≥512 frente a: LNP17094, 96217, 961-5945, 2996, 5/99 (grupo A4); C4678, MOI-0240364, NGP165 (ET37); M1239 (lin. 3); M2552, BZ232, M3279, M4287, 1000, NGH38, C11, M01-240013, M01-240355, M3369 (otras). Estas cepas abarcan los serogrupos B y C; la actividad contra cepas de los serogrupos A, W135 o Y no se ensayó con proteína (H).

Los sueros obtenidos por inmunización con proteína con CFA como adyuvante (I) proporcionaron títulos de ABS ≥512 frente a: M01-0240364, 14784, M6190, MC58, LPN17592, M2197 (ET37); 44/76 (ET5); M1239, ISS1102,



## ES 2 637 065 T3

ISS1106, ISS1026, 394/98 (lin. 3); M2937 (otras). Estas cepas abarcan los serogrupos B, C y W135; la actividad contra cepas de los serogrupos A o Y no se ensayó con proteína (I).

Después de inmunización con proteínas que contenían la variante 1 de NMB 1870, los sueros ensayados contra hasta 20 cepas que tenían un NMB 1870 en la variante 1 proporcionaron títulos de ABS de la siguiente manera:

Proteína	(A)	(A)	(D)	(D)	(G)	(G)	(I)	(I)
Adyuvante	CFA	Alum	CFA	Alum	CFA	Alum	CFA	Alum
n.º de cepas ensayadas	18	20	20	20	13	13	11	11
SBA <128	1	7	4	3	0	5	0	2
SBA 128-512	2	4	0	4	0	3	0	3
SBA >512	15	9	16	13	13	5	11	6

5

Después de inmunización con proteínas que contenían la variante 2 de NMB1870, los sueros ensayados contra hasta 22 cepas que tenían un NMB1870 en la variante 2 proporcionaron títulos de ABS de la siguiente manera:

Proteína	(B)	(B)	(E)	(G)	(G)	(H)	(H)	(I)	(I)
Adyuvante	CFA	Alum	Alum	CFA	Alum	CFA	Alum	CFA	Alum
n.º de cepas ensayadas	16	19	22	16	15	22	22	7	6
SBA <128	6	14	13	6	10	7	8	3	5
SBA 128-512	0	2	7	3	3	1	6	0	1
SBA >512	10	3	2	7	2	14	8	4	0

10 Después de inmunización con proteínas que contenían la variante 3 de NMB1870, los sueros ensayados frente hasta 5 cepas que tenían un NMB1870 en la variante 3 proporcionaron títulos de ABS de la siguiente manera:

Proteína	(C)	(C)	(F)	(G)	(G)	(H)	(H)	(I)	(I)
Adyuvante	CFA	Alum	Alum	CFA	Alum	CFA	Alum	CFA	Alum
n.º de cepas ensayadas	5	5	5	5	5	5	5	3	3
SBA <128	0	1	1	1	1	0	0	1	1
SBA 128-512	0	0	0	0	2	0	0	0	1
SBA >512	5	4	4	4	2	5	5	2	1

### Conclusiones

15 Al principio, parece que NMB1870 no es un antígeno útil para inmunización amplia, sus niveles de expresión varían entre cepas, hay variabilidad de secuencia significativa, y no hay ninguna protección cruzada entre las diferentes variantes. Sin embargo, se ha mostrado que incluso las cepas que expresan niveles muy bajos de este antígeno son susceptibles a sueros anti NMB1870. Además, la diversidad de secuencia está limitada a tres formas variantes de modo que puede conseguirse inmunidad amplia sin necesidad de un gran número de antígenos. Además, parece  
20 que estas tres proteínas pueden ofrecer inmunidad contra más que solamente meningococo del serogrupo B.

Las diferentes variantes de NMB1870 pueden expresarse juntas como proteínas de fusión para proporcionar cadenas polipeptídicas individuales que son activas contra más de una variante.

NMB1870 es inmunogénico durante la infección, es capaz de inducir anticuerpos bactericidas, y protege a crías de rata de exposición bacteriana.

Puede encontrarse información experimental adicional sobre NMB1870 en la referencia 197.

5 Se entenderá que la invención se ha descrito anteriormente solamente como ejemplo y pueden realizarse modificaciones permaneciendo aún dentro del alcance de la invención.

**Breve descripción del listado de secuencias**

SEQ ID NO:	Descripción
1-23	23 secuencias de NMB1870 diferentes, longitud completa
24-45	23 secuencias de NMB1870 diferentes, con cisteínas N terminales
46	Secuencia de aminoácidos N terminal usada para expresión
47-66	Cebadores de PCR
67-69	Secuencias parciales de la Figura 1
70-73 & 86	Motivos de secuencia para conservación u omisión de proteínas de la invención
74-75	Cajas Fur
76	"936" de MC58, con péptido líder procesado
77	Ejemplo de un híbrido 936 <sub>MC58</sub> -ΔG-NMB1870 <sub>M1239</sub>
78	Secuencia derivada de gonococo usada para expresión quimérica
79, 82, 83, 85, 87, 88, 89, 90	Proteínas NMB1870 en tándem
80, 81, 84	Secuencias de NMB 1870 truncadas
91-94	Proteínas híbridas de "936" y NMB1870
95-122	Cebadores de PCR
123-141	Secuencias de NMB1870 de longitud completa
142	Secuencia de NMB 1870 en tándem triple
143	Secuencia de Haji NadA
144	Enlazador de glicina

**Referencias**

10 [1] Jodar y col. (2002) Lancet 359(9316): 1499-1508.  
 [2] Tettelin y col. (2000) Science 287: 1809-1815.  
 [3] Pizza y col. (2000) Science 287: 1816-1820.  
 [4] Parkhill y col. (2000) Nature 404: 502-506.  
 [5] <http://dna1.chem.ou.edu/gono.html>  
 [6] WO99/24578.  
 15 [7] WO99/36544.  
 [8] WO99/57280.  
 [9] WO00/22430.  
 [10] WO01/64920.  
 [11] WO01/64922.  
 20 [12] WO03/020756.  
 [13] WO03/063766.  
 [14] Achtman (1995) Global epidemiology of meningococcal disease. Páginas 159-175 de Meningococcal disease (ed. Cartwright). ISBN: 0-471-95259-1.  
 [15] Caugant (1998) APMIS 106: 505-525.

- [16] Maiden y col. (1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95: 3140-3145.  
 [17] Reilly y Smith (1999) *Protein Expr Purif* 17: 401-409.  
 [18] Covacci y Rappuoli (2000) *J. Exp. Med.* 19: 587-592.  
 [19] WO93/18150.  
 5 [20] Covacci y col. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 5791-5795.  
 [21] Tummuru y col. (1994) *Infect. Immun.* 61: 1799-1809.  
 [22] Marchetti y col. (1998) *Vaccine* 16: 33-37.  
 [23] Telford y col. (1994) *J. Exp. Med.* 179: 1653-1658.  
 [24] Evans y col. (1995) *Gene* 153: 123-127.  
 10 [25] WO96/01272 y WO96/01273, especialmente SEQ ID NO:6.  
 [26] WO97/25429.  
 [27] WO98/04702.  
 [28] Costantino y col. (1992) *Vaccine* 10: 691-698.  
 [29] Costantino y col. (1999) *Vaccine* 17: 1251-1263.  
 15 [30] Solicitud de patente internacional WO03/007985.  
 [31] Watson (2000) *Pediatr Infect Dis J* 19: 331-332.  
 [32] Rubin (2000) *Pediatr Clin North Am* 47: 269-285, v.  
 [33] Jedrzejewski (2001) *Microbiol Mol Biol Rev* 65: 187-207.  
 [34] Bell (2000) *Pediatr Infect Dis J* 19: 1187-1188.  
 20 [35] Iwarson (1995) *APMIS* 103: 321-326.  
 [36] Gerlich y col. (1990) *Vaccine* 8 Supl: S63-68 y 79-80.  
 [37] *Vaccines* (1988) eds. Plotkin y Mortimer. ISBN 0-7216-1946-0.  
 [38] Del Giudice y col. (1998) *Molecular Aspects of Medicine* 19: 1-70.  
 [39] Gustafsson y col. (1996) *N. Engl. J. Med.* 334: 349-355.  
 25 [40] Rappuoli y col. (1991) *TIBTECH* 9: 232-238.  
 [41] Hsu y col. (1999) *Clin Liver Dis* 3: 901-915.  
 [42] WO02/079243.  
 [43] Solicitud de patente internacional WO02/02606.  
 [44] Kalman y col. (1999) *Nature Genetics* 21: 385-389.  
 30 [45] Read y col. (2000) *Nucleic Acids Res* 28: 1397-406.  
 [46] Shirai y col. (2000) *J. Infect. Dis.* 181(Supl 3): S524-S527.  
 [47] Solicitud de patente internacional WO99/27105.  
 [48] Solicitud de patente internacional WO00/27994.  
 [49] Solicitud de patente internacional WO00/37494.  
 35 [50] Solicitud de patente internacional WO99/28475.  
 [51] Ross y col. (2001) *Vaccine* 19: 4135-4142.  
 [52] Sutter y col. (2000) *Pediatr Clin North Am* 47: 287-308.  
 [53] Zimmerman y Spann (1999) *Am Fam Physician* 59: 113-118, 125-126.  
 [54] Dreesen (1997) *Vaccine* 15 Supl: S2-6.  
 40 [55] *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 16 ene 1998; 47(1): 12, 19.  
 [56] McMichael (2000) *Vaccine* 19 Supl 1: S101-107.  
 [57] Schuchat (1999) *Lancet* 353(9146):51-6.  
 [58] Solicitud de patente internacional WO02/34771.  
 [59] Dale (1999) *Infect Dis Clin North Am* 13: 227-43, viii.  
 45 [60] Ferretti y col. (2001) *PNAS USA* 98: 4658-4663.  
 [61] Kuroda y col. (2001) *Lancet* 357(9264): 1225-1240; véase también páginas 1218-1219.  
 [62] *J Toxicol Clin Toxicol* (2001) 39: 85-100.  
 [63] Demicheli y col. (1998) *Vaccine* 16: 880-884.  
 [64] Stepanov y col. (1996) *J Biotechnol* 44: 155-160.  
 50 [65] Ingram (2001) *Trends Neurosci* 24: 305-307.  
 [66] Rosenberg (2001) *Nature* 411: 380-384.  
 [67] Moingeon (2001) *Vaccine* 19: 1305-1326.  
 [68] EP-A-0372501  
 [69] EP-A-0378881  
 55 [70] EP-A-0427347  
 [71] WO93/17712  
 [72] WO94/03208  
 [73] WO98/58668  
 [74] EP-A-0471177  
 60 [75] WO00/56360  
 [76] WO91/01146  
 [77] WO00/61761  
 [78] WO01/72337  
 [79] Research Disclosure, 453077 (ene 2002)  
 65 [80] Jones (2001) *Curr Opin Investig Drugs* 2: 47-49.  
 [81] Ravenscroft y col. (1999) *Vaccine* 17: 2802-2816.

- [82] Solicitud de patente internacional WO03/080678.  
 [83] Nilsson y Svensson (1979) Carbohydrate Research 69: 292-296  
 [84] Frash (1990) p.123-145 of Advances in Biotechnological Processes vol. 13 (eds. Mizrahi y Van Wezel)  
 [85] Inzana (1987) Infect. Immun. 55: 1573-1579.  
 5 [86] Kandil y col. (1997) Glycoconj J 14: 13-17.  
 [87] Berkin y col. (2002) Chemistry 8: 4424-4433.  
 [88] Lindberg (1999) Vaccine 17 Supl 2: S28-36.  
 [89] Buttery y Moxon (2000) JR Coll Physicians Lond 34: 163-168.  
 [90] Ahmad y Chapnick (1999) Infect Dis Clin North Am 13: 113-33, vii.  
 10 [91] Goldblatt (1998) J. Med. Microbiol. 47: 563-567.  
 [92] Patente europea 0477508.  
 [93] Patente de Estados Unidos 5.306.492.  
 [94] WO98/42721.  
 [95] Dick y col. en Conjugate Vaccines (eds. Cruse y col.) Karger, Basel, 1989, 10: 48-114.  
 15 [96] Hermanson Bioconjugate Techniques, Academic Press, San Diego (1996) ISBN: 0123423368.  
 [97] Kanra y col. (1999) The Turkish Journal of Paediatrics 42: 421-427.  
 [98] Ravenscroft y col. (2000) Dev Biol (Basel) 103: 35-47.  
 [99] WO97/00697.  
 [100] WO02/00249.  
 20 [101] Zielen y col. (2000) Infect. Immun. 68: 1435-1440.  
 [102] Darkes y Plosker (2002) Paediatr Drugs 4: 609-630.  
 [103] Tettelin y col. (2001) Science 293: 498-506.  
 [104] Hoskins y col (2001) J Bacteriol 183: 5709-5717.  
 [105] Rappuoli (2000) Curr Opin Microbiol 3: 445-450  
 25 [106] Rappuoli (2001) Vaccine 19: 2688-2691.  
 [107] Massignani y col. (2002) Expert Opin Biol Ther 2: 895-905.  
 [108] Mora y col. (2003) Drug Discov Today 8: 459-464.  
 [109] Wizemann y col. (2001) Infect Immun 69: 1593-1598.  
 [110] Rigden y col. (2003) Crit Rev Biochem Mol Biol 38: 143-168.  
 30 [111] WO02/22167.  
 [112] Ramsay y col. (2001) Lancet 357(9251): 195-196.  
 [113] Anderson (1983) Infect Immun 39(1): 233-238.  
 [114] Anderson y col. (1985) J Clin Invest 76(1): 52-59.  
 [115] Falugi y col. (2001) Eur J Immunol 31: 3816-3824.  
 35 [116] EP-A-0594610.  
 [117] WO02/091998.  
 [118] WO99/42130  
 [119] WO96/40242  
 [120] Lees y col. (1996) Vaccine 14: 190-198.  
 40 [121] WO95/08348.  
 [122] Patente de Estados Unidos 4.882.317  
 [123] Patente de Estados Unidos 4.695.624  
 [124] Porro y col. (1985) Mol Immunol 22: 907-919.s  
 [125] EP-A-0208375  
 45 [126] WO00/10599  
 [127] Gevert y col. Med. Microbiol. Immunol, 165: 171-288 (1979).  
 [128] Patente de Estados Unidos 4.057.685.  
 [129] Patente de Estados Unidos 4.673.574; 4.761.283; 4.808.700.  
 [130] Patente de Estados Unidos 4.459.286.  
 50 [131] Patente de Estados Unidos 4.965.338  
 [132] Patente de Estados Unidos 4.663.160.  
 [133] Patente de Estados Unidos 4.761.283  
 [134] Patente de Estados Unidos 4.356.170  
 [135] Lei y col. (2000) Dev Biol (Basel) 103:259-264.  
 55 [136] WO00/38711; Patente de Estados Unidos 6.146.902.  
 [137] WO02/09643.  
 [138] Katial y col. (2002) Infect Immun 70: 702-707.  
 [139] WO01/52885.  
 [140] Patente europea 0301992.  
 60 [141] Bjune y col. (1991) Lancet 338(8775): 1093-1096.  
 [142] Fukasawa y col. (1999) Vaccine 17: 2951-2958.  
 [143] WO02/09746.  
 [144] Rosenqvist y col. (1998) Dev. Biol. Stand. 92: 323-333.  
 [145] WO01/09350.  
 65 [146] Patente europea 0449958.  
 [147] EP-A-0996712.

