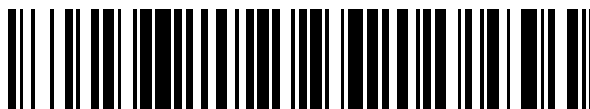


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 658 512**

51 Int. Cl.:

C07K 19/00 (2006.01)
A61K 39/145 (2006.01)
A61K 39/385 (2006.01)
A61P 31/16 (2006.01)
A61P 37/04 (2006.01)
C07K 14/285 (2006.01)
C12N 15/00 (2006.01)
C12P 21/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.04.2012** **PCT/CA2012/050236**

87 Fecha y número de publicación internacional: **18.10.2012** **WO12139225**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.04.2012** **E 12771540 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.12.2017** **EP 2707393**

54 Título: **Proteínas de fusión y vacunas de combinación que comprenden la Proteína E y Pilina A de Haemophilus influenzae**

30 Prioridad:

13.04.2011 US 201161474779 P
13.09.2011 US 201161534012 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
12.03.2018

73 Titular/es:

GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A. (100.0%)
Rue de l'Institut, 89
1330 Rixensart, BE

72 Inventor/es:

BLAIS, NORMAND;
LABBE, STEVE y
POOLMAN, JAN

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 658 512 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

Proteínas de fusión y vacunas de combinación que comprenden la Proteína E y Pilina A de *Haemophilus influenzae*

La presente solicitud reivindica prioridad a la solicitud de patente de Estados Unidos número 61/474779 enviada el 13 de abril de 2011 y la solicitud de patente de Estados Unidos número 61/534012 enviada el 13 de septiembre de 2011.

Campo de la invención

La presente invención se refiere a composiciones que comprenden la Proteína E y Pilina A de *Haemophilus influenzae* (*H. influenzae*). Más particularmente, la presente solicitud se refiere a proteínas de fusión y composiciones inmunogénicas que comprenden la Proteína E y Pilina A, a vacunas que comprenden dichas composiciones inmunogénicas y a los usos terapéuticos de las mismas.

Antecedentes de la invención

La Proteína E (PE) es una lipoproteína de la membrana externa con propiedades adhesivas. Juega un papel en la adhesión/invasión de la *Haemophilus influenzae* no tipificable (NTHi) a las células epiteliales (J. Immunology 183: 2593-2601 (2009); The Journal of Infectious Diseases 199:522-531 (2009), Microbes and Infection 10:87-96 (2008)). Está altamente conservada tanto en *Haemophilus influenzae* encapsulada como en *H. influenzae* no tipificable y tiene un dominio de unión epitelial conservado (The Journal of Infectious Diseases 201:414-419 (2010)). Se han descrito trece mutaciones puntuales diferentes en especies diferentes de *Haemophilus* cuando se comparan con *Haemophilus influenzae* Rd como una cepa de referencia. Esta expresión se observa tanto en bacterias de crecimiento logarítmico como de fase estacionaria (documento WO2007/084053). Hotomi y col. 2005 (Vaccine 23(13):6-14) desvela que la proteína P4 recombinante de *Haemophilus influenzae* (Proteína E) induce respuestas inmunes específicas biológicamente activas contra la colonización nasofaríngea en ratones después de la inmunización intranasal. La proteína E también está implicada en la resistencia al complemento humano a través de la unión a vitronectina (Immunology 183: 2593-2601 (2009)). La PE, por el dominio de unión PKRYARSVRQ YKILNCANYH LTQVR (SEQ ID NO 1, que corresponde a los aminoácidos 84-108 de SEQ ID NO 4), se une a la vitronectina que es un inhibidor importante de la ruta del complemento terminal (J. Immunology 183:2593-2601 (2009)). El documento US6420134B1 desvela que la Proteína E puede usarse en vacunas multivalentes diseñadas para *H. influenzae* y uno o más organismos infecciosos distintos.

La Pilina A (PiA) es probablemente la mayor subunidad de pilina del Pilus Tipo IV de *H. influenzae* implicados en la contracción de la motilidad (Infection and Immunity, 73: 1635-1643 (2005)). NTHi PiA es una adhesina conservada expresada *in vivo*. Ha demostrado estar implicada en la adherencia, la colonización y la formación de biopelículas de NTHi (Molecular Microbiology 65: 1288-1299 (2007)). Novotny y col. 2009 (Vaccine 28(1):279-289) desvela ensayos de los tres candidatos para vacunas derivadas de PiA en un modelo de chinchilla de otitis media (OM) inducida por *Haemophilus influenzae* no tipificable (NTHi) ascendente. La presentación de un epítipo de linfocito B derivado de la adhesina OMPP5 en el N-terminal de la proteína PiA soluble recombinante (en oposición al C-terminal) resultó en un inmunógeno químico protector que combinó los epítipos de dos adhesinas de NTHi distintas (pili tipo IV y OMP P5). El documento WO2007/008527A2 desvela proteínas químicas que comprenden la proteína mayor de la subunidad de pilus de contracción de NTHi (PiA) que presentan una porción de la proteína NTHi OMP P5.

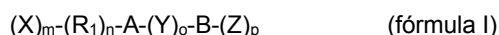
El documento WO2007/006665A1 describe un procedimiento de visualización de fagos filamentosos en el que los polipéptidos de interés visualizados en la partícula del fago se traslocan cotraduccionalmente a través de la membrana citoplásmica de bacterias Gram-negativas basándose en la ruta de la partícula de reconocimiento de señal. Alvandi y col. 2010 (Journal of Microbiology and Biotechnology 27(4):1573-0972 describe la expresión periplásmica y una purificación de una etapa de la subunidad B de ureasa de *Helicobacter pylori*.

Haemophilus influenzae no tipificable es un patógeno respiratorio importante y común que provoca otitis media en bebés y niños. NTHi es, después de *Streptococcus pneumoniae*, la causa más común de otitis media aguda en niños (J. Immunology 183: 2593-2601 (2009), Pediatrics 113:1451-1465 (2004)). Es una causa importante de sinusitis en niños y adultos (Current Infectious Disease Reports 11:177-182 (2009)). También se ha asociado a un riesgo aumentado de exacerbaciones en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) en adultos (Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease 3:109-115 (2006)). Además, la *H. influenzae* no tipificable provoca neumonía adquirida en la comunidad en adultos y puede provocar neumonía en niños en países en desarrollo (Current Infectious Disease Reports 11:177-182 (2009)).

Existe una necesidad de vacunas para NTHi.