- [148] EP-A-0680512.  
 [149] WO02/062378.  
 [150] WO99/59625.  
 5 [151] Patente de Estados Unidos 6.180.111.  
 [152] WO01/34642.  
 [153] WO03/051379.  
 [154] Patente de Estados Unidos 6.558.677  
 [155] WO2004/019977.  
 [156] WO02/062380.  
 10 [157] WO00/25811.  
 [158] Peeters y col. (1996) Vaccine 14: 1008-1015.  
 [159] Vermont y col. (2003) Infect Immun 71: 1650-1655.  
 [160] WO01/30390.  
 [161] Gennaro (2000) Remington: The Science and Practice of Pharmacy. 20ª edición, ISBN: 0683306472.  
 15 [162] WO03/009869.  
 [163] Vaccine design: the subunit and adjuvant approach, eds. Powell y Newman, Plenum Press 1995 (ISBN 0-306-44867-X).  
 [164] WO90/14837.  
 [165] WO02/26212.  
 20 [166] WO98/33487.  
 [167] WO00/07621.  
 [168] WO99/27960.  
 [169] WO98/57659.  
 [170] Solicitudes de patente europea 0835318, 0735898 y 0761231.  
 25 [171] Krieg (2000) Vaccine 19:618-622; Krieg (2001) Curr opin Mol Ther 2001 3:15-24; WO96/02555, WO98/16247, WO98/18810, WO98/40100, WO98/55495, WO98/37919 y WO98/52581 etc.  
 [172] WO99/52549.  
 [173] WO01/21207.  
 [174] WO01/21152.  
 30 [175] WO00/62800.  
 [176] WO00/23105.  
 [177] WO99/11241.  
 [178] de Lorenzo y col. (1987) J. Bacteriol. 169: 2624-2630.  
 [179] Nakai y Kanehisa (1991) Proteins 11: 95-110.  
 35 [180] Yamaguchi y col. (1988) Cell 53:423-432.  
 [181] <http://cubic.bioc.columbia.edu/predictprotein/>  
 [182] <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>  
 [183] Strutzberg y col. (1995) Infect. Immun. 63: 3846-3850.  
 [184] Legrain y col. (1993) Gene 130: 73-80.  
 40 [185] Loosmore y col. (1996) Mol Microbiol 19: 575-586.  
 [186] Myers y col. (1998) Infect. Immun. 66: 4183-4192.  
 [187] Schlegel y col. (2002) J. Bacteriol. 184: 3069-3077.  
 [188] Turner y col. (2002) Infect. Immun. 70: 4447-4461.  
 [189] <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PMGifs/Genomes/micr.html>  
 45 [190] Voulhoux y col. Thirteenth International Pathogenic Neisseria Conference. NIPH, Oslo, página 31.  
 [191] Comanducci y col. (2002) J. Exp. Med. 195: 1445-1454.  
 [192] WO 03/010194.  
 [193] Jennings y col. (2002) Eur. J. Biochem. 269: 3722-3731.  
 [194] Granoff y col. (1998) J. Immunol. 160: 5028-5036.  
 50 [195] Grifantini y col. (2002) Nat. Biotechnol. 20: 914-921.  
 [196] Peeters y col. (1999) Vaccine 17: 2702-2712.  
 [197] Masignani y col. (2003) JExp Med 197: 789-799.

LISTADO DE SECUENCIAS

- <110> NOVARTIS VACCINES AND DIAGNOSTICS S.R.L.  
 55 <120> MÚLTIPLES VARIANTES DE LA PROTEÍNA MENINGOCÓCICA NMB1870  
 <130> P055827EP  
 60 <150> EP-03780528.0  
 <151> 21-11-2003  
 <150> PCT/IB03/06320  
 <151> 21-11-2003

<150> GB-0227346.4  
<151> 22-11-2002

5 <160> 144

<170> Secuencia Banana

10 <210> 1  
<211> 274  
<212> PRT  
<213> *Neisseria meningitidis*

15 <400> 1

ES 2 637 065 T3

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

<210> 2  
 <211> 274  
 <212> PRT  
 <213> *Neisseria meningitidis*  
 <400> 2

5

ES 2 637 065 T3

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

<210> 3  
 <211> 274  
 <212> PRT  
 <213> *Neisseria meningitidis*  
 <400> 3

5



ES 2 637 065 T3

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

5 <210> 4  
 <211> 274  
 <212> PRT  
 <213> *Neisseria meningitidis*  
 <400> 4

ES 2 637 065 T3

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

Leu Thr Ala Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly  
20 25 30

Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp Lys  
35 40 45

Ser Leu Gln Ser Leu Thr Leu Asp Gln Ser Val Arg Lys Asn Glu Lys  
50 55 60

Leu Lys Leu Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Tyr Gly Asn Gly Asp  
65 70 75 80

Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Val Ser Arg Phe Asp  
85 90 95

Phe Ile Arg Gln Ile Glu Val Asp Gly Gln Leu Ile Thr Leu Glu Ser  
100 105 110

Gly Glu Phe Gln Val Tyr Lys Gln Ser His Ser Ala Leu Thr Ala Leu  
115 120 125

Gln Thr Glu Gln Glu Gln Asp Pro Glu His Ser Gly Lys Met Val Ala  
130 135 140

Lys Arg Arg Phe Lys Ile Gly Asp Ile Ala Gly Glu His Thr Ser Phe  
145 150 155 160

Asp Lys Leu Pro Lys Asp Val Met Ala Thr Tyr Arg Gly Thr Ala Phe  
165 170 175

Gly Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala  
180 185 190

Ala Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Ser Pro Glu Leu  
195 200 205

Asn Val Glu Leu Ala Thr Ala Tyr Ile Lys Pro Asp Glu Lys His His  
210 215 220

Ala Val Ile Ser Gly Ser Val Leu Tyr Asn Gln Asp Glu Lys Gly Ser  
225 230 235 240

Tyr Ser Leu Gly Ile Phe Gly Gly Gln Ala Gln Glu Val Ala Gly Ser  
245 250 255

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

Lys Gln

<210> 5  
<211> 279  
<212> PRT  
<213> *Neisseria meningitidis*  
<400> 5

5

ES 2 637 065 T3

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

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

ES 2 637 065 T3

<400> 6

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

Lys Gln

5

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

ES 2 637 065 T3

<400> 7

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

5 <210> 8  
 <211> 274  
 <212> PRT  
 <213> *Neisseria meningitidis*

ES 2 637 065 T3

<400> 8

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

- 5 <210> 9
- <211> 274
- <212> PRT
- <213> *Neisseria meningitidis*

ES 2 637 065 T3

<400> 9

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

- 5 <210> 10
- <211> 273
- <212> PRT
- <213> *Neisseria meningitidis*

ES 2 637 065 T3

<400> 10

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

5 <210> 11  
 <211> 273  
 <212> PRT  
 <213> *Neisseria meningitidis*

10 <400> 11



ES 2 637 065 T3

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

5 <210> 12  
<211> 273  
<212> PRT  
<213> *Neisseria meningitidis*

10 <400> 12

ES 2 637 065 T3

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

<210> 13  
 <211> 273  
 <212> PRT  
 <213> *Neisseria meningitidis*  
 <400> 13

5

ES 2 637 065 T3

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

<210> 14  
 <211> 273  
 <212> PRT  
 <213> *Neisseria meningitidis*  
 <400> 14

5

ES 2 637 065 T3

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

<210> 15  
 <211> 273  
 <212> PRT  
 <213> *Neisseria meningitidis*  
 <400> 15

5

ES 2 637 065 T3

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

<210> 16  
 <211> 273  
 <212> PRT  
 <213> *Neisseria meningitidis*  
 <400> 16

5

ES 2 637 065 T3

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

Gln

<210> 17  
 <211> 273  
 <212> PRT  
 <213> *Neisseria meningitidis*  
 <400> 17

5

ES 2 637 065 T3

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

Gln

<210> 18  
 <211> 281  
 <212> PRT  
 <213> *Neisseria meningitidis*  
 <400> 18

5

ES 2 637 065 T3

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

Leu Thr Ala Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Val  
20 25 30

Ala Ala Asp Ile Gly Thr Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu  
35 40 45

Asp His Lys Asp Lys Gly Leu Lys Ser Leu Thr Leu Glu Asp Ser Ile  
50 55 60

Pro Gln Asn Gly Thr Leu Thr Leu Ser Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr  
65 70 75 80

Phe Lys Ala Gly Asp Lys Asp Asn Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys  
85 90 95

Asn Asp Lys Ile Ser Arg Phe Asp Phe Val Gln Lys Ile Glu Val Asp  
100 105 110

Gly Gln Thr Ile Thr Leu Ala Ser Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Gln  
115 120 125

Asn His Ser Ala Val Val Ala Leu Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro  
130 135 140

Asp Lys Thr Asp Ser Leu Ile Asn Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser Gly  
145 150 155 160

Leu Gly Gly Glu His Thr Ala Phe Asn Gln Leu Pro Gly Gly Lys Ala  
165 170 175

Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp Pro Asn Gly Arg Leu  
180 185 190

His Tyr Ser Ile Asp Phe Thr Lys Lys Gln Gly Tyr Gly Arg Ile Glu  
195 200 205

His Leu Lys Thr Leu Glu Gln Asn Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu  
210 215 220

Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr  
225 230 235 240

Gly Ser Glu Glu Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg  
245 250 255

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

His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys Gln  
275 280

<210> 19

<211> 281

<212> PRT

<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 19

5



ES 2 637 065 T3

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

Leu Thr Ala Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Val  
20 25 30

Ala Ala Asp Ile Gly Thr Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu  
35 40 45

Asp His Lys Asp Lys Gly Leu Lys Ser Leu Thr Leu Glu Asp Ser Ile  
50 55 60

Pro Gln Asn Gly Thr Leu Thr Leu Ser Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr  
65 70 75 80

Phe Lys Ala Gly Asp Lys Asp Asn Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys  
85 90 95

Asn Asp Lys Ile Ser Arg Phe Asp Phe Val Gln Lys Ile Glu Val Asp  
100 105 110

Gly Gln Thr Ile Thr Leu Ala Ser Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Gln  
115 120 125

Asp His Ser Ala Val Val Ala Leu Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro  
130 135 140

Asp Lys Ile Asp Ser Leu Ile Asn Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser Gly  
145 150 155 160

Leu Gly Gly Glu His Thr Ala Phe Asn Gln Leu Pro Gly Gly Lys Ala  
165 170 175

Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu  
180 185 190

Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala Ala Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu  
195 200 205

His Leu Lys Thr Pro Glu Gln Asn Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu  
210 215 220

Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr  
225 230 235 240

Gly Ser Glu Glu Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg  
245 250 255

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

His Glu Ile Ser Ile Ala Gly Lys Gln  
275 280

5 <210> 20  
<211> 281  
<212> PRT  
<213> *Neisseria meningitidis*

ES 2 637 065 T3

<400> 20

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

- 5 <210> 21
- <211> 279
- <212> PRT
- <213> *Neisseria meningitidis*

ES 2 637 065 T3

<400> 21

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

- 5 <210> 22
- <211> 281
- <212> PRT
- <213> *Neisseria meningitidis*

ES 2 637 065 T3

<400> 22

```

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

Leu Thr Ala Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Val
 20          25          30

Ala Ala Asp Ile Gly Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu
 35          40          45

Asp His Lys Asp Lys Gly Leu Lys Ser Leu Thr Leu Glu Asp Ser Ile
 50          55          60

Pro Gln Asn Gly Thr Leu Thr Leu Ser Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr
 65          70          75          80

Phe Lys Ala Gly Gly Lys Asp Asn Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys
 85          90          95

Asn Asp Lys Ile Ser Arg Phe Asp Phe Val Gln Lys Ile Glu Val Asp
100          105          110

Gly Gln Thr Ile Thr Leu Ala Ser Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Gln
115          120          125

Asp His Ser Ala Val Val Ala Leu Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro
130          135          140

Asp Lys Thr Asp Ser Leu Ile Asn Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser Gly
145          150          155          160

Leu Gly Gly Glu His Thr Ala Phe Asn Gln Leu Pro Gly Gly Lys Ala
165          170          175

Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp Pro Asn Gly Arg Leu
180          185          190

His Tyr Thr Ile Asp Phe Thr Asn Lys Gln Gly Tyr Gly Arg Ile Glu
195          200          205

His Leu Lys Thr Pro Glu Gln Asn Val Glu Leu Ala Ser Ala Glu Leu
210          215          220

Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr
225          230          235          240

Gly Ser Glu Glu Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg
245          250          255

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

His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys Gln
275          280