Sumario de la invención

Como un primer aspecto, la presente invención proporciona proteínas de fusión de fórmula (I).



en la que

X es un péptido señal o MHHHHHH (SEQ ID NO. 2);

m es 0 o 1;

R₁ es un aminoácido;

n es 0, 1, 2, 3, 4, 5 o 6;

A es un fragmento inmunogénico de la Proteína E seleccionado de SEQ ID NO. 122, SEQ ID NO. 123, SEQ ID NO. 124, SEQ ID NO. 125, SEQ ID NO. 126, SEQ ID NO. 179 o SEQ ID NO. 180 o una secuencia que tiene al menos un 95 % de identidad con una cualquiera de SEQ ID NO. 122, SEQ ID NO. 123, SEQ ID NO. 124, SEQ ID NO. 125, SEQ ID NO. 126, SEQ ID NO. 179 o SEQ ID NO. 180;

Y se selecciona del grupo que consiste en GG, SG, SS, GGG y (G)_h en el que h es 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10; o es 0 o 1;

B es un fragmento inmunogénico de PilA, al menos un 95 % idéntico a los aminoácidos 40-149 de cualquiera de SEQ ID NO. 58 a SEQ ID NO. 121;

Z es GGHHHHHH (SEQ ID NO. 3);

y p es 0 o 1.

Como un segundo aspecto, la presente invención proporciona composiciones inmunogénicas que comprenden las proteínas de fusión de fórmula (I). La composición puede comprender además un adyuvante farmacéuticamente aceptable. La composición puede comprender un excipiente.

En un tercer aspecto, la presente invención proporciona la proteína de fusión de fórmula (I) para su uso en el tratamiento o la prevención de una afección o enfermedad provocada completamente o en parte por *Haemophilus influenzae*.

En un cuarto aspecto, la presente invención proporciona la proteína de fusión de fórmula (I) para su uso en el tratamiento o la prevención de otitis media.

En un quinto aspecto, la presente invención proporciona la proteína de fusión de fórmula (I) para su uso en el tratamiento o la prevención de exacerbaciones en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

En un sexto aspecto, la presente invención proporciona la proteína de fusión de fórmula (I) para su uso en el tratamiento o la prevención de neumonía.

En un séptimo aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende una proteína de fusión de fórmula (I) para su uso en el tratamiento o la prevención de una afección o enfermedad provocada completamente o en parte por *Haemophilus influenzae*. Las composiciones farmacéuticas pueden comprender además un adyuvante farmacéuticamente aceptable.

En un octavo aspecto, la presente invención proporciona ácidos nucleicos que codifican las proteínas de la invención.

En un noveno aspecto, la presente invención proporciona un procedimiento para producir ácidos nucleicos de la invención.

Los aspectos adicionales de la presente invención se describen en la descripción detallada de realizaciones particulares, ejemplos y reivindicaciones que siguen.

Breve descripción de los dibujos

Figura 1. SDS-PAGE de extractos bacterianos inducidos para las construcciones de proteínas de fusión LVL291, LVL268 y LVL269. La Fracción insoluble (I), la Fracción soluble (S) y la Fracción del medio de cultivo (M) se cargaron para LVL291, LVL268 y LVL269 antes y después de la inducción (ind).

Figura 2. SDS-PAGE y transferencia Western con referencia a los extractos de purificación inducidos para las construcciones de proteínas de fusión LVL291, LVL268 y LVL269. La Fracción de flujo a través (Ft), la Fracción de lavado (W) y la Fracción de elución (E) se cargaron para la purificación de LVL291, LVL268 y LVL269. Se usó la etiqueta anti-his para sondar los extractos.

Figura 3. SDS-PAGE de extractos bacterianos inducidos y de purificación para las construcciones de proteínas de fusión LVL291 y LVL315. La Fracción del medio de cultivo (M), la Fracción soluble (Sol), la Fracción insoluble (Ins), la Fracción de flujo a través (Ft), la Fracción de lavado n.º 1 (W1), la Fracción de lavado n.º 2 (W2) y la Fracción de elución (E) se cargaron para LVL291 y LVL315.

Figura 4. SDS-PAGE de extractos bacterianos inducidos y de purificación para la construcción de proteínas de fusión LVL312. La Fracción del medio de cultivo (M), la Fracción soluble (Sol), la Fracción insoluble (Ins), la Fracción de flujo a través (Ft), la Fracción de lavado n.º 1 (W1), la Fracción de lavado n.º 2 (W2) y la Fracción de elución (E) se cargaron para LVL312.

Figura 5. SDS-PAGE de extractos bacterianos inducidos (1 mM y 10 μ M IPTG) para la construcción de proteínas de fusión LVL317. Extractos de antes (NI) y después (In) de la inducción, Fracción soluble (S), Fracción insoluble (I).

5 Figura 6. SDS-PAGE de extractos bacterianos inducidos (1 mM y 10 μ M IPTG) para la construcción de proteínas de fusión LVL318. Extractos de antes (NI) y después (In) de la inducción, Fracción del medio de cultivo (M), Fracción soluble (S), Fracción insoluble (I).

Figura 7. Espectros de CD de PE, PilA y proteínas de fusión PE-PilA.

Figura 8. Combinación del espectro de CD de PE y PilA.

Figura 9. Curva de desnaturalización térmica de PilA.

10 Figura 10. Curva de desnaturalización de PE.

Figura 11. Curva de desnaturalización térmica de la proteína de fusión PE-PilA.

Figura 12. Cromatograma típico SP Sepharose™ Fast Flow.

Figura 13. Cromatograma típico Q Sepharose™ Fast Flow.

15 Figura 14. SDS-PAGE de muestras en el procedimiento de purificación de la proteína de fusión PE-PilA.

Figura 15. Transferencia Western de muestras en el procedimiento de purificación de la proteína de fusión PE-PilA. La transferencia usa anti-PE policlonal de conejo.

Figura 16. Transferencia Western de muestras en el procedimiento de purificación de la proteína de fusión PE-PilA. La transferencia usa anti-*E. coli* (BLR) policlonal de conejo.

20 Figura 17. Transición térmica de la proteína de fusión PE-PilA y las proteínas PE y PilA. Curvas: PilA (1), Proteína E (Prot E, PE) (2), Volumen Purificado de PE-PilA no diluido, 737 μ g/ml (3) y Volumen Purificado de PE-PilA diluido en una concentración de Recipiente Final 60 μ g/ml (4).

Figura 18. Respuestas de anticuerpos contra la proteína de fusión PE-PilA LVL291 y contra PE y PilA monovalentes en el modelo de ratón Balb/c.

25 Figura 19. Efecto de la vacunación de la proteína de fusión PE-PilA en la eliminación de bacterias NTHi cepa 86-028NP en nasofaringe de ratón.

Figura 20. Efecto de la vacunación de la proteína de fusión PE-PilA en la eliminación de bacterias NTHi cepa 3224A en nasofaringe de ratón.

Figura 21. Efecto de la vacunación de PilA en la eliminación de bacterias en nasofaringe de ratón.

30 Figura 22. Efecto de la vacunación de PE en la eliminación de bacterias en nasofaringe de ratón.

Figura 23. (a) proteína de fusión PE-PilA LVL317 que se une a vitronectina y (b) proteínas de fusión PE-PilA LVL317 y LVL735 unidas a vitronectina.

Figura 24. Inhibición de la unión a vitronectina por anticuerpos policlonales contra la proteína de fusión PE-PilA.

35 Figura 25. SDS-PAGE de fracciones solubles de extractos bacterianos inducidos para las construcciones de proteínas de fusión LVL291, LVL702, LVL736, LVL737, LVL738, LVL739, LVL740 y el vector pET26b (control negativo). (a) Experimento 1 (b) Experimento 2 (c) Experimento 3. Proteína de fusión PE-PilA indicada por una flecha.