```

5

<210> 23  
 <211> 279  
 <212> PRT

ES 2 637 065 T3

<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 23

```

Met Asn Arg Thr Thr Phe Cys Cys Leu Ser Leu Thr Ala Gly Pro Asp
1          5          10          15

Ser Asp Arg Leu Gln Gln Arg Arg Gly Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala
20          25          30

Asp Ile Gly Thr Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His
35          40          45

Lys Asp Lys Gly Leu Lys Ser Leu Thr Leu Glu Ala Ser Ile Pro Gln
50          55          60

Asn Gly Thr Leu Thr Leu Ser Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Phe Lys
65          70          75          80

Ala Gly Gly Lys Asp Asn Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp
85          90          95

Lys Ile Ser Arg Phe Asp Phe Val Gln Lys Ile Glu Val Asp Gly Gln
100         105         110

Thr Ile Thr Leu Ala Ser Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Gln Asp His
115        120        125

Ser Ala Val Val Ala Leu Arg Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys
130        135        140

Ile Asp Ser Leu Ile Asn Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser Asp Leu Gly
145        150        155        160

Gly Glu His Thr Ala Phe Asn Gln Leu Pro Asp Gly Lys Ala Glu Tyr
165        170        175

His Gly Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp Ala Asp Gly Lys Leu Thr Tyr
180        185        190

Thr Ile Asp Phe Ala Ala Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu
195        200        205

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

Asp Glu Lys Ser His Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Gly
225        230        235        240

Glu Glu Lys Gly Thr Tyr Arg Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln
245        250        255

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

Ile Gly Ile Ala Asp Lys Gln
275

```

5

<210> 24

<211> 255

<212> PRT

10

ES 2 637 065 T3

<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 24

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

5

<210> 25

<211> 255

<212> PRT

10

<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 25

ES 2 637 065 T3

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

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

5

<400> 26

ES 2 637 065 T3

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

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

5

<400> 27



ES 2 637 065 T3

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

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

5

<400> 28

ES 2 637 065 T3

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

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

5

<400> 29

ES 2 637 065 T3

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

<210> 30  
 <211> 255  
 <212> PRT  
 <213> *Neisseria meningitidis*  
 <400> 30

5

ES 2 637 065 T3

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

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

5

<400> 31

ES 2 637 065 T3

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

<210> 32

<211> 255

<212> PRT

<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 32

5

ES 2 637 065 T3

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

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

5

<400> 33

ES 2 637 065 T3

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

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

<400> 34

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

5

10

ES 2 637 065 T3

Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp Lys Ser Leu Gln  
 20 25 30

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

Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Tyr Gly Asn Gly Asp Ser Leu Asn  
 50 55 60

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

Gln Ile Glu Val Asp Gly Gln Leu Ile Thr Leu Glu Ser Gly Glu Phe  
 85 90 95

Gln Ile Tyr Lys Gln Asp His Ser Ala Val Val Ala Leu Gln Ile Glu  
 100 105 110

Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys Ile Asp Ser Leu Ile Asn Gln Arg Ser  
 115 120 125

Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly Gly Glu His Thr Ala Phe Asn Gln Leu  
 130 135 140

Pro Ser Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp  
 145 150 155 160

Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala Ala Lys Gln Gly  
 165 170 175

His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Thr Pro Glu Gln Asn Val Glu Leu  
 180 185 190

Ala Ser Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala Val Ile Leu  
 195 200 205

Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Gly Glu Glu Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala  
 210 215 220

Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys  
 225 230 235 240

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

<210> 35  
 <211> 254  
 <212> PRT  
 <213> *Neisseria meningitidis*  
 <400> 35

5



ES 2 637 065 T3

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

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

5

<400> 36

ES 2 637 065 T3

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

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

5

<400> 37

ES 2 637 065 T3

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

<210> 38

<211> 254

<212> PRT

<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 38

5

ES 2 637 065 T3

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

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

5

<400> 39

ES 2 637 065 T3

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

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

5

<400> 40

ES 2 637 065 T3

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

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

<400> 41

Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp  
 1 5 10 15

5

10

ES 2 637 065 T3

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

<210> 42  
 <211> 262  
 <212> PRT  
 <213> *Neisseria meningitidis*  
 <400> 42

5

ES 2 637 065 T3

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

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

5

<400> 43



ES 2 637 065 T3

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

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

5

<400> 44

ES 2 637 065 T3

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

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

5

<400> 45

ES 2 637 065 T3

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

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

5

<400> 46



<220>  
 <223> Cebador de amplificación  
 5 <400> 52  
 gcccaagctt ctgttgccg gcgatgcc 28  
 <210> 53  
 <211> 37  
 10 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Cebador de amplificación  
 15 <400> 53  
 cgcgatccc atatgaatcg aactgccttc tgctgcc 37  
 <210> 54  
 <211> 30  
 20 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Cebador de amplificación  
 25 <400> 54  
 cccgctcgag ttattgcttg gcggaaggc 30  
 <210> 55  
 <211> 17  
 30 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Cebador de amplificación  
 35 <400> 55  
 gacctgcctc attgatg 17  
 <210> 56  
 <211> 25  
 40 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 45 <220>  
 <223> Cebador de amplificación  
 <400> 56  
 50 cggtaaatta tcgtgttcgg acggc 25  
 <210> 57  
 <211> 21  
 55 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Cebador de amplificación  
 60 <400> 57  
 caaatcgaag tggacgggca g 21  
 <210> 58  
 <211> 23  
 65 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

	<220>		
	<223> Cebador de amplificación		
5	<400> 58	tgttcgattt tgccgttcc ctg	23
	<210> 59		
	<211> 24		
10	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Cebador de amplificación		
15	<400> 59	gctctagacc agccagcgc atac	24
	<210> 60		
	<211> 29		
20	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Cebador de amplificación		
25	<400> 60	tccccgggg acggcattt gtttacagg	29
	<210> 61		
	<211> 28		
30	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Cebador de amplificación		
35	<400> 61	tccccgggc gccaaagcaat aaccattg	28
	<210> 62		
	<211> 28		
40	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Cebador de amplificación		
45	<400> 62	cccgctcgag cagcgtatcg aaccatgc	28
50	<210> 63		
	<211> 27		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
55	<220>		
	<223> Cebador de amplificación		
60	<400> 63	gctctagatt cttccaag aactctc	27
	<210> 64		
	<211> 26		
	<212> ADN		
65	<213> Secuencia artificial		

ES 2 637 065 T3

<220>  
 <223> Cebador de amplificación

5 <400> 64  
 tccccgggc ccgatcatc caccac 26

10 <210> 65  
 <211> 26  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

15 <220>  
 <223> Cebador de amplificación

20 <400> 65  
 tccccggga tccacgcaaa tacccc 26

25 <210> 66  
 <211> 28  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

30 <220>  
 <223> Cebador de amplificación

35 <400> 66  
 cccgctcgag atataagtg aagacgga 28

40 <210> 67  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> *Neisseria meningitidis*

45 <400> 67

Leu Asn Gln Ile Val Lys  
 1 5

50 <210> 68  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> *Neisseria meningitidis*

55 <400> 68

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

Leu Thr Ala Cys  
 20

60 <210> 69  
 <211> 240  
 <212> ADN  
 <213> *Neisseria meningitidis*

65 <400> 69

aattgaacca aatcgtcaaa taacagggtg cctgtaaaca aaatgccgtc tgaaccgocg 60  
 ttcggacgac atttgatttt tgcttctttg acctgcctca ttgatgcggt atgcaaaaaa 120  
 agataccata accaaaatgt ttatatatta tctattctgc gtatgactag gagtaaacct 180  
 gtgaatcgaa ctgccttctg ctgcctttct ctgaccactg ccttgattct gaccgcctgc 240

70 <210> 70

ES 2 637 065 T3

<211> 5  
 <212> PRT  
 <213> *Neisseria meningitidis*  
 5 <400> 70  
  
 Thr Arg Ser Lys Pro  
 1 5  
  
 <210> 71  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> *Neisseria meningitidis*  
 10  
  
 <400> 71  
 15  
  
 Thr Arg Ser Lys Pro Val  
 1 5  
  
 <210> 72  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> *Neisseria meningitidis*  
 20  
  
 <400> 72  
  
 Pro Ser Glu Pro Pro Phe Gly  
 1 5  
 25  
  
 <210> 73  
 <211> 4  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 30  
  
 <220>  
 <223> Tetrapéptido Gly4  
 35  
  
 <400> 73  
  
 Gly Gly Gly Gly  
 1  
  
 <210> 74  
 <211> 19  
 <212> ADN  
 <213> *Neisseria meningitidis*  
 40  
  
 <400> 74  
 cataaccaa atgtttata 19  
 45  
  
 <210> 75  
 <211> 19  
 <212> ADN  
 <213> *Escherichia coli*  
 50  
  
 <400> 75  
 gataatgata atcattatc 19  
 55  
  
 <210> 76  
 <211> 179  
 <212> PRT  
 <213> *Neisseria meningitidis*  
 60  
  
 <400> 76



ES 2 637 065 T3

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

Val Gln Arg

<210> 77

<211> 436

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Proteína híbrida de meningococo

<400> 77

5

10

# ES 2 637 065 T3

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

ES 2 637 065 T3

Arg Phe Asp Phe Val Gln Lys Ile Glu Val Asp Gly Gln Thr Ile Thr  
 260 265 270

Leu Ala Ser Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Gln Asn His Ser Ala Val  
 275 280 285

Val Ala Leu Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys Thr Asp Ser  
 290 295 300

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

Thr Ala Phe Asn Gln Leu Pro Gly Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly Lys  
 325 330 335

Ala Phe Ser Ser Asp Asp Pro Asn Gly Arg Leu His Tyr Ser Ile Asp  
 340 345 350

Phe Thr Lys Lys Gln Gly Tyr Gly Arg Ile Glu His Leu Lys Thr Leu  
 355 360 365

Glu Gln Asn Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys  
 370 375 380

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

Gly Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala  
 405 410 415

Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile  
 420 425 430

Ala Gly Lys Gln  
 435

5 <210> 78  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Enlazador  
 <400> 78

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

15 <210> 79  
 <211> 508  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> Proteína en tándem de meningococo  
 <400> 79

ES 2 637 065 T3

Val Ala Ala Asp Ile Gly Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro  
1                   5                   10                   15  
Leu Asp His Lys Asp Lys Gly Leu Gln Ser Leu Thr Leu Asp Gln Ser  
          20                   25                   30

ES 2 637 065 T3

Val Arg Lys Asn Glu Lys Leu Lys Leu Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys  
35 40 45

Thr Tyr Gly Asn Gly Asp Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp  
50 55 60

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

Leu Ile Thr Leu Glu Ser Gly Glu Phe Gln Val Tyr Lys Gln Ser His  
85 90 95

Ser Ala Leu Thr Ala Phe Gln Thr Glu Gln Ile Gln Asp Ser Glu His  
100 105 110

Ser Gly Lys Met Val Ala Lys Arg Gln Phe Arg Ile Gly Asp Ile Ala  
115 120 125

Gly Glu His Thr Ser Phe Asp Lys Leu Pro Glu Gly Gly Arg Ala Thr  
130 135 140

Tyr Arg Gly Thr Ala Phe Gly Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr  
145 150 155 160

Tyr Thr Ile Asp Phe Ala Ala Lys Gln Gly Asn Gly Lys Ile Glu His  
165 170 175

Leu Lys Ser Pro Glu Leu Asn Val Asp Leu Ala Ala Ala Asp Ile Lys  
180 185 190

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

Gln Ala Glu Lys Gly Ser Tyr Ser Leu Gly Ile Phe Gly Gly Lys Ala  
210 215 220

Gln Glu Val Ala Gly Ser Ala Glu Val Lys Thr Val Asn Gly Ile Arg  
225 230 235 240

His Ile Gly Leu Ala Ala Lys Gln Gly Ser Gly Pro Asp Ser Asp Arg  
245 250 255

Leu Gln Gln Arg Arg Val Ala Ala Asp Ile Gly Ala Gly Leu Ala Asp  
260 265 270

Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp Lys Ser Leu Gln Ser Leu  
275 280 285

Thr Leu Asp Gln Ser Val Arg Lys Asn Glu Lys Leu Lys Leu Ala Ala  
290 295 300

Gln Gly Ala Glu Lys Thr Tyr Gly Asn Gly Asp Ser Leu Asn Thr Gly  
305 310 315 320

Lys Leu Lys Asn Asp Lys Val Ser Arg Phe Asp Phe Ile Arg Gln Ile  
325 330 335

Glu Val Asp Gly Gln Leu Ile Thr Leu Glu Ser Gly Glu Phe Gln Ile  
340 345 350

Tyr Lys Gln Asp His Ser Ala Val Val Ala Leu Gln Ile Glu Lys Ile  
355 360 365

ES 2 637 065 T3

Asn Asn Pro Asp Lys Ile Asp Ser Leu Ile Asn Gln Arg Ser Phe Leu  
 370 375 380

Val Ser Gly Leu Gly Gly Glu His Thr Ala Phe Asn Gln Leu Pro Asp  
 385 390 395 400

Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp Ala Gly  
 405 410 415

Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala Ala Lys Gln Gly His Gly  
 420 425 430

Lys Ile Glu His Leu Lys Thr Pro Glu Gln Asn Val Glu Leu Ala Ala  
 435 440 445

Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala Val Ile Leu Gly Asp  
 450 455 460

Thr Arg Tyr Gly Ser Glu Glu Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe  
 465 470 475 480

Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly  
 485 490 495

Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys Gln  
 500 505

5

<210> 80  
 <211> 248  
 <212> PRT  
 <213> *Neisseria meningitidis*  
 <400> 80

ES 2 637 065 T3

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

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

5

<400> 81

ES 2 637 065 T3

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

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

<220>  
 <223> Proteína en tándem de meningococo

<400> 82



ES 2 637 065 T3

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

ES 2 637 065 T3

His Ile Gly Leu Ala Ala Lys Gln Gly Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala  
 245 250 255

Ala Asp Ile Gly Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp  
 260 265 270

His Lys Asp Lys Ser Leu Gln Ser Leu Thr Leu Asp Gln Ser Val Arg  
 275 280 285

Lys Asn Glu Lys Leu Lys Leu Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Tyr  
 290 295 300

Gly Asn Gly Asp Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Val  
 305 310 315 320

Ser Arg Phe Asp Phe Ile Arg Gln Ile Glu Val Asp Gly Gln Leu Ile  
 325 330 335

Thr Leu Glu Ser Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Gln Asp His Ser Ala  
 340 345 350

Val Val Ala Leu Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys Ile Asp  
 355 360 365

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

His Thr Ala Phe Asn Gln Leu Pro Asp Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly  
 385 390 395 400

Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile  
 405 410 415

Asp Phe Ala Ala Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Thr  
 420 425 430

Pro Glu Gln Asn Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu  
 435 440 445

Lys Ser His Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser Glu Glu  
 450 455 460

Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile  
 465 470 475 480

Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu Ile Gly  
 485 490 495

Ile Ala Gly Lys Gln  
 500

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

5

<220>  
 <223> Proteína en tándem de meningococo

10

<400> 83

ES 2 637 065 T3

Val Ala Ala Asp Ile Gly Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro  
1                   5                   10                   15

ES 2 637 065 T3

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

ES 2 637 065 T3

Phe Gln Ile Tyr Lys Gln Asn His Ser Ala Val Val Ala Leu Gln Ile  
 355 360 365

Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys Thr Asp Ser Leu Ile Asn Gln Arg  
 370 375 380

Ser Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly Gly Glu His Thr Ala Phe Asn Gln  
 385 390 395 400

Leu Pro Gly Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser Ser Asp  
 405 410 415

Asp Pro Asn Gly Arg Leu His Tyr Ser Ile Asp Phe Thr Lys Lys Gln  
 420 425 430

Gly Tyr Gly Arg Ile Glu His Leu Lys Thr Leu Glu Gln Asn Val Glu  
 435 440 445

Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala Val Ile  
 450 455 460

Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser Glu Glu Lys Gly Thr Tyr His Leu  
 465 470 475 480

Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val  
 485 490 495

Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys Gln  
 500 505 510

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

5

<400> 84

ES 2 637 065 T3

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

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

5

<220>  
 <223> Proteína en tándem de meningococo

10

<400> 85

ES 2 637 065 T3

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

ES 2 637 065 T3

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



# ES 2 637 065 T3

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

5 <220>  
<223> Enlazador

<400> 86

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

15 <210> 87  
<211> 521  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Proteína en tándem de meningococo

20 <400> 87

ES 2 637 065 T3

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

ES 2 637 065 T3

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

<210> 88  
 <211> 514  
 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Proteína en tándem de meningococo

5

<400> 88

ES 2 637 065 T3

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

Gly Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp  
20 25 30

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

Lys Leu Lys Leu Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Tyr Gly Asn Gly  
50 55 60

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

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

Ser Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Gln Asp His Ser Ala Val Val Ala  
100 105 110

Leu Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys Ile Asp Ser Leu Ile  
115 120 125

Asn Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly Gly Glu His Thr Ala  
130 135 140

Phe Asn Gln Leu Pro Asp Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe  
145 150 155 160

Ser Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala  
165 170 175

Ala Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Thr Pro Glu Gln  
180 185 190

Asn Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His  
195 200 205

Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser Glu Glu Lys Gly Thr  
210 215 220

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

Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly  
245 250 255

Lys Gln Gly Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly Thr Gly  
260 265 270

Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp Lys Gly Leu  
275 280 285

Lys Ser Leu Thr Leu Glu Asp Ser Ile Pro Gln Asn Gly Thr Leu Thr  
290 295 300

Leu Ser Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Phe Lys Ala Gly Asp Lys Asp  
305 310 315 320

ES 2 637 065 T3

Asn Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Ile Ser Arg Phe  
 325 330 335

Asp Phe Val Gln Lys Ile Glu Val Asp Gly Gln Thr Ile Thr Leu Ala  
 340 345 350

Ser Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Gln Asn His Ser Ala Val Val Ala  
 355 360 365

Leu Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys Thr Asp Ser Leu Ile  
 370 375 380

Asn Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly Gly Glu His Thr Ala  
 385 390 395 400

Phe Asn Gln Leu Pro Gly Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe  
 405 410 415

Ser Ser Asp Asp Pro Asn Gly Arg Leu His Tyr Ser Ile Asp Phe Thr  
 420 425 430

Lys Lys Gln Gly Tyr Gly Arg Ile Glu His Leu Lys Thr Leu Glu Gln  
 435 440 445

Asn Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His  
 450 455 460

Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser Glu Glu Lys Gly Thr  
 465 470 475 480

Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser  
 485 490 495

Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly  
 500 505 510

Lys Gln

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

5

<220>  
 <223> Proteína en tándem de meningococo

10

<400> 89

ES 2 637 065 T3

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

Gly Thr Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp  
                  20                   25                   30

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

Thr Leu Thr Leu Ser Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Phe Lys Ala Gly  
      50                   55                   60

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

ES 2 637 065 T3

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

Thr Leu Ala Ser Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Gln Asn His Ser Ala  
100 105 110

Val Val Ala Leu Glr Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys Thr Asp  
115 120 125

Ser Leu Ile Asn Glr Arg Ser Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly Gly Glu  
130 135 140

His Thr Ala Phe Asn Gln Leu Pro Gly Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly  
145 150 155 160

Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp Pro Asn Gly Arg Leu His Tyr Ser Ile  
165 170 175

Asp Phe Thr Lys Lys Gln Gly Tyr Gly Arg Ile Glu His Leu Lys Thr  
180 185 190

Leu Glu Gln Asn Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu  
195 200 205

Lys Ser His Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser Glu Glu  
210 215 220

Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile  
225 230 235 240

Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu Ile Gly  
245 250 255

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

Arg Arg Val Ala Ala Asp Ile Gly Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr  
275 280 285

Ala Pro Leu Asp His Lys Asp Lys Ser Leu Glr Ser Leu Thr Leu Asp  
290 295 300

Gln Ser Val Arg Lys Asn Glu Lys Leu Lys Leu Ala Ala Gln Gly Ala  
305 310 315 320

Glu Lys Thr Tyr Gly Asn Gly Asp Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys  
325 330 335

Asn Asp Lys Val Ser Arg Phe Asp Phe Ile Arg Gln Ile Glu Val Asp  
340 345 350

Gly Gln Leu Ile Thr Leu Glu Ser Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Gln  
355 360 365

Asp His Ser Ala Val Val Ala Leu Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro  
370 375 380

Asp Lys Ile Asp Ser Leu Ile Asn Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser Gly  
385 390 395 400

Leu Gly Gly Glu His Thr Ala Phe Asn Gln Leu Pro Asp Gly Lys Ala  
405 410 415



ES 2 637 065 T3

Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu  
 420 425 430

Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala Ala Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu  
 435 440 445

His Leu Lys Thr Pro Glu Gln Asn Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu  
 450 455 460

Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr  
 465 470 475 480

Gly Ser Glu Glu Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg  
 485 490 495

Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val  
 500 505 510

His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys Gln  
 515 520

- <210> 90
  - <211> 514
  - <212> PRT
  - <213> Secuencia artificial
- 5
- <220>
  - <223> Proteína en tándem de meningococo
- 10
- <400> 90

ES 2 637 065 T3

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

ES 2 637 065 T3

Asp Phe Thr Lys Lys Gln Gly Tyr Gly Arg Ile Glu His Leu Lys Thr  
180 185 190

Leu Glu Gln Asn Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu  
195 200 205

Lys Ser His Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser Glu Glu  
210 215 220

Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile  
225 230 235 240

Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu Ile Gly  
245 250 255

Ile Ala Gly Lys Gln Gly Ser Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile  
260 265 270

Gly Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp  
275 280 285

Lys Ser Leu Gln Ser Leu Thr Leu Asp Gln Ser Val Arg Lys Asn Glu  
290 295 300

Lys Leu Lys Leu Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Tyr Gly Asn Gly  
305 310 315 320

Asp Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Val Ser Arg Phe  
325 330 335

Asp Phe Ile Arg Gln Ile Glu Val Asp Gly Gln Leu Ile Thr Leu Glu  
340 345 350

Ser Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Gln Asp His Ser Ala Val Val Ala  
355 360 365

Leu Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys Ile Asp Ser Leu Ile  
370 375 380

Asn Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly Gly Glu His Thr Ala  
385 390 395 400

Phe Asn Gln Leu Pro Asp Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe  
405 410 415

Ser Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala  
420 425 430

Ala Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Thr Pro Glu Gln  
435 440 445

Asn Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His  
450 455 460

Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser Glu Glu Lys Gly Thr  
465 470 475 480

Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser  
485 490 495

Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly  
500 505 510

Lys Gln

5 <210> 91  
<211> 440  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> Proteína híbrida de meningococo

<400> 91

ES 2 637 065 T3

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

ES 2 637 065 T3

Gln Leu Ile Thr Leu Glu Ser Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Gln Asp  
 275 280 285

His Ser Ala Val Val Ala Leu Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp  
 290 295 300

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

Gly Gly Glu His Thr Ala Phe Asn Gln Leu Pro Asp Gly Lys Ala Glu  
 325 330 335

Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr  
 340 345 350

Tyr Thr Ile Asp Phe Ala Ala Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His  
 355 360 365

Leu Lys Thr Pro Glu Gln Asn Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys  
 370 375 380

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

Ser Glu Glu Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala  
 405 410 415

Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His  
 420 425 430

Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys Gln  
 435 440

- <210> 92
- <211> 433
- 5 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 10 <223> Proteína híbrida de meningococo
- <400> 92

ES 2 637 065 T3

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

ES 2 637 065 T3

Thr Trp Asn Thr Ser Lys Val Arg Ala Thr Leu Leu Gly Ile Ser Pro  
 115 120 125  
 Ala Thr Gln Ala Arg Val Lys Ile Val Thr Tyr Gly Asn Val Thr Tyr  
 130 135 140  
 Val Met Gly Ile Leu Thr Pro Glu Glu Gln Ala Gln Ile Thr Gln Lys  
 145 150 155 160  
 Val Ser Thr Thr Val Gly Val Gln Lys Val Ile Thr Leu Tyr Gln Asn  
 165 170 175  
 Tyr Val Gln Arg Gly Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly  
 180 185 190  
 Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp Lys  
 195 200 205  
 Ser Leu Gln Ser Leu Thr Leu Asp Gln Ser Val Arg Lys Asn Glu Lys  
 210 215 220  
 Leu Lys Leu Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Tyr Gly Asn Gly Asp  
 225 230 235 240  
 Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Val Ser Arg Phe Asp  
 245 250 255  
 Phe Ile Arg Gln Ile Glu Val Asp Gly Gln Leu Ile Thr Leu Glu Ser  
 260 265 270  
 Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Gln Asp His Ser Ala Val Val Ala Leu  
 275 280 285  
 Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys Ile Asp Ser Leu Ile Asn  
 290 295 300  
 Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly Gly Glu His Thr Ala Phe  
 305 310 315 320  
 Asn Gln Leu Pro Asp Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser  
 325 330 335  
 Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala Ala  
 340 345 350  
 Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Thr Pro Glu Gln Asn  
 355 360 365  
 Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala  
 370 375 380  
 Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser Glu Glu Lys Gly Thr Tyr  
 385 390 395 400  
 His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala  
 405 410 415  
 Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys  
 420 425 430  
 Gln



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

5

<220>  
<223> Proteína híbrida de meningococo

10

<400> 93

ES 2 637 065 T3

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

ES 2 637 065 T3

Lys Gln Asn His Ser Ala Val Val Ala Leu Gln Ile Glu Lys Ile Asn  
 290 295 300

Asn Pro Asp Lys Thr Asp Ser Leu Ile Asn Gln Arg Ser Phe Leu Val  
 305 310 315 320

Ser Gly Leu Gly Gly Glu His Thr Ala Phe Asn Gln Leu Pro Gly Gly  
 325 330 335

Lys Ala Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp Pro Asn Gly  
 340 345 350

Arg Leu His Tyr Ser Ile Asp Phe Thr Lys Lys Gln Gly Tyr Gly Arg  
 355 360 365

Ile Glu His Leu Lys Thr Leu Glu Gln Asn Val Glu Leu Ala Ala Ala  
 370 375 380

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

Arg Tyr Gly Ser Glu Glu Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly  
 405 410 415

Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu  
 420 425 430

Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys Gln  
 435 440

<210> 94  
 <211> 436  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Proteina híbrida de meningococo

10

<400> 94

ES 2 637 065 T3

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

ES 2 637 065 T3

Ala Thr Gln Ala Arg Val Lys Ile Val Thr Tyr Gly Asn Val Thr Tyr  
130 135 140

Val Met Gly Ile Leu Thr Pro Glu Glu Gln Ala Gln Ile Thr Gln Lys  
145 150 155 160

Val Ser Thr Thr Val Gly Val Gln Lys Val Ile Thr Leu Tyr Gln Asn  
165 170 175

Tyr Val Gln Arg Gly Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly  
180 185 190

Thr Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp Lys  
195 200 205

Gly Leu Lys Ser Leu Thr Leu Glu Asp Ser Ile Pro Gln Asn Gly Thr  
210 215 220

Leu Thr Leu Ser Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Phe Lys Ala Gly Asp  
225 230 235 240

Lys Asp Asn Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Ile Ser  
245 250 255

Arg Phe Asp Phe Val Gln Lys Ile Glu Val Asp Gly Gln Thr Ile Thr  
260 265 270

Leu Ala Ser Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Gln Asn His Ser Ala Val  
275 280 285

Val Ala Leu Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys Thr Asp Ser  
290 295 300

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

Thr Ala Phe Asn Gln Leu Pro Gly Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly Lys  
325 330 335

Ala Phe Ser Ser Asp Asp Pro Asn Gly Arg Leu His Tyr Ser Ile Asp  
340 345 350

Phe Thr Lys Lys Gln Gly Tyr Gly Arg Ile Glu His Leu Lys Thr Leu  
355 360 365

Glu Gln Asn Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys  
370 375 380

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

Gly Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala  
405 410 415

Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile  
420 425 430

Ala Gly Lys Gln  
435

ES 2 637 065 T3

5  
 <210> 95  
 <211> 26  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Cebador de amplificación

10  
 <400> 95  
 cgcggatccg gccctgattc tgaccg 26

15  
 <210> 96  
 <211> 28  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Cebador de amplificación

20  
 <400> 96  
 cccgctcgag ctgttgccg gcgatgcc 28

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

<220>  
 <223> Cebador de amplificación

30  
 <400> 97  
 cgcggatccg gagggggtgg tgtcg 25

35  
 <210> 98  
 <211> 28  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Cebador de amplificación

40  
 <400> 98  
 cccgctcgag ctgttgccg gcgatgcc 28

45  
 <210> 99  
 <211> 26  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