Figura 26. El porcentaje de banda promedio de la proteína de fusión en la fracción soluble de los Experimentos 1, 2 y 3.

40 Figura 27. Respuesta de anticuerpos PE y PilA a LVL317 y LVL735.

Figura 28. Efecto de la vacunación de LVL317 y LVL735 en la eliminación de bacterias en un modelo de ratón de colonización nasofaríngea de *Haemophilus influenzae* no tipificable.

Descripción detallada de la invención

45 Salvo que se explique o defina de otra manera en el presente documento, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que se entiende comúnmente por un experto en la

materia a la que la presente divulgación pertenece. Por ejemplo, las definiciones de términos comunes en biología molecular pueden encontrarse en Benjamin Lewin, *Genes V*, publicado por Oxford University Press, 1994 (ISBN 0-19-854287-9); Kendrew y col. (eds.), *The Encyclopedia of Molecular Biology*, publicada por Blackwell Science Ltd., 1994 (ISBN 0-632-02182-9); y Robert A. Meyers (ed.), *Molecular Biology and Biotechnology: a Comprehensive Desk Reference*, publicado por VCH Publishers, Inc., 1995 (ISBN 1-56081-569-8).

Los términos singulares “un”, “una” y “el/la” incluyen referentes plurales salvo que el contexto indique claramente lo contrario. De forma similar, la palabra “o” se destina a incluir “y” salvo que el contexto indique claramente lo contrario. Ha de entenderse además que todos los tamaños de bases o los tamaños de aminoácidos y todos los valores de peso molecular o de masa molecular, dados para ácidos nucleicos o polipéptidos son aproximados y se proporcionan para descripción. Adicionalmente, las limitaciones numéricas dadas con respecto a las concentraciones o los niveles de una sustancia, tales como un antígeno pueden ser aproximadas. De esta manera, cuando se indica que una concentración es (por ejemplo) aproximadamente 200 pg, se entiende que la concentración incluye valores ligeramente más o ligeramente menos que (“aproximadamente” o “~”) 200 pg.

Aunque pueden usarse procedimientos y materiales similares o equivalentes a aquellos descritos en el presente documento en la práctica o el ensayo de la presente divulgación, los procedimientos y materiales adecuados se describen a continuación.

El término “comprende” significa “incluye”. De esta manera, salvo que el contexto requiera claramente lo contrario, la palabra “comprende” y las variaciones tales como “comprender” y “que comprende” se entenderán que implican la inclusión de un compuesto o una composición citados (por ejemplo, ácido nucleico, polipéptido, antígeno) o etapa, o grupo de compuestos o etapas, pero no la exclusión de cualquier compuesto, composición, etapa o grupo de los mismos distintos. La abreviatura “e.g.” deriva del latín *exempli gratia* y se usa en el presente documento para indicar un ejemplo no limitante. De esta manera, la abreviatura “e.g.” es sinónimo de la expresión “por ejemplo”.

Para facilitar la revisión de las diversas realizaciones de la presente divulgación, se proporcionan las siguientes explicaciones de términos. Los términos y explicaciones adicionales se proporcionan en el contexto de la presente divulgación.

Un “sujeto” como se usa en el presente documento es un mamífero, incluyendo humanos, primates no humanos y mamíferos no primates tales como miembros del género de roedores (incluyendo pero no limitado a ratones y ratas) y miembros del orden *Lagomorpha* (incluyendo pero no limitado a conejos).

Como se usa en el presente documento “Proteína E”, “proteína E”, “Prot E” y “PE” significan Proteína E de *H. influenzae*. La Proteína E puede consistir en o comprender la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO. 4 (MKKIILTLST GLLTACSAQI QKAEQNDVKL APPTDVRSGY IRLVKNVNY IDSESIWVDN QEPQIVHFDA VVNLDKGLYV YPEPKRYARS VRQYKILNCA NYHLTQVRTD FYDEFWQGL RAAPKKQKKH TSLTPDRTL YNAAQIICAN YGEAFSVDKK) así como todas las secuencias con al menos o exactamente el 75 %, 77 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 99 % o 100 % de identidad, sobre la longitud completa, a SEQ ID NO. 4. La comparación de 53 secuencias de la Proteína E de *Haemophilus influenzae* (Tabla 1, SEQ ID NO. 5 - SEQ ID NO. 57) demostró de aproximadamente el 77 % a aproximadamente el 100% de identidad a la Proteína E como se expone en la SEQ ID NO. 4. Por ejemplo, en la secuencia de aminoácidos de la Proteína E, el aminoácido n.º 20 puede ser isoleucina (I) o treonina (T); el aminoácido n.º 23 puede ser alanina (A) o valina (V); el aminoácido n.º 24 puede ser lisina (K) o ácido glutámico (E); el aminoácido n.º 31 puede ser alanina (A) o treonina (T); el aminoácido n.º 32 puede ser prolina (P) o alanina (A); el aminoácido n.º 34 puede ser treonina (T) o alanina (A); el aminoácido n.º 37 puede ser arginina (R) o glutamina (Q); el aminoácido n.º 47 puede ser valina (V) o alanina (A); el aminoácido n.º 57 puede ser triptófano (W) o puede estar ausente (-); el aminoácido n.º 70 puede ser alanina (A) o treonina (T); el aminoácido n.º 93 puede ser glutamina (Q) o ausente (-); el aminoácido n.º 109 puede ser treonina (T) o isoleucina (I); el aminoácido n.º 119 puede ser glicina (G) o serina (S); el aminoácido n.º 153 puede ser ácido glutámico (E) o lisina (K); el aminoácido n.º 156 puede ser serina (S) o leucina (L); el aminoácido n.º 160 puede ser lisina (K) o asparagina (N); el aminoácido n.º 161 puede ser lisina (K), isoleucina (I) o ausente (-); los aminoácidos n.º 162 - n.º 195 pueden estar ausentes o ser como se expone en SEQ ID NO. 15 (indicando (-) que el aminoácido n.º 166 está ausente) o como se expone en SEQ ID NO. 16; o cualquier combinación de los mismos.

La proteína E puede consistir en o comprender una secuencia de aminoácidos que difiere de SEQ ID NO. 4 en uno cualquiera o más aminoácidos seleccionados del grupo que consiste en: el aminoácido n.º 20, el aminoácido n.º 23, el aminoácido n.º 24, el aminoácido n.º 31, el aminoácido n.º 32, el aminoácido n.º 34, el aminoácido n.º 37, el aminoácido n.º 47, el aminoácido n.º 57, el aminoácido n.º 70, el aminoácido n.º 93, el aminoácido n.º 109, el aminoácido n.º 119, el aminoácido n.º 153, el aminoácido n.º 156, el aminoácido n.º 160, el aminoácido n.º 161 y los aminoácidos n.º 162-n.º 195, en los que el aminoácido n.º 20 es treonina (T); el aminoácido n.º 23 es valina (V); el aminoácido n.º 24 es lisina (K); el aminoácido n.º 31 es treonina (T); el aminoácido n.º 32 es alanina (A); el aminoácido n.º 34 es alanina (A); el aminoácido n.º 37 es glutamina (Q); el aminoácido n.º 47 es alanina (A); el aminoácido n.º 57 está ausente (-); el aminoácido n.º 70 es treonina (T); el aminoácido n.º 93 está ausente (-); el aminoácido n.º 109 es isoleucina (I); el aminoácido n.º 119 es serina (S); el aminoácido n.º 153 es lisina (K); el aminoácido n.º 156 es leucina (L); el aminoácido n.º 160 es asparagina (N); el aminoácido n.º 161 es lisina (K) o isoleucina (I); o los aminoácidos n.º 162 - n.º 195 son como se expone en SEQ ID NO. 15 (indicando (-) que el

aminoácido n.º 166 está ausente) o como se expone en SEQ ID NO. 16.

Tabla 1: Secuencias de aminoácidos de la Proteína E de 53 cepas de *Haemophilus influenzae* (SEQ ID NO. 5 - SEQ ID NO. 57. - indica que el aminoácido está ausente).

Nombre de la cepa	Secuencia de la proteína E
3224A	MKKIILTSLGLLTACSAQIQKAKQNDVKLAPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWGQGLRAAPKKQK KHTLSLTPDNTLYNAAQIICANYGEAFSVDKK (SEQ ID NO.5)
RdKW20	MKKIILTSLGLLTACSAQIQKAEQNDVKLAPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQIRTDYDEFWGQGLRAAPKKQK KHTLSLTPDNTLYNAAQIICANYGKAFSVDKK (SEQ ID NO.6)
86-028NP	MKKIILTSLGLLTACSAQIQKAKQNDVKLAPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWGQGLRAAPKKQK KHTLSLTPDNTLYNAAQIICANYGEAFSVDKK (SEQ ID NO.7)
R2846	MKKIILTSLGLLTACSAQIQKAEQNDVKLAPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWGQGLRAAPKKQK KHTLSLTPDNTLYNAAQIICANYGKAFSVDKK (SEQ ID NO.8)
R2866	MKKIILTSLGLLTACSAQIQKAEQNDVKLAPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWGQGLRAAPKKQK KHTLSLTPDNTLYNAAQIICANYGKAFSVDKK (SEQ ID NO.9)
3655	MKKIILTSLGLLTACSAQIQKAEQNDMKLAPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWGQGLRAAPKKQK KHTLSLTPDNTLYNAAQIICANYGKAFSVDKK (SEQ ID NO.10)
PittAA	MKKIILTSLGLLTACSAQIQKAKQNDVKLAPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWGQGLRAAPKKQK KHTLSLTPDNTLYNAAQIICANYGEAFSVDKK (SEQ ID NO.11)
PittEE	MKKIILTSLGLLTACSAQIQKAEQNDMKLAPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWGQGLRAAPKKQK KHTLSLTPDNTLYNAAQIICANYGKAFSVDKK (SEQ ID NO.12)
PittHH	MKKIILTSLGLLTACSAQIQKAEQNDVKLAPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDTVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWGQGLRAAPKKQK KHTLSLTPDNTLYNAAQIICANYGKAFSVDKK (SEQ ID NO.13)
PittII	MKKIILTSLGLLTACSAQIQKAEQNDVKLAPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWGQGLRAAPKKQK KHTLSLTPDNTLYNAAQIICANYGKAFSVDKK (SEQ ID NO.14)
R3021	MKKIILTSLGLLTACSAQIQKAEQNDVKLTPPTDVQSGYVRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRIDFYDEFWGQGLRAAPKKQK KHTLSLTPDNTLYNAAQIICANYGKAFSVDKNKKICT-LISLNFQILLGCREYSIFLQLLLFYC WHF (SEQ ID NO.15)
22.4-21	MKKIILTSLGLLTACSAQIQKAEQNDVKLAPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWGQGLRAAPKKQK KHTLSLTPDNTLYNAAQIICANYGKAFSVDKKIKKICTLISLNFQILLGCREYSIFLQLLLFYC WHF (SEQ ID NO.16)
3219C	MKKIILTSLGLLTACSAQIQKAEQNDMKLAPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWGQGLRAAPKKQK KHTLSLTPDNTLYNAAQIICANYGKAFSVDKK (SEQ ID NO.17)
3185	MKKIILTSLGLLTACSAQIQKAEQNDVKLAPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWGQGLRAAPKKQK KHTLSLTPDNTLYNAAQIICANYGKAFSVDKK (SEQ ID NO.18)

(continuación)

Nombre de la cepa	Secuencia de la proteína E
3241A	MKKIILTLISLGLLTACSAQIQKAKQNDVKLAPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWQGGLRAAPKKQK KHTLSLTPDPTTLYNAAQIICANYGEAFSVDKK (SEQ ID NO.19)
038144S1	MKKIILTLISLGLLTACSAQTQKVEQNDVKLTAPTDVRSGFVRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWQGGLRAAPKKQK KHTLSLTPDPTTLYNAAQIICANYGKAFLVDKK (SEQ ID NO.20)
810956	MKKIILTLISLGLLTACSAQIQKAKQNDVKLAPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWQGGLRAAPKKQK KHTLSLTPDPTTLYNAAQIICANYGEAFSVDKK (SEQ ID NO.21)
821246	MKKIILTLISLGLLTACSAQIQKAEQNDVKLAPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQIRTDYDEFWQGGLRAAPKKQK KHTLSLTPDPTTLYNAAQIICANYGKAFLVDKK (SEQ ID NO.22)
840645	MKKIILTLISLGLLTACSAQIQKAKQNDVKLAPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWQGGLRAAPKKQK KHTLSLTPDPTTLYNAAQIICANYGEAFSVDKK (SEQ ID NO.23)
902550Z19	MKKIILTLISLGLLTACSAQTQKVEQNDVKLTPPTDVRSGYVRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWQGGLRAAPKKQK KHTLSLTPDPTTLYNAAQIICANYGKAFLVDKK (SEQ ID NO.24)
A840177	MKKIILTLISLGLLTACSAQIQKAKQNDVKLAPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWQGGLRAAPKKQK KHTLSLTPDPTTLYNAAQIICANYGEAFSVDKK (SEQ ID NO.25)
A860514	MKKIILTLISLGLLTACSAQTQKVEQNDVKLTAPTDVRSGYVRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWQGGLRAAPKKQK KHTLSLTPDPTTLYNAAQIICANYGKAFLVDKK (SEQ ID NO.26)
A950014	MKKIILTLISLGLLTACSAQIQKAEQNDVKLAPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRIDFYDEFWQGGLRAAPKKQK KHTLSLTPDPTTLYNAAQIICANYGKAFLVDKK (SEQ ID NO.27)
306543X4	MKKIILTLISLGLLTACSAQIQKAEQNDVKLAPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWQGGLRAAPKKQK KHTLSLTPDPTTLYNAAQIICANYGKAFLVDKK (SEQ ID NO.28)
A930105	MKKIILTLISLGLLTACSAQIQKAEQNDVKLAPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDTVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWQGGLRAAPKKQK KHTLSLTPDPTTLYNAAQIICANYGKAFLVDKK (SEQ ID NO.29)
901905U	MKKIILTLISLGLLTACSAQIQKAEQNDVKLAPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWQGGLRAAPKKQK KHTLSLTPDPTTLYNAAQIICANYGKAFLVDKK (SEQ ID NO.30)
A920030	MKKIILTLISLGLLTACSAQIQKAKQNDVKLAPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWQGGLRAAPKKQK KHTLSLTPDPTTLYNAAQIICANYGEAFSVDKK (SEQ ID NO.31)
3221B	MKKIILTLISLGLLTACSAQIQKAEQNDVKLAPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWQGGLRAAPKKQK KHTLSLTPDPTTLYNAAQIICANYGKAFLVDKK (SEQ ID NO.32)
27W116791N	MKKIILTLISLGLLTACSAQTQKVEQNDVKLTPPTDVRSGYVRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWQGGLRAAPKKQK KHTLSLTPDPTTLYNAAQIICANYGKAFLVDKK (SEQ ID NO.33)