50  
 <220>  
 <223> Cebador de amplificación

55  
 <400> 99  
 cgcggatccg gccctgattc tgaccg 26

60  
 <210> 100  
 <211> 27  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Cebador de amplificación

65  
 <400> 100  
 cccaagcttc tgttgccgg cgatgcc 27

ES 2 637 065 T3

5	<210> 101 <211> 25 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
	<220> <223> Cebador de amplificación	
10	<400> 101 cgcggatccg gaggggtgg tgtcg	25
15	<210> 102 <211> 27 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
	<220> <223> Cebador de amplificación	
20	<400> 102 cccaagcttc tgttgccgg cgatgcc	27
25	<210> 103 <211> 26 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
	<220> <223> Cebador de amplificación	
30	<400> 103 cgcggatccg gccctgattc tgaccg	26
35	<210> 104 <211> 27 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
	<220> <223> Cebador de amplificación	
40	<400> 104 cccaagcttc tgttgccgg cgatgcc	27
45	<210> 105 <211> 25 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
50	<220> <223> Cebador de amplificación	
55	<400> 105 cgcggatccg gaggggtgg tgtcg	25
60	<210> 106 <211> 27 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
	<220> <223> Cebador de amplificación	
65	<400> 106 cccaagcttc tgttgccgg cgatgcc	27

ES 2 637 065 T3

5	<210> 107 <211> 26 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
	<220> <223> Cebador de amplificación	
10	<400> 107 cgcggatccg gccctgattc tgaccg	26
15	<210> 108 <211> 28 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
	<220> <223> Cebador de amplificación	
20	<400> 108 cccgctcgag ctgttgccg gcgatgcc	28
25	<210> 109 <211> 25 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
	<220> <223> Cebador de amplificación	
30	<400> 109 cgcggatccg gagggggtgg tgtcg	25
35	<210> 110 <211> 28 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
	<220> <223> Cebador de amplificación	
40	<400> 110 cccgctcgag ctgttgccg gcgatgcc	28
45	<210> 111 <211> 26 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
	<220> <223> Cebador de amplificación	
50	<400> 111 cgcggatccg gccctgattc tgaccg	26
55	<210> 112 <211> 28 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
60	<220> <223> Cebador de amplificación	
65	<400> 112 cccgctcgag ctgttgccg gcgatgcc	28



ES 2 637 065 T3

5  
 <210> 113  
 <211> 25  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Cebador de amplificación

10  
 <400> 113  
 cgcgatccg gaggggtgg tgtcg 25

15  
 <210> 114  
 <211> 28  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Cebador de amplificación

20  
 <400> 114  
 cccgctcgag ctgttgccg gcgatgcc 28

25  
 <210> 115  
 <211> 26  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Cebador de amplificación

30  
 <400> 115  
 cgcgatccg gccctgattc tgaccg 26

35  
 <210> 116  
 <211> 27  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Cebador de amplificación

40  
 <400> 116  
 cccaagcttc tgttgccgg cgatgcc 27

45  
 <210> 117  
 <211> 25  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Cebador de amplificación

50  
 <400> 117  
 cgcgatccg gaggggtgg tgtcg 25

55  
 <210> 118  
 <211> 27  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

60  
 <220>  
 <223> Cebador de amplificación

65  
 <400> 118  
 cccaagcttc tgttgccgg cgatgcc 27

ES 2 637 065 T3

5 <210> 119  
 <211> 32  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Cebador de amplificación  
  
 10 <400> 119  
 cgcgatccc atatggccc tgattctgac cg 32  
  
 15 <210> 120  
 <211> 27  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Cebador de amplificación  
  
 20 <400> 120  
 cgcgatccc tgttgccgg cgatgcc 27  
  
 25 <210> 121  
 <211> 32  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia Artificial  
  
 <220>  
 <223> Cebador de amplificación  
  
 30 <400> 121  
 cgcgatccc atatggccc tgattctgac cg 32  
  
 35 <210> 122  
 <211> 27  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Cebador de amplificación  
  
 40 <400> 122  
 cgcgatccc tgttgccgg cgatgcc 27  
  
 45 <210> 123  
 <211> 274  
 <212> PRT  
 <213> *Neisseria meningitidis*  
  
 50 <400> 123  
  
 Met Asn Arg Thr Ala Phe Cys Cys Leu Ser Leu Thr Ala Ala Leu Ile  
 1 5 10 15  
  
 Leu Thr Ala Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly

ES 2 637 065 T3

20    25    30

Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp Lys  
                        35    40    45

Ser Leu Gln Ser Leu Thr Leu Asp Gln Ser Val Arg Lys Asn Glu Lys  
                        50    55    60

Leu Lys Leu Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Tyr Gly Asn Gly Asp  
65    70    75    80

Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Val Ser Arg Phe Asp  
                                85    90    95

Phe Ile Arg Gln Ile Glu Val Asp Gly Gln Leu Ile Thr Leu Glu Ser  
                                100    105    110

Gly Glu Phe Gln Val Tyr Lys Gln Ser His Ser Ala Leu Thr Ala Leu  
                                115    120    125

Gln Thr Glu Gln Val Gln Asp Ser Glu His Ser Gly Lys Met Val Ala  
                                130    135    140

Lys Arg Gln Phe Arg Ile Gly Asp Ile Ala Gly Glu His Thr Ser Phe  
145    150    155    160

Asp Lys Leu Pro Glu Gly Gly Arg Ala Thr Tyr Arg Gly Thr Ala Phe  
                                165    170    175

Gly Ser Asp Asp Ala Ser Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala  
                                180    185    190

Ala Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Ser Leu Glu Leu  
                                195    200    205

Asn Val Asp Leu Ala Ala Ser Asp Ile Lys Pro Asp Lys Lys Arg His  
                                210    215    220

Ala Val Ile Ser Gly Ser Val Leu Tyr Asn Gln Ala Glu Lys Gly Ser  
225    230    235    240

Tyr Ser Leu Gly Ile Phe Gly Gly Gln Ala Gln Glu Val Ala Gly Ser  
                                245    250    255

Ala Glu Val Glu Thr Ala Asn Gly Ile Arg His Ile Gly Leu Ala Ala  
                                260    265    270

Lys Gln

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

5

<400> 124

ES 2 637 065 T3

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

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

5

ES 2 637 065 T3

<400> 125

```

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

Leu Thr Ala Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly
                20                               25                               30

Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp Lys
                35                               40                               45

Gly Leu Gln Ser Leu Met Leu Asp Gln Ser Val Arg Lys Asn Glu Lys
50                               55                               60

Leu Lys Leu Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Tyr Gly Asn Gly Asp
65                               70                               75                               80

Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Val Ser Arg Phe Asp
                85                               90                               95

Phe Ile Arg Gln Ile Glu Val Asp Gly Gln Leu Ile Thr Leu Glu Ser
                100                               105                               110

Gly Glu Phe Gln Val Tyr Lys Gln Ser His Ser Ala Leu Thr Ala Leu
                115                               120                               125

Gln Thr Glu Gln Val Gln Asp Ser Glu Asp Ser Gly Lys Met Val Ala
130                               135                               140

Lys Arg Gln Phe Arg Ile Gly Asp Ile Ala Gly Glu His Thr Ser Phe
145                               150                               155                               160

Asp Lys Leu Pro Lys Asp Val Met Ala Thr Tyr Arg Gly Thr Ala Phe
                165                               170                               175

Gly Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala
                180                               185                               190

Ala Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Ser Pro Glu Leu
                195                               200                               205

Asn Val Glu Leu Ala Ala Ala Tyr Ile Lys Pro Asp Glu Lys His His
210                               215                               220

Ala Val Ile Ser Gly Ser Val Leu Tyr Asn Gln Asp Glu Lys Gly Ser
225                               230                               235                               240

Tyr Ser Leu Gly Ile Phe Gly Gly Gln Ala Gln Glu Val Ala Gly Ser
                245                               250                               255

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

Lys Gln

```

5 <210> 126  
 <211> 274  
 <212> PRT

ES 2 637 065 T3

<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 126

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

Leu Thr Ala Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly  
 20 25 30

Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp Lys  
 35 40 45

Gly Leu Gln Ser Leu Thr Leu Asp Gln Ser Val Arg Lys Asn Glu Lys  
 50 55 60

Leu Lys Leu Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Tyr Gly Asn Gly Asp  
 65 70 75 80

Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Val Ser Arg Phe Asp  
 85 90 95

Phe Ile Arg Gln Ile Glu Val Asn Gly Gln Leu Ile Thr Leu Glu Ser  
 100 105 110

Gly Glu Phe Gln Val Tyr Lys Gln Ser His Ser Ala Leu Thr Ala Leu  
 115 120 125

Gln Thr Glu Gln Val Gln Asp Ser Glu His Ser Arg Lys Met Val Ala  
 130 135 140

Lys Arg Gln Phe Arg Ile Gly Asp Ile Ala Gly Glu His Thr Ser Phe  
 145 150 155 160

Asp Lys Leu Pro Lys Gly Asp Ser Ala Thr Tyr Arg Gly Thr Ala Phe  
 165 170 175

Gly Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala  
 180 185 190

Ala Lys Gln Gly Tyr Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Ser Pro Glu Leu  
 195 200 205

Asn Val Asp Leu Ala Ala Ala Tyr Ile Lys Pro Asp Glu Lys His His  
 210 215 220

Ala Val Ile Ser Gly Ser Val Leu Tyr Asn Gln Asp Glu Lys Gly Ser  
 225 230 235 240

Tyr Ser Leu Gly Ile Phe Gly Gly Gln Ala Gln Glu Val Ala Gly Ser  
 245 250 255

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

Lys Gln

5

<210> 127

ES 2 637 065 T3

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

5 <400> 127

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

ES 2 637 065 T3

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

5

<400> 128

```

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

Leu Thr Ala Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Val Thr Ala Asp Ile Gly
                20                               25                               30

Thr Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp Lys
                35                               40                               45

Gly Leu Lys Ser Leu Thr Leu Glu Asp Ser Ile Ser Gln Asn Gly Thr
 50                               55                               60

Leu Thr Leu Ser Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Tyr Gly Asn Gly Asp
65                               70                               75                               80

Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Val Ser Arg Phe Asp
                85                               90                               95

Phe Ile Arg Gln Ile Glu Val Asp Gly Lys Leu Ile Thr Leu Glu Ser
                100                               105                               110

Gly Glu Phe Gln Val Tyr Lys Gln Ser His Ser Ala Leu Thr Ala Leu
                115                               120                               125

Gln Thr Glu Gln Val Gln Asp Ser Glu Asp Ser Gly Lys Met Val Ala
                130                               135                               140

Lys Arg Gln Phe Arg Ile Gly Asp Ile Ala Gly Glu His Thr Ser Phe
145                               150                               155                               160

Asp Lys Leu Pro Lys Gly Gly Ser Ala Thr Tyr Arg Gly Thr Ala Phe
                165                               170                               175

Gly Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala
                180                               185                               190

Ala Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Ser Pro Glu Leu
                195                               200                               205

Asn Val Glu Leu Ala Thr Ala Tyr Ile Lys Pro Asp Glu Lys His His
                210                               215                               220

Ala Val Ile Ser Gly Ser Val Leu Tyr Asn Gln Asp Glu Lys Gly Ser
225                               230                               235                               240

Tyr Ser Leu Gly Ile Phe Gly Gly Gln Ala Gln Glu Val Ala Gly Ser
                245                               250                               255

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

Lys Gln
    
```



5 <210> 129  
<211> 274  
<212> PRT  
<213> *Neisseria meningitidis*  
  
<400> 129

ES 2 637 065 T3

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

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

5

ES 2 637 065 T3

<400> 130

```

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

Leu Thr Ala Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly
                20                               25          30

Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp Lys
          35                               40          45

Gly Leu Gln Ser Leu Thr Leu Asp Gln Ser Val Arg Lys Asn Glu Lys
 50                               55          60

Leu Lys Leu Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Tyr Gly Asn Gly Asp
65                               70          75          80

Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Val Ser Arg Phe Asp
                85                               90          95

Phe Ile Arg Gln Ile Glu Val Asp Gly Gln Leu Ile Thr Leu Glu Ser
                100                              105          110

Gly Glu Phe Gln Val Tyr Lys Gln Ser His Ser Ala Leu Thr Ala Leu
          115                              120          125

Gln Thr Glu Gln Val Gln Asp Ser Glu Asp Ser Gly Lys Met Val Ala

                130                              135          140

Lys Arg Gln Phe Arg Ile Gly Asp Ile Ala Gly Glu His Thr Ser Phe
145                              150          155          160

Asp Lys Leu Pro Lys Gly Gly Ser Ala Thr Tyr Arg Gly Thr Ala Phe
                165                              170          175

Ser Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala
                180                              185          190

Ala Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Ser Pro Glu Leu
          195                              200          205

Asn Val Glu Leu Ala Thr Ala Tyr Ile Lys Pro Asp Glu Lys Arg His
          210                              215          220

Ala Val Ile Ser Gly Ser Val Leu Tyr Asn Gln Asp Glu Lys Gly Ser
225                              230          235          240

Tyr Ser Leu Gly Ile Phe Gly Gly Gln Ala Gln Glu Val Ala Gly Ser
                245                              250          255

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

Lys Gln

```

5 <210> 131  
 <211> 273  
 <212> PRT

ES 2 637 065 T3

<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 131

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

ES 2 637 065 T3

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

5

<400> 132

```

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

Leu Thr Ala Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly
          20          25          30

Ala Arg Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp Lys
          35          40          45

Ser Leu Gln Ser Leu Thr Leu Asp Gln Ser Val Arg Lys Asn Glu Lys
          50          55          60

Leu Lys Leu Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Tyr Gly Asn Gly Asp
 65          70          75          80

Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Val Ser Arg Phe Asp
          85          90          95

Phe Ile Arg Gln Ile Glu Val Asp Gly Gln Leu Ile Thr Leu Glu Ser
          100          105          110

Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Gln Asp His Ser Ala Val Val Ala Leu
          115          120          125

Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys Ile Asp Ser Leu Ile Asn
          130          135          140

Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly Gly Glu His Thr Ala Phe
          145          150          155          160

Asn Gln Leu Pro Asp Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser
          165          170          175

Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala Ala
          180          185          190

Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Thr Pro Glu Gln Asn
          195          200          205

Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala
          210          215          220

Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser Glu Glu Lys Gly Thr Tyr
          225          230          235          240

His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala
          245          250          255

Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys
          260          265          270

Gln
    
```