(continuación)

Nombre de la cepa	Secuencia de la proteína E
N218	MKKIILTLISLGLLTACSAQIQKAEQNDVKLAPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWQGQLRAAPKKQK KHTLSLTPDPTTLYNAAQIICANYGKAFSVDKK (SEQ ID NO.34)
N163	MKKIILTLISLGLLTACSAQIQKAEQNDVKLAPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWQGQLRAAPKKQK KHTLSLTPDPTTLYNAAQIICANYGEAFSVDKK (SEQ ID NO.35)
N162	MKKIILTLISLGLLTACSAQIQKAEQNDVKLAPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWQGQLRAAPKKQK KHTLSLTPDPTTLYNAAQIICANYGEAFSVDKK (SEQ ID NO.36)
N107	MKKIILTLISLGLLTACSAQTQKAEQNDVKLAPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWQGQLRAAPKKQK KHTLSLTPDPTTLYNAAQIICANYGKAFSVDKK (SEQ ID NO.37)
N91	MKKIILTLISLGLLTACSAQTQKVEQNDVKLTAPADVRSYVRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWQGQLRAAPKKQK KHTLSLTPDPTTLYNAAQIICANYGKAFSVDKK (SEQ ID NO.38)
D211PG	MKKIILTLISLGLLTACSAQIQKAEQNDVKLAPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVR-YKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWQGQLRAAPKKQK KHTLSLTPDPTTLYNAAQIICANYGEAFSVDKK (SEQ ID NO.39)
D211PD	MKKIILTLISLGLLTACSAQIQKAEQNDVKLAPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVR-YKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWQGQLRAAPKKQK KHTLSLTPDPTTLYNAAQIICANYGEAFSVDKK (SEQ ID NO.40)
D201PG	MKKIILTLISLGLLTACSAQIQKAEQNDVKLAPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWQGQLRAAPKKQK KHTLSLTPDPTTLYNAAQIICANYGKAFSVDKK (SEQ ID NO.41)
D201PD	MKKIILTLISLGLLTACSAQIQKAEQNDVKLAPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWQGQLRAAPKKQK KHTLSLTPDPTTLYNAAQIICANYGKAFSVDKK (SEQ ID NO.42)
D198PG	MKKIILTLISLGLLTACSAQIQKAEQNDVKLAPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWQGQLRAAPKKQK KHTLSLTPDPTTLYNAAQIICANYGKAFSVDKK (SEQ ID NO.43)
D198PD	MKKIILTLISLGLLTACSAQIQKAEQNDVKLAPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWQGQLRAAPKKQK KHTLSLTPDPTTLYNAAQIICANYGKAFSVDKK (SEQ ID NO.44)
D195PD	MKKIILTLISLGLLTACSAQIQKAEQNDVKLAPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDTVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWQQLRAAPKKQK KHTLSLTPDPTTLYNAAQIICANYGKAFSVDKK (SEQ ID NO.45)
D189PG	MKKIILTLISLGLLTACSAQTQKVEQNDVKLTPPTDVRSGYVRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWQGQLRAAPKKQK KHTLSLTPDPTTVYNAAQIICANYGKAFSVDKK (SEQ ID NO.46)
D189PD	MKKIILTLISLGLLTACSAQTQKVEQNDVKLTPPTDVRSGYVRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWQGQLRAAPKKQK KHTLSLTPDPTTVYNAAQIICANYGKAFSVDKK (SEQ ID NO.47)
D129CG	MKKIILTLISLGLLTACSAQIQKAEQNDVKLAPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWQGQLRAAPKKQK KHTLSLTPDPTTLYNAAQIICANYGEAFSVDKK (SEQ ID NO.48)

(continuación)

Nombre de la cepa	Secuencia de la proteína E
D124PG	MKKIILTLTSLGLLTACSAQIQKAEQNDVKLAPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDTVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWQGLRAAPKKQK KHTLSLTPDTTLYNAAQIICANYGKAFSVDKK (SEQ ID NO.49)
D124PD	MKKIILTLTSLGLLTACSAQIQKAEQNDVKLAPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDTVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWQGLRAAPKKQK KHTLSLTPDTTLYNAAQIICANYGKAFSVDKK (SEQ ID NO.50)
D58PG	MKKIILTLTSLGLLTACSAQTQKAEQNDVKLTPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWQGLRAAPKKQK KHTLSLTPDTTLYNAAQIICANYGKAFSVDKK (SEQ ID NO.51)
D330D	MKKIILTLTSLGLLTACSAQIQKAEQNDVKLAPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWQGLRAAPKKQK KHTLSLTPDTTLYNAAQIICANYGKAFSVDKK (SEQ ID NO.52)
BS433	MKKIILTLTSLGLLTACSAQIQKAEQNDVKLAPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDTVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWQGLRAAPKKQK KHTLSLTPDTTLYNAAQIICANYGKAFSVDKK (SEQ ID NO.53)
BS432	MKKIILTLTSLGLLTACSAQTQKAEQNDVKLAPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWQGLRAAPKKQK KHTLSLTPDTTLYNAAQIICANYGKAFSVDKK (SEQ ID NO.54)
1714	MKKIILTLTSLGLLTACSAQIQKAEQNDVKLAPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWQGLRAAPKKQK KHTLSLTPDTTLYNAAQIICANYGKAFSVDKK (SEQ ID NO.55)
1128	MKKIILTLTSLGLLTACSAQIQKAEQNDVKLAPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWQGLRAAPKKQK KHTLSLTPDTTLYNAAQIICANYGKAFSVDKK (SEQ ID NO.56)
BS430	MKKIILTLTSLGLLTACSAQIQKAEQNDVKLAPPTDVRSGYIRLVKNVNYIDSESIWVDNQEPQ IVHFDAVVNLDKGLYVYPEPKRYARSVRQYKILNCANYHLTQVRTDFYDEFWQGLRAAPKKQK KHTLSLTPDTTLYNAAQIICANYGKAFSVDKK (SEQ ID NO.57)

La proteína E puede ser la Proteína E de *H. influenzae* cepas 3224A, RdKW20, 86-028NP, R2846, R2866, 3655, PittAA, PittEE, PittHH, PittII, R3021, 22.4-21, 3219C, 3185, 3241A, 038144S1, 810956, 821246, 840645, 902550Z19, A840177, A860514, A950014, 306543X4, A930105, 901905U, A920030, 3221B, 27W116791N, N218, N163, N162, N107, N91, D211PG, D211PD, D201PG, D201PD, D198PG, D198PD, D195PD, D189PG, D189PD, D129CG, D124PG, D124PD, D58PG, D330D, BS433, BS432, 1714, 1128 o BS430. La Proteína E puede ser la Proteína E como se expone en cualquiera de SEQ ID NO. 5 - SEQ ID NO. 57.

La proteína E puede ser una secuencia con al menos un 95 % de identidad, sobre la longitud completa, de cualquiera de SEQ ID NO. 4 - SEQ ID NO. 57.

Los fragmentos inmunogénicos de la Proteína E comprenden fragmentos inmunogénicos de al menos 7, 10, 15, 20, 25, 30 o 50 aminoácidos contiguos de SEQ ID NO. 4. Los fragmentos inmunogénicos pueden activar anticuerpos que puedan unirse a SEQ ID NO. 4.

Los fragmentos inmunogénicos de la Proteína E pueden comprender fragmentos inmunogénicos de al menos 7, 10, 15, 20, 25, 30 o 50 aminoácidos contiguos de SEQ ID NO. 4 - SEQ ID NO. 57. Los fragmentos inmunogénicos pueden activar anticuerpos que puedan unirse a la longitud completa de la que deriva el fragmento.

Los fragmentos inmunogénicos de la Proteína E comprenden fragmentos inmunogénicos de al menos 7, 10, 15, 20, 25, 30 o 50 aminoácidos contiguos de SEQ ID NO. 5 - SEQ ID NO. 57. Los fragmentos inmunogénicos pueden activar anticuerpos que puedan unirse a la secuencia de longitud completa de la que deriva el fragmento.

Como se usa en el presente documento "PilA" significa Pilina A de *H. influenzae*. PilA puede consistir en o comprender la secuencia de proteína de SEQ ID NO. 58 MKLTQTQTLK KGFTLIELMI VIAIAILAT IAIPSYQNYT KKAHVSELLQ ASAPYKADVE LCVYSTNETT NCTGGKNGIA ADITTAKGYV KSVTTSGAI TVKGDGTLAN

MEYLQATGN AATGVTWTTT CKGTDASLFP ANFCGSVTQ) así como las secuencias con un 80 % a un 100 % de identidad a SEQ ID NO. 58. Por ejemplo, PilA puede ser al menos el 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 % o 100 % idéntica a SEQ ID NO. 58. La comparación de longitud completa de 64 secuencias de PilA de *Haemophilus influenzae* (Tabla 2, SEQ ID NO. 58 - SEQ ID NO. 121) demostró aproximadamente un 80 % a un 100 % de identidad a PilA como se expone en SEQ ID NO. 58. Por ejemplo, en la secuencia de aminoácidos de PilA, el aminoácido n.º 6 puede ser glutamina (Q) o leucina (L); el aminoácido n.º 7 puede ser glutamina (Q) o treonina (T); el aminoácido n.º 37 puede ser glutamina (Q) o lisina (K); el aminoácido n.º 44 puede ser alanina (A) o serina (S); el aminoácido n.º 57 puede ser alanina (A) o serina (S); el aminoácido n.º 67 puede ser asparagina (N) o glicina (G); el aminoácido n.º 68 puede ser ácido glutámico (E) o lisina (K); el aminoácido n.º 69 puede ser treonina (T) o prolina (P); el aminoácido n.º 71 puede ser lisina (K), asparagina (N), serina (S) o treonina (T); el aminoácido n.º 73 puede ser treonina (T), serina (S) o metionina (M); el aminoácido n.º 76 puede ser lisina (K), serina (S) o asparagina (N); el aminoácido n.º 84 puede ser treonina (T) o lisina (K); el aminoácido n.º 86 puede ser alanina (A) o valina (V); el aminoácido n.º 91 puede ser lisina (K) o alanina (A); el aminoácido n.º 94 puede ser treonina (T), isoleucina (I) o lisina (K); el aminoácido n.º 96 puede ser serina (S) o glutamina (Q); el aminoácido n.º 97 puede ser asparagina (N) o serina (S); el aminoácido n.º 99 puede ser alanina (A) o glicina (G); el aminoácido n.º 103 puede ser alanina (A) o lisina (K); el aminoácido n.º 109 puede ser ácido aspártico (D), alanina (A) o treonina (T); el aminoácido n.º 110 puede ser glicina (G), asparagina (N), o arginina (R); el aminoácido n.º 112 puede ser serina (S) o ácido glutámico (E); el aminoácido n.º 114 puede ser treonina (T) o isoleucina (I); el aminoácido n.º 116 puede ser treonina (T) o glutamina (Q); el aminoácido n.º 118 puede ser ácido glutámico (E), treonina (T), alanina (A), lisina (K) o serina (S); el aminoácido n.º 121 puede ser serina (S) o alanina (A); el aminoácido n.º 122 puede ser alanina (A) o treonina (T); el aminoácido n.º 123 puede ser lisina (K), treonina (T) o alanina (A); el aminoácido n.º 128 puede ser lisina (K) o treonina (T); el aminoácido n.º 135 puede ser ácido aspártico (D) o ácido glutámico (E); el aminoácido n.º 136 puede ser alanina (A) o treonina (T); el aminoácido n.º 145 puede ser glicina (G) o arginina (R); el aminoácido n.º 149 puede ser glutamina (Q) o lisina (K); o cualquier combinación de los mismos..