ES 2 637 065 T3

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

5

<400> 133

```

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

Leu Thr Ala Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly
 20          25          30

Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp Lys
 35          40          45

Ser Leu Gln Ser Leu Thr Leu Asp Gln Ser Val Arg Lys Asn Glu Lys
 50          55          60

Leu Lys Leu Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Tyr Gly Asn Gly Asp
 65          70          75          80

Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Val Ser Arg Phe Asp
 85          90          95

Phe Ile Arg Gln Ile Glu Val Asp Gly Gln Leu Ile Thr Leu Glu Ser
100          105          110

Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Gln Asp His Ser Ala Val Val Ala Leu
115          120          125

Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys Ile Asp Ser Leu Ile Asn
130          135          140

Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly Gly Glu His Thr Ala Phe
145          150          155          160

Asn Gln Leu Pro Gly Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser
165          170          175

Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala Ala
180          185          190

Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Thr Pro Glu Gln Asn
195          200          205

Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala
210          215          220

Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser Glu Glu Lys Gly Thr Tyr
225          230          235          240

His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala
245          250          255

Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys
260          265          270

Gln
    
```

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

5

<400> 134

ES 2 637 065 T3

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

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

5



ES 2 637 065 T3

<400> 135

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

- 5 <210> 136
- <211> 273
- <212> PRT
- <213> *Neisseria meningitidis*

ES 2 637 065 T3

<400> 136

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

5 <210> 137  
 <211> 273  
 <212> PRT

ES 2 637 065 T3

<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 137

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

5

<210> 138

<211> 281

ES 2 637 065 T3

<212> PRT

<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 138

5

```

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

Leu Thr Ala Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Val
                20                               25           30

Ala Ala Asp Ile Gly Thr Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu
                35                               40           45

Asp His Lys Asp Lys Gly Leu Lys Ser Leu Thr Leu Glu Asp Ser Ile
                50                               55           60

Pro Gln Asn Gly Thr Leu Thr Leu Ser Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr
65                               70           75           80

Phe Lys Ala Gly Asp Lys Asp Asn Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys
                85                               90           95

Asn Asp Lys Ile Ser Arg Phe Asp Phe Val Gln Lys Ile Glu Val Asp
                100                              105          110

Gly Gln Thr Ile Thr Leu Ala Ser Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Gln
                115                              120          125

Asn His Ser Ala Val Val Ala Leu Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro
130                              135          140

Asp Lys Ile Asp Ser Leu Ile Asn Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser Gly
145                              150          155          160

Leu Gly Gly Glu His Thr Ala Phe Asn Gln Leu Pro Gly Asp Lys Ala
                165                              170          175

Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp Pro Asn Gly Arg Leu
                180                              185          190

His Tyr Thr Ile Asp Phe Thr Asn Lys Gln Gly Tyr Gly Arg Ile Glu
195                              200          205

His Leu Lys Thr Pro Glu Leu Asn Val Asp Leu Ala Ser Ala Glu Leu
210                              215          220

Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr
225                              230          235

Gly Ser Glu Glu Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg
                245                              250          255

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

His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys Gln
                275                              280

```

ES 2 637 065 T3

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

5

<400> 139

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

10

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

15

ES 2 637 065 T3

<400> 140

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

5 <210> 141  
 <211> 275  
 <212> PRT  
 <213> *Neisseria meningitidis*

ES 2 637 065 T3

<400> 141

```

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

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

```

5 <210> 142  
<211> 757

ES 2 637 065 T3

<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial  
<220>  
<223> Proteina en tándem de meningococo

5

<400> 142

Val Ala Ala Asp Ile Gly Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro



ES 2 637 065 T3

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

ES 2 637 065 T3

				340						345						350
Val	Val	Ala	Leu	Gln	Ile	Glu	Lys	Ile	Asn	Asn	Pro	Asp	Lys	Ile	Asp	
		355					360					365				
Ser	Leu	Ile	Asn	Gln	Arg	Ser	Phe	Leu	Val	Ser	Gly	Leu	Gly	Gly	Glu	
	370					375					380					
His	Thr	Ala	Phe	Asn	Gln	Leu	Pro	Asp	Gly	Lys	Ala	Glu	Tyr	His	Gly	
385					390					395					400	
Lys	Ala	Phe	Ser	Ser	Asp	Asp	Ala	Gly	Gly	Lys	Leu	Thr	Tyr	Thr	Ile	
				405					410						415	
Asp	Phe	Ala	Ala	Lys	Gln	Gly	His	Gly	Lys	Ile	Glu	His	Leu	Lys	Thr	
			420					425					430			
Pro	Glu	Gln	Asn	Val	Glu	Leu	Ala	Ala	Ala	Glu	Leu	Lys	Ala	Asp	Glu	
			435				440						445			
Lys	Ser	His	Ala	Val	Ile	Leu	Gly	Asp	Thr	Arg	Tyr	Gly	Ser	Glu	Glu	
	450					455					460					
Lys	Gly	Thr	Tyr	His	Leu	Ala	Leu	Phe	Gly	Asp	Arg	Ala	Gln	Glu	Ile	
465					470					475					480	
Ala	Gly	Ser	Ala	Thr	Val	Lys	Ile	Gly	Glu	Lys	Val	His	Glu	Ile	Gly	
				485					490					495		
Ile	Ala	Gly	Lys	Gln	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Val	Ala	Ala	Asp	Ile	
			500				505						510			
Gly	Thr	Gly	Leu	Ala	Asp	Ala	Leu	Thr	Ala	Pro	Leu	Asp	His	Lys	Asp	
		515					520					525				
Lys	Gly	Leu	Lys	Ser	Leu	Thr	Leu	Glu	Asp	Ser	Ile	Pro	Gln	Asn	Gly	
	530					535					540					
Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Ala	Gln	Gly	Ala	Glu	Lys	Thr	Phe	Lys	Ala	Gly	
545					550					555					560	
Asp	Lys	Asp	Asn	Ser	Leu	Asn	Thr	Gly	Lys	Leu	Lys	Asn	Asp	Lys	Ile	
				565					570						575	
Ser	Arg	Phe	Asp	Phe	Val	Gln	Lys	Ile	Glu	Val	Asp	Gly	Gln	Thr	Ile	
			580					585					590			
Thr	Leu	Ala	Ser	Gly	Glu	Phe	Gln	Ile	Tyr	Lys	Gln	Asn	His	Ser	Ala	
		595					600					605				
Val	Val	Ala	Leu	Gln	Ile	Glu	Lys	Ile	Asn	Asn	Pro	Asp	Lys	Thr	Asp	
	610					615					620					
Ser	Leu	Ile	Asn	Gln	Arg	Ser	Phe	Leu	Val	Ser	Gly	Leu	Gly	Gly	Glu	
625					630					635					640	
His	Thr	Ala	Phe	Asn	Gln	Leu	Pro	Gly	Gly	Lys	Ala	Glu	Tyr	His	Gly	
				645					650					655		
Lys	Ala	Phe	Ser	Ser	Asp	Asp	Pro	Asn	Gly	Arg	Leu	His	Tyr	Ser	Ile	
			660					665					670			
Asp	Phe	Thr	Lys	Lys	Gln	Gly	Tyr	Gly	Arg	Ile	Glu	His	Leu	Lys	Thr	

ES 2 637 065 T3

	675		680		685														
	Leu	Glu	Gln	Asn	Val	Glu	Leu	Ala	Ala	Ala	Glu	Leu	Lys	Ala	Asp	Glu			
	690						695					700							
	Lys	Ser	His	Ala	Val	Ile	Leu	Gly	Asp	Thr	Arg	Tyr	Gly	Ser	Glu	Glu			
	705					710					715					720			
	Lys	Gly	Thr	Tyr	His	Leu	Ala	Leu	Phe	Gly	Asp	Arg	Ala	Gln	Glu	Ile			
					725					730					735				
	Ala	Gly	Ser	Ala	Thr	Val	Lys	Ile	Gly	Glu	Lys	Val	His	Glu	Ile	Gly			
				740					745					750					
	Ile	Ala	Gly	Lys	Gln														
				755															

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

5

<400> 143

ES 2 637 065 T3

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

Phe Cys Ser Gly Ala Leu Ala Ala Thr Asn Asp Asp Asp Val Lys Lys  
20 25 30

Ala Ala Thr Val Ala Ile Ala Ala Ala Tyr Asn Asn Gly Gln Glu Ile  
35 40 45

Asn Gly Phe Lys Ala Gly Glu Thr Ile Tyr Asp Ile Asp Glu Asp Gly  
50 55 60

Thr Ile Thr Lys Lys Asp Ala Thr Ala Ala Asp Val Glu Ala Asp Asp  
65 70 75 80

Phe Lys Gly Leu Gly Leu Lys Lys Val Val Thr Asn Leu Thr Lys Thr  
85 90 95

Val Asn Glu Asn Lys Gln Asn Val Asp Ala Lys Val Lys Ala Ala Glu  
100 105 110

Ser Glu Ile Glu Lys Leu Thr Thr Lys Leu Ala Asp Thr Asp Ala Ala  
115 120 125

Leu Ala Asp Thr Asp Ala Ala Leu Asp Ala Thr Thr Asn Ala Leu Asn  
130 135 140

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

Ile Val Lys Ile Asp Glu Lys Leu Glu Ala Val Ala Asp Thr Val Asp  
165 170 175

Lys His Ala Glu Ala Phe Asn Asp Ile Ala Asp Ser Leu Asp Glu Thr  
180 185 190

Asn Thr Lys Ala Asp Glu Ala Val Lys Thr Ala Asn Glu Ala Lys Gln  
195 200 205

Thr Ala Glu Glu Thr Lys Gln Asn Val Asp Ala Lys Val Lys Ala Ala

ES 2 637 065 T3

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

- <210> 144
- <211> 6
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
  
- <220>
- <223> Enlazador de glicina
  
- <400> 144

Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
 1 5

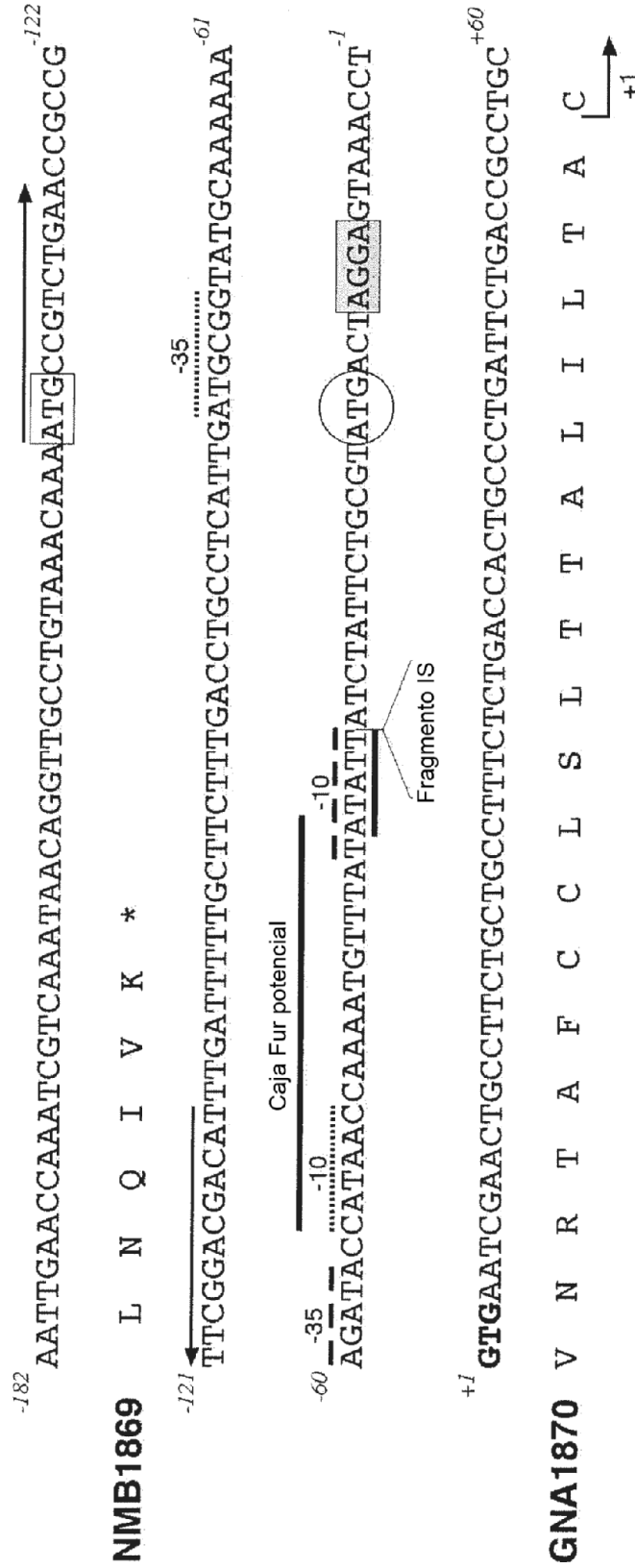
## REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende (a) una primera proteína que es capaz de inducir anticuerpos bactericidas, que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 85 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 24, y (b) una segunda proteína que es capaz de inducir anticuerpos bactericidas, que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 85 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 41; en la que las primera y segunda proteínas tienen menos de 75 % de identidad de secuencia entre sí.
2. La composición de la reivindicación 1, que comprende (c) una tercera proteína que es capaz de inducir anticuerpos bactericidas, que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 85 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 33; en la que las primera y segunda proteínas tienen menos de 75 % de identidad de secuencia entre sí y las segunda y tercera proteínas tienen menos de 75 % de identidad de secuencia entre sí.
3. Una composición, por ejemplo de la reivindicación 2, que comprende (a) una primera proteína, que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 92 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 24, y (b) una segunda proteína, que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 92 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 33; y (c) una tercera proteína que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 92 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 41.
4. La composición de cualquier reivindicación precedente, en la que una o más de las proteínas es una lipoproteína.
5. La composición de la reivindicación 4, en la que la lipoproteína o las lipoproteínas se expresan en *E. coli*.
6. La composición de la reivindicación 5, en la que la lipoproteína o las lipoproteínas no se expresan como una proteína de fusión.
7. La composición de la reivindicación 5, en la que la lipoproteína o las lipoproteínas se expresan como una proteína de fusión.
8. La composición de la reivindicación 7, en la que la proteína de fusión incluye SEQ ID NO: 46 y/o la secuencia líder de la lipoproteína P4 de *H. influenzae*.
9. Una composición que comprende una proteína híbrida de fórmula  $\text{NH}_2\text{-A-}[\text{-X-L-}]_n\text{-B-COOH}$ , en la que: n es 2 o más; L es una secuencia de aminoácidos enlazadora opcional; A es una secuencia de aminoácidos N terminal opcional; B es una secuencia de aminoácidos C terminal opcional; y los restos X incluyen (a) una primera proteína que puede inducir anticuerpos antimeningocócicos bactericidas después de administración a un animal hospedador, que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 85 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 24 y (b) una segunda proteína que puede inducir anticuerpos antimeningocócicos bactericidas después de administración a un animal hospedador, que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 85 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 41; en la que las primera y segunda proteínas tienen menos del 75 % de identidad de secuencia entre sí.
10. La composición de la reivindicación 9, en la que n es 3 o más y los restos X incluyen además (c) una tercera proteína que puede inducir anticuerpos antimeningocócicos bactericidas después de administración a un animal hospedador, que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 85 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 33; en la que las primera y segunda proteínas tienen menos de 75 % de identidad de secuencia entre sí, las primera y tercera proteínas tienen menos del 75 % de identidad de secuencia entre sí y las segunda y tercera proteínas tienen menos de 75 % de identidad de secuencia entre sí.
11. La composición de cualquier reivindicación precedente, que incluye menos de 15 antígenos.
12. La composición de cualquier reivindicación precedente, que comprende un antígeno de *Neisseria* distinto de una proteína NMB1870.
13. La composición de cualquier reivindicación precedente, que comprende una vesícula preparada a partir de *N. meningitidis*.
14. La composición de la reivindicación 12, que comprende un antígeno de sacárido de los serogrupos de *N. meningitidis* A, C, W135 e Y.
15. La composición de cualquier reivindicación precedente, que comprende un antígeno de sacárido de *Haemophilus influenzae* tipo B y/o un antígeno de *Streptococcus pneumoniae*.
16. La composición de la reivindicación 14 o reivindicación 15, en la que el antígeno o los antígenos de sacáridos están conjugados con una o más proteínas vehículo.
17. La composición de cualquier reivindicación precedente, para uso como un medicamento.

18. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 17, para proteger a un mamífero, preferentemente un ser humano, contra una infección por *Neisseria*.

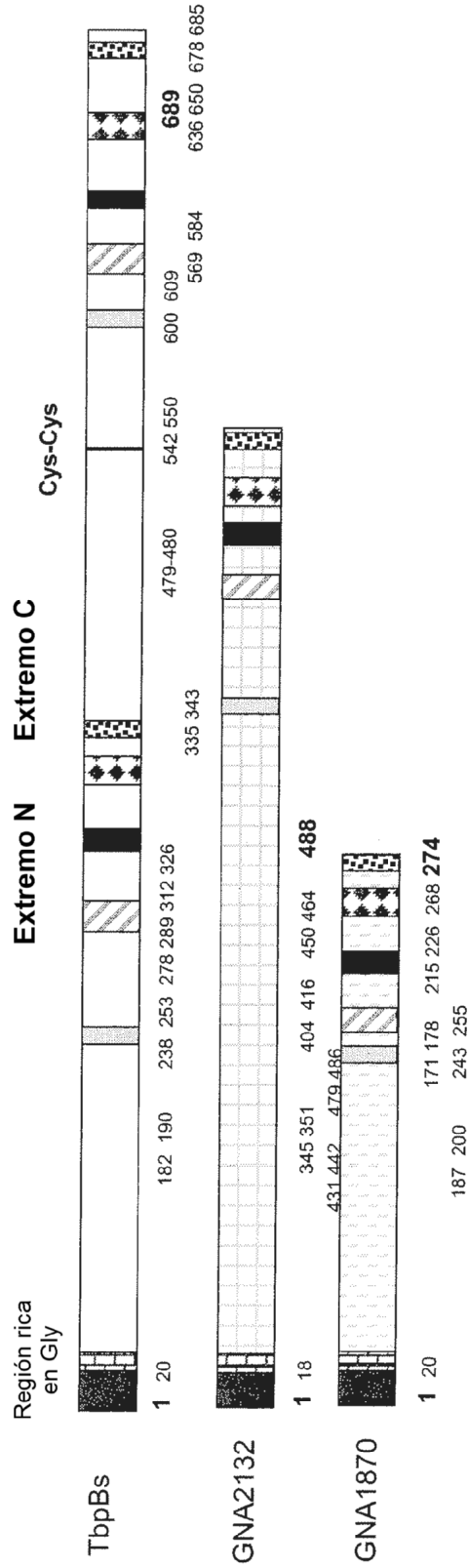
5 19. El uso de una primera proteína que es capaz de inducir anticuerpos bactericidas y que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 85 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 24, y una segunda proteína que es capaz de inducir anticuerpos bactericidas y que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 85 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 41, en la fabricación de un medicamento para prevenir la infección meningocócica en un mamífero, en el que las primera y segunda proteínas tienen menos del 75 % de identidad de secuencia entre sí.

**FIGURA 1**

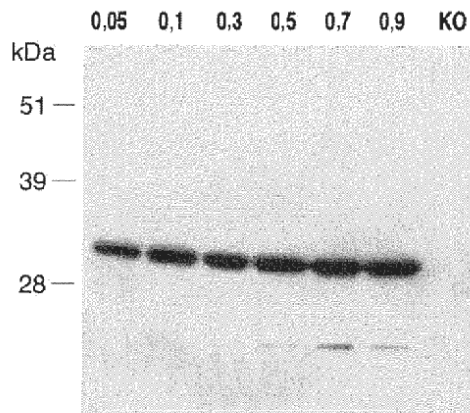




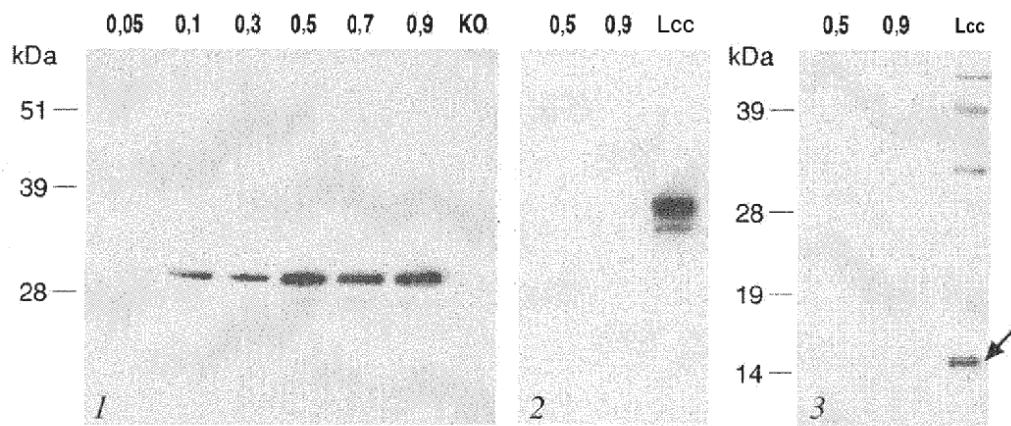
**FIGURA 2**



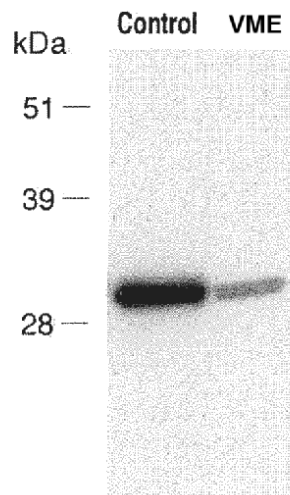
**FIGURA 3**



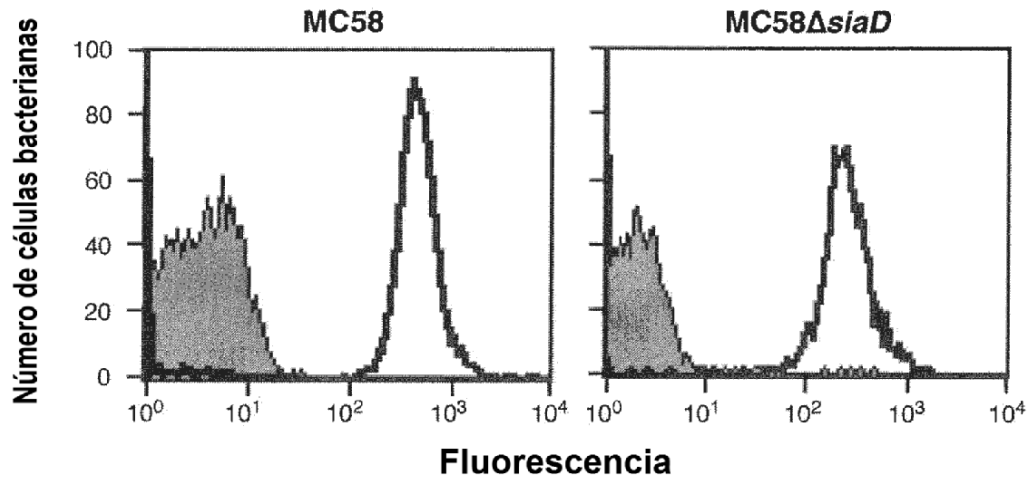
**FIGURA 4**



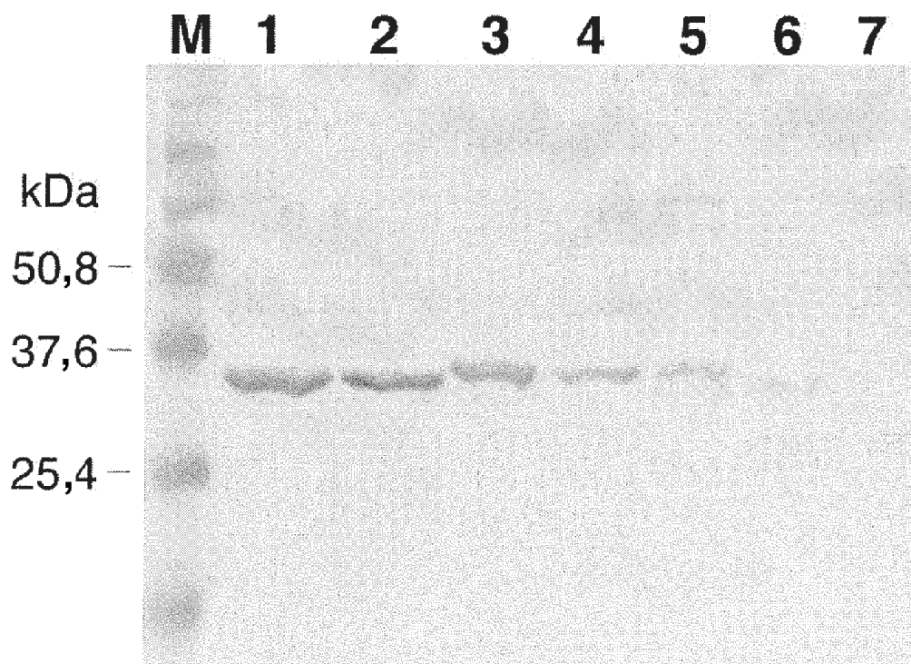
**FIGURA 5**



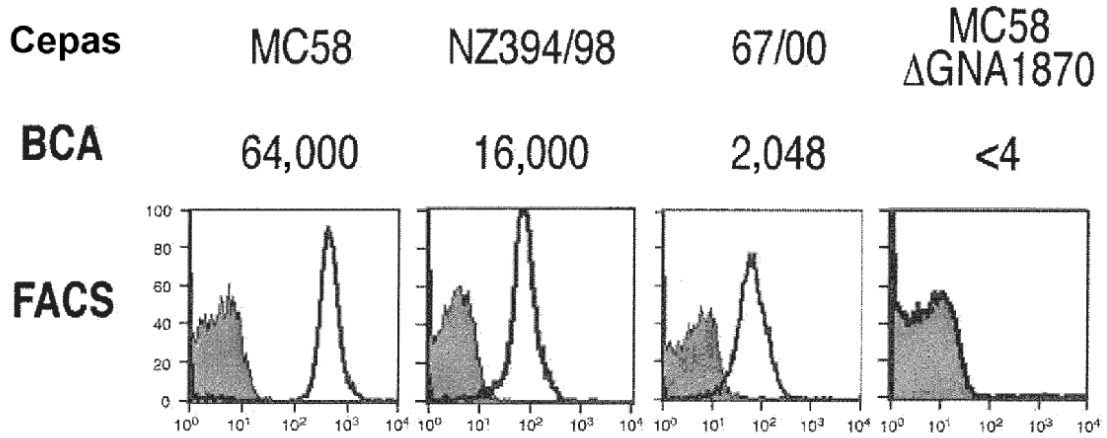
**FIGURA 6**



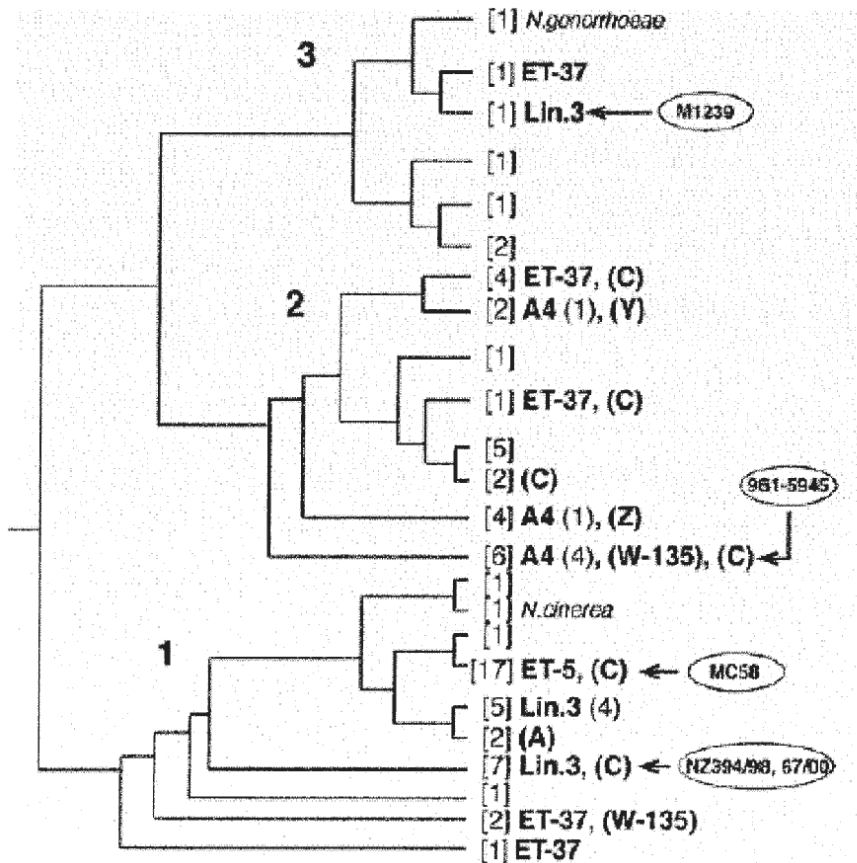
**FIGURA 7**



**FIGURA 8**



**FIGURA 9**



**FIGURA 10**

1

tipo 1 -19: VNR**TAFCCLSLTTALILTACS** ..... **SGGGGVAADIGAGLADALTAPLDH** : 26  
 tipo 2 -19: VNR**TAFCCLSLTAALILTACS** ..... **SGGGGVAADIGAGLADALTAPLDH** : 26  
 tipo 3 -19: VNR**TAFCCLSLTTALILTACS** **SGGGGSGGGGVAADIGTGLADALTAPLDH** : 31