Pil A puede consistir en o comprender una secuencia de aminoácidos que difiera de SEQ ID NO. 58 en uno o más aminoácidos seleccionados del grupo que consiste en el aminoácido n.º 6, el aminoácido n.º 7, el aminoácido n.º 37, el aminoácido n.º 44, el aminoácido n.º 57, el aminoácido n.º 67, el aminoácido n.º 68, el aminoácido n.º 69, el aminoácido n.º 71, el aminoácido n.º 73, el aminoácido n.º 76, el aminoácido n.º 84, el aminoácido n.º 86, el aminoácido n.º 91, el aminoácido n.º 94, el aminoácido n.º 96, el aminoácido n.º 97, el aminoácido n.º 99, el aminoácido n.º 103, el aminoácido n.º 109, el aminoácido n.º 110, el aminoácido n.º 112, el aminoácido n.º 114, el aminoácido n.º 116, el aminoácido n.º 118, el aminoácido n.º 121, el aminoácido n.º 122, el aminoácido n.º 123, el aminoácido n.º 128, el aminoácido n.º 135, el aminoácido n.º 136, el aminoácido n.º 145 y el aminoácido n.º 149, en el que el aminoácido n.º 6 es leucina (L); el aminoácido n.º 7 es treonina (T); el aminoácido n.º 37 es lisina (K); el aminoácido n.º 44 es serina (S); el aminoácido n.º 57 es serina (S); el aminoácido n.º 67 es glicina (G); el aminoácido n.º 68 es lisina (K); el aminoácido n.º 69 es prolina (P); el aminoácido n.º 71 es lisina (K), serina (S) o treonina (T); el aminoácido n.º 73 es serina (S) o metionina (M); el aminoácido n.º 76 es serina (S) o asparagina (N); el aminoácido n.º 84 es lisina (K); el aminoácido n.º 86 es valina (V); el aminoácido n.º 91 es alanina (A); el aminoácido n.º 94 es isoleucina (I) o lisina (K); el aminoácido n.º 96 es glutamina (Q); el aminoácido n.º 97 es serina (S); el aminoácido n.º 99 es glicina (G); el aminoácido n.º 103 es alanina (A); el aminoácido n.º 109 es ácido aspártico (D) o treonina (T); el aminoácido n.º 110 es glicina (G) o arginina (R); el aminoácido n.º 112 es serina (S); el aminoácido n.º 114 es treonina (T); el aminoácido n.º 116 es treonina (T); el aminoácido n.º 118 es ácido glutámico (E), alanina (A), lisina (K) o serina (S); el aminoácido n.º 121 es serina (S); el aminoácido n.º 122 es treonina (T); el aminoácido n.º 123 es lisina (K) o alanina (A); el aminoácido n.º 128 es lisina (K); el aminoácido n.º 135 es ácido glutámico (E); el aminoácido n.º 136 es treonina (T); el aminoácido n.º 145 es arginina (R); el aminoácido n.º 149 es lisina (K).

Tabla 2: Secuencias de aminoácidos de la Proteína E de 53 cepas de *Haemophilus influenzae* (SEQ ID NO. 5 - SEQ ID NO. 57. - indica que el aminoácido está ausente).

Nombre de la cepa	Secuencia de PilA
86-028NP	MKLTTQQTLLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAAVSELLQASAPYKADVELCVY STNETTNTCTGGKNGIAADITTAKGYVKSVTTSNGAITVKGDTLANMEYILQATGNAATGVTWT TTCKGTDASLFPANFCGSVTQ (SEQ ID NO.58)
NTHi3219C	MKLTTQQTLLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAAVSELLQASAPYKADVELCVY STNETTKCTGGKNGIAADITTAKGYVKSVTTSNGAITVAGNGTLDGMSYTLTAEGDSAKGVTWK TTCKGTDASLFPANFCGSVTQ (SEQ ID NO.59)
NTHi3224A	MKLTTQQTLLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAAVSELLQASAPYKADVELCVY STNETTNTCTGGKNGIAADITTAKGYVKSVTTSNGAITVKGDTLANMEYILQATGNAATGVTWT TTCKGTDASLFPANFCGSVTQ (SEQ ID NO.60)
NTHi12	MKLTTQQTLLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYKNYTKKAAVSELLQASAPYKADVELCVY STGKPPSSCSGGSNGIAADITTAKGYVASVITQSGGITVKGDTLANMEYILQAAGNAAAGVTWT TTCKGTDASLFPANFCGSVTQ (SEQ ID NO.61)

(continuación)

Nombre de la cepa	Secuencia de Pila
NTHi44	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAAVSELLQASAPYKADVELCVY STNETTNCTGGKNGIAADITTAKGYVKSVTTSNGAITVKG DGT LANMEYILQATGNAATGVTWT TTCKGTDASLF PANFCGSVTQ (SEQ ID NO.62)
NTHi67	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAAVSELLQASAPYKSDVELCVY STGKPSTCSGGSNGIAADITTAKGYVKSVTTSNGAITVAGNGTLDGMSYTLTAEGDSAKGVTWT TTCKGTDASLF PANFCGSVTQ (SEQ ID NO.63)
1054MEE	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAAVSELLQASAPYKADVELCVY STNETTNCTGGKNGIAADITTAKGYVKSVTTSNGAITVKG DGT LANMEYILQATGNAATGVTWT TTCKGTDASLF PANFCGSVTQ (SEQ ID NO.64)
1729MEE	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAAVSELLQASAPYKADVELCVY STNETTNCTGGKNGIAADITTAKGYVKSVTTSNGAITVKG DGT LANMEYILQATGNAATGVTWT TTCKGTDASLF PANFCGSVTQ (SEQ ID NO.65)
1728MEE	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAAVSELLQASAPYKADVELCVY STNETTNCTGGKNGIAADITTAKGYVKSVTTSNGAITVKG DGT LANMEYILQATGNAATGVTWT TTCKGTDASLF PANFCGSVTQ (SEQ ID NO.66)
1885MEE	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYKNTTKKAAVSELLQASAPYKADVELCVY STNEITNCMGGKNGIAADITTAKGYVASVKTQSGGITVKG DGT LANMEYILQATGNAAAAGVTWT TTCKGTDASLF PANFCGSITQ (SEQ ID NO.67)
1060MEE	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKASVSELLQASAPYKADVELCVY STNETTNCTGGKNGIAADITTAKGYVASVKTQSGGITVKGNGT LANMEYILQAKGNATAGVTWT TTCKGTDASLF PANFCRSVTK (SEQ ID NO.68)
RdKW20	MKLTTLQTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAAVSELLQASAPYKADVELCVY STNETTSCTGGKNGIAADIKTAKGYVASVITQSGGITVKGNGT LANMEYILQAKGNAAAAGVTWT TTCKGTDASLF PANFCGSVTK (SEQ ID NO.69)
214NP	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAAVSELLQASAPYKADVELCVY STGKPSSCSGGSNGIAADITTAKGYVKSVTTSNGAITVKG DGT LANMEYILQASGNAATGVTWT TTCKGTDASLF PANFCGSVTQ (SEQ ID NO.70)
1236MEE	MKLTTLQTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAAVSELLQASAPYKADVELCVY STNETTSCTGGKNGIAADIKTAKGYVASVITQSGGITVKGNGT LANMEYILQAKGNAAAAGVTWT TTCKGTDASLF PANFCGSVTK (SEQ ID NO.71)
1714MEE	MKLTTLQTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAAVSELLQASAPYKADVELCVY STGKPSTCSGGSNGIAADITTAKGYVASVKTQSGGITVKGNGT LANMEYILQATGNAATGVTWT TTCKGTDASLF PANFCGSVTQ (SEQ ID NO.72)
1128MEE	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKASVSELLQASAPYKSDVELCVY STGKPSTCSGGSNGIAADITTAKGYVASVKTQSGGITVKGNGT LANMEYILQAKGNATAGVTWT TTCKGTDASLF PANFCRSVTK (SEQ ID NO.73)
R2846	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAAVSELLQASAPYKADVELCVY STNETTNCTGGKNGIAADITTAKGYVKSVTTSNGAITVKG DGT LANMEYILQATGNAATGVTWT TTCKGTDASLF PANFCGSVTQ (SEQ ID NO.74)
R2866	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAAVSELLQASAPYKADVELCVY STNETTNCTGGKNGIAADITTAKGYVASVKTQSGGITVKG DGT LANMEYILQATGNAATGVTWT TTCKGTEASLF PANFCGSVTQ (SEQ ID NO.75)
3655	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKASVSELLQASAPYKADVELCVY STNETTNCTGGKNGIAADITTAKGYVASVKTQSGGITVKGNGT LANMEYILQAKGNATAGVTWT TTCKGTDASLF PANFCRSVTK (SEQ ID NO.76)