tipo 1 27: **KDKGLQSLTLDQSVRKNEKLKLAQAQAEKTYGNGD** ... **SLNTGKLNKDKV** : 73  
 tipo 2 27: **KDKSLQSLTLDQSVRKNEKLKLAQAQAEKTYGNGD** ... **SLNTGKLNKDKV** : 73  
 tipo 3 32: **KDKGLKSLTLDQSPQNGTLTLSAQAQAEKTKAGDKDNLNTGKLNKDKV** : 81

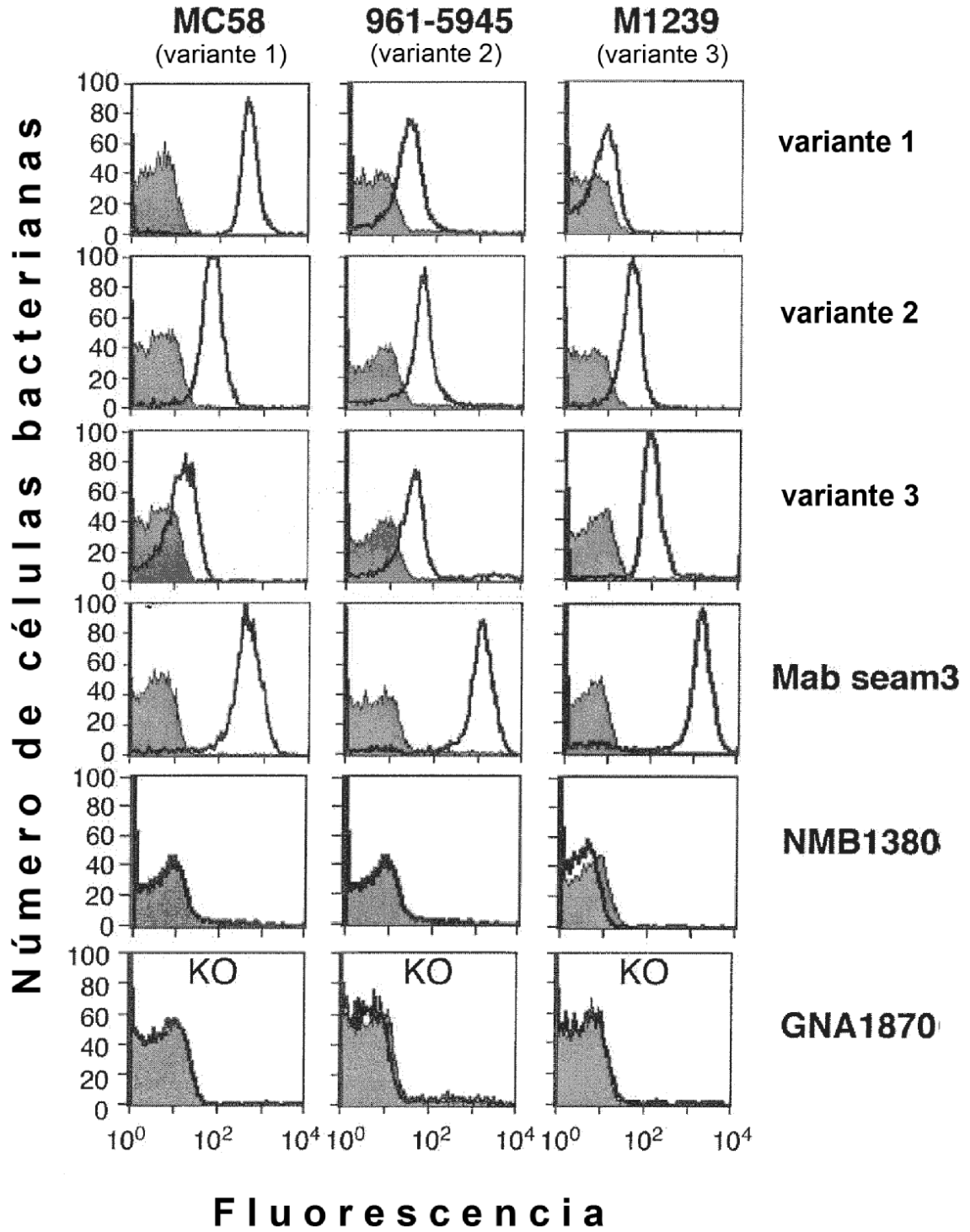
tipo 1 74: **SRFDFIRQIEVDGQILITLESGEFQYKQSHSALTAFTQTEQIQLDSEHS** **GKM** : 123  
 tipo 2 74: **SRFDFIRQIEVDGQILITLESGEFQYKQDHSVAVALQIEKINNPDKIDSL** : 123  
 tipo 3 82: **SRFDFVQKIEVDGQITITLASGEFQYKQNHSAVAVALQIEKINNPDKIDSL** : 131

tipo 1 124: **VAKRQFRIGDVAAGEHTSFDKLP** **EGGRATYRGTAFGSDDAGGKLYTIDFA** : 173  
 tipo 2 124: **INQRSFLVSGLGGEHTAFNQLP** **.DGKAEYHGKAFSSDDAGGKLYTIDFA** : 172  
 tipo 3 132: **INQRSFLVSGLGGEHTAFNQLP** **.GGKAEYHGKAFSSDDPNGRLHYSIDFT** : 180

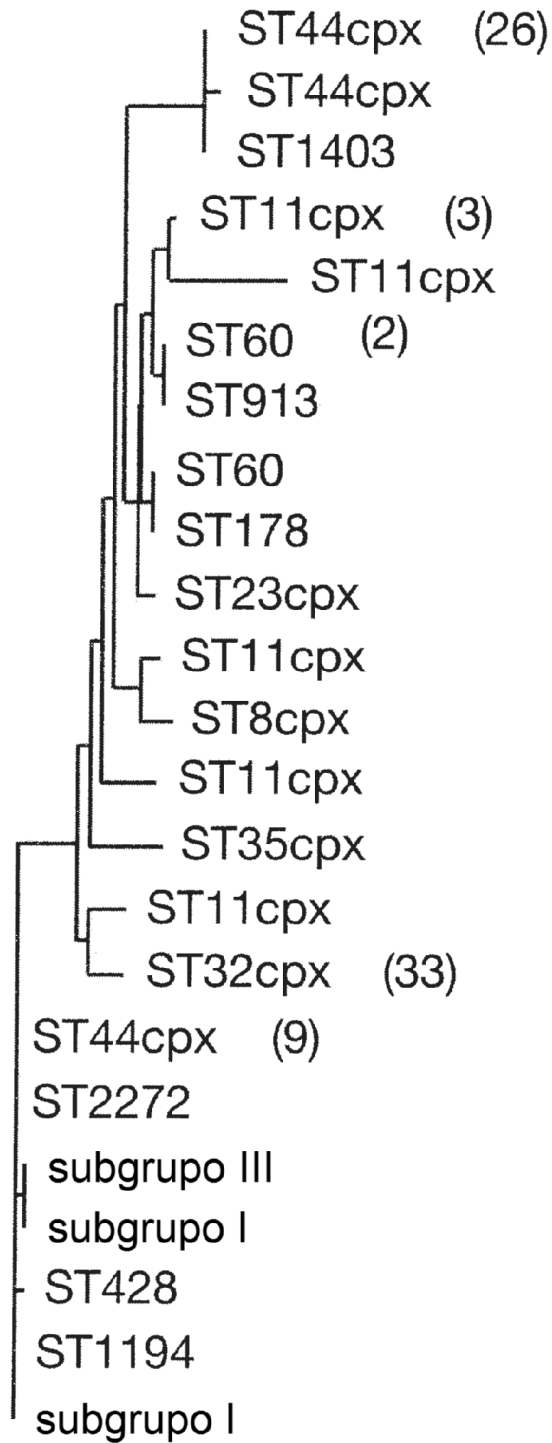
tipo 1 174: **AKQGNKIEHLKSP** **ELNVDLAAADIKPDGKRHAVISGSVLYNQAEKGSYS** : 223  
 tipo 2 173: **AKQGHGKIEHLKTPEQNVELAAELKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYH** : 222  
 tipo 3 181: **KKQGYGRIEHLKTPEQNVELAAELKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYH** : 230

tipo 1 224: **LGLFGGKAQEVAGSAEVKTVNGIRHIGLAAKQ** : 255  
 tipo 2 223: **LALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ** : 254  
 tipo 3 231: **LALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ** : 262

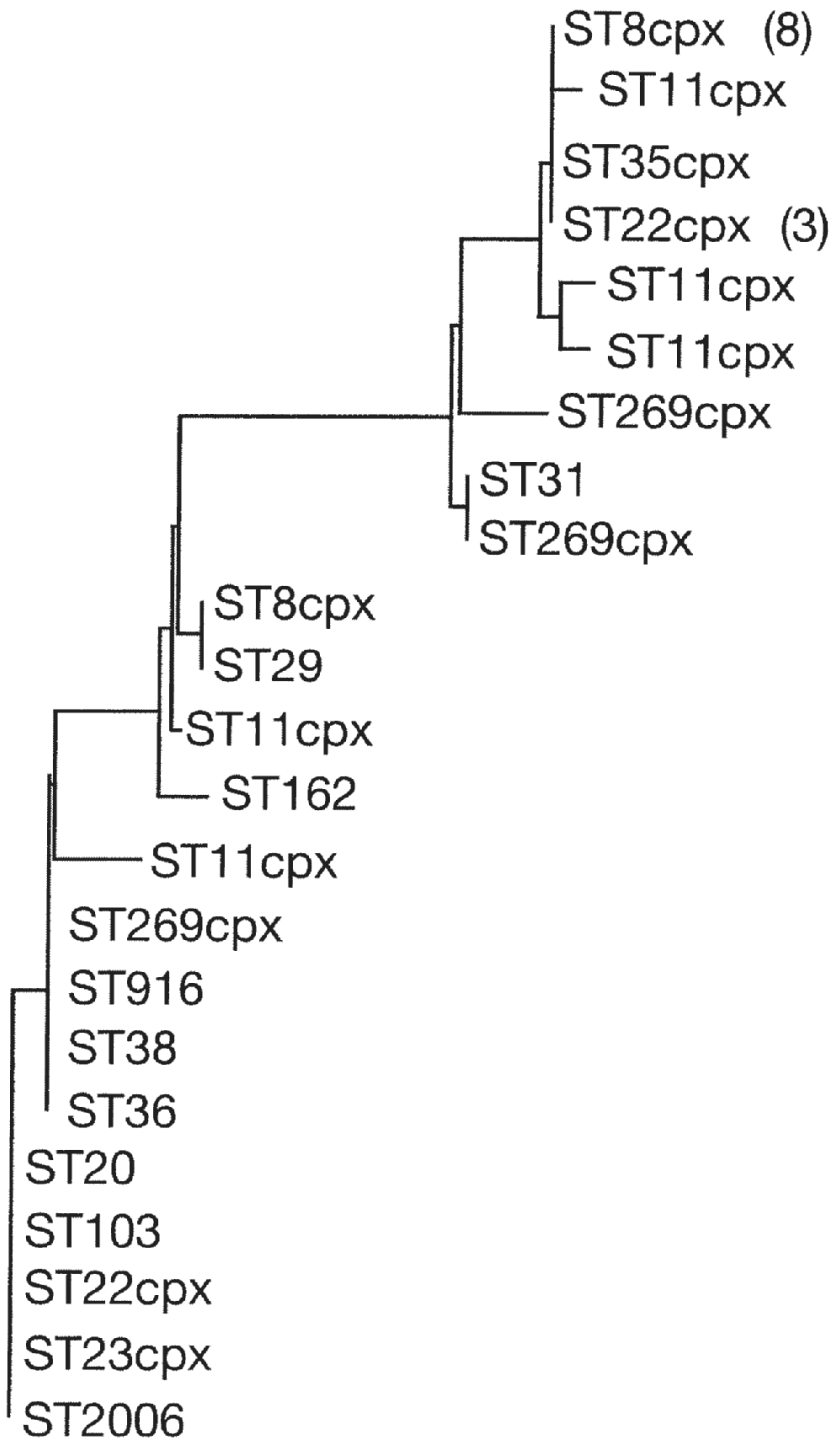
**FIGURA 11**



**FIGURA 12**



**FIGURA 13**





**FIGURA 14**