(continuación)

Nombre de la cepa	Secuencia de Pila
PittAA	MKLTTLQTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAHVSELLQASAPYKADVELCVY STGKPSTCSGGSNGIAADITTAKGYVASVKTQSGGITVKGNGTLANMEYILQATGNAATGVTWT TTCKGTDASLFANFCGSVTQ (SEQ ID NO.77)
PittGG	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAHVSELLQASAPYKADVELCVY STGKPSTCSGGSNGIAADITTAKGYVASVKTQSGGITVKGNGTLANMEYILQAKGNATAGVTWT TTCKGTDASLFANFCRSVTQ (SEQ ID NO.78)
PittII	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAHVSELLQASAPYKADVELCVY STNETTNCTGGKNGIAADITTAKGYVASVKTQSGGITVKGNGTLANMEYILQATGNAATGVTWT TTCKGTEASLFANFCGSVTQ (SEQ ID NO.79)
R3021	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAHVSELLQASAPYKADVELCVY STNETTNCTGGKNGIAADITTAKGYVASVKTQSGGITVKGNGTLANMEYILQATGNAATGVTWT TTCKGTEASLFANFCGSVTQ (SEQ ID NO.80)
22.4-21	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAHVSELLQASAPYKSDVELCVY STGKPSTCSGGSNGIAADITTAKGYVKSVTTSNGAITVAGNGTLDGMSYTLTAEGDSAKGVTWK TTCKGTDASLFANFCGSVTQ (SEQ ID NO.81)
3185A	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAHVSELLQASAPYKADVELCVY STNEATKCTGGKNGIAADITTAKGYVKSVTTSNGAITVKGNGTLANMEYILQASGNAATGVTWT TTCKGTDASLFANFCGSVTQ (SEQ ID NO.82)
3221B	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAHVSELLQASAPYKADVELCVY STNEATKCTGGKNGIAADITTAKGYVKSVTTSNGAITVKGNGTLANMEYILQASGNAATGVTWT TTCKGTDASLFANFCGSVTQ (SEQ ID NO.83)
3241A	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAHVSELLQASAPYKADVELCVY STNETTNCTGGKNGIAADITTAKGYVKSVTTSNGAITVKGNGTLANMEYILQATGNAATGVTWT TTCKGTDASLFANFCGSVTQ (SEQ ID NO.84)
038144S1	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAHVSELLQASAPYKSDVELCVY STGKPSTCSGGSNGIAADITTAKGYVASVKTQSGGITVKGNGTLANMEYILQAKGNATAGVTWT TTCKGTDASLFANFCRSVTQ (SEQ ID NO.85)
821246	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAHVSELLQASAPYKADVELCVY STNETTNCTGGKNGIAADITTAKGYVASVKTQSGGITVKGNGTLANMEYILQATGNAATGVTWT TTCKGTEASLFANFCGSVTQ (SEQ ID NO.86)
840645	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAHVSELLQASAPYKADVELCVY STNETTNCTGGKNGIAADITTAKGYVKSVTTSNGAITVKGNGTLANMEYILQATGNAATGVTWT TTCKGTDASLFANFCGSVTQ (SEQ ID NO.87)
902550Z19	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAHVSELLQASAPYKSDVELCVY STGKPSTCSGGSNGIAADITTAKGYVKSVTTSNGAITVAGNGTLDGMSYTLTAEGDSAKGVTWT TTCKGTDASLFANFCGSVTQ (SEQ ID NO.88)
A840177	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAHVSELLQASAPYKADVELCVY STNETTNCTGGKNGIAADITTAKGYVKSVTTSNGAITVKGNGTLANMEYILQATGNAATGVTWT TTCKGTDASLFANFCGSVTQ (SEQ ID NO.89)
A920030	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAHVSELLQASAPYKADVELCVY STNETTNCTGGKNGIAADITTAKGYVASVKTQSGGITVKGNGTLANMEYILQATGNAATGVTWT TTCKGTDASLFANFCGSVTQ (SEQ ID NO.90)
A950014	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAHVSELLQASAPYKADVELCVY STGKPSTCSGGSNGIAADITTAKGYVKSVTTSNGAITVAGNGTLDGMSYTLTAEGDSAKGVTWT TTCKGTDASLFANFCGSVTQ (SEQ ID NO.91)

(continuación)

Nombre de la cepa	Secuencia de PIIA
901905U	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAHVSELLQASAPYKADVELCVY STGKPSSCSGGSNGIAADITTAKGYVKSVTTSNGAITVKGDTLANMEYILQASGNAATGVTWT TTCKGTDASLFANFCGSVTQ (SEQ ID NO.92)
A920029	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAHVSELLQASAPYKSDVELCVY STNETTNCTGGKNGIAADITTAKGYVASVITQSGGITVKGNGTLTNMEYILQATGNAATGVTWT TTCKGTDASLFANFCGSITQ (SEQ ID NO.93)
A930105	MKLTTLOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAHVSELLQASAPYKADVELCVY STGKPSTCSGGNNGIAADIKTAKGYVASVKTQSGGITVKGDTLANMEYILQATGNAATGVTWT TTCKGTDASLFANFCGSVTQ (SEQ ID NO.94)
306543X4	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAHVSELLQASAPYKADVELCVY STGKPSSCSGGSNGIAADITTAKGYVKSVTTSNGAITVKGDTLANMEYILQASGNAATGVTWT TTCKGTDASLFANFCGSVTQ (SEQ ID NO.95)
N218	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAHVSELLQASAPYKADVELCVY STNEATKCTGGKNGIAADITTAKGYVKSVTTSNGAITVKGDTLANMEYILQASGNAATGVTWT TTCKGTDTSLFANFCGSVTQ (SEQ ID NO.96)
N163	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAHVSELLQASAPYKADVELCVY STNETTNCTGGKNGIAADITTAKGYVKSVTTSNGAITVKGDTLANMEYILQATGNAATGVTWT TTCKGTDASLFANFCGSVTQ (SEQ ID NO.97)
N162	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAHVSELLQASAPYKADVELCVY STNETTNCTGGKNGIAADITTAKGYVASVKTQSGGITVKGNGTLANMEYILQATGNAATGVTWT TTCKGTDASLFANFCGSVTQ (SEQ ID NO.98)
N120	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAHVSELLQASAPYKADVELCVY STGKPSTCSGGSNGIAADITTAKGYVASVKTQSGGITVKGNGTLANMEYILQAKGNATAGVTWT TTCKGTDASLFANFCRSVTQ (SEQ ID NO.99)
N107	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAHVSELLQASAPYKADVELCVY STGKPSTCSGGSNGIAADITTAKGYVASVKTQSGGITVKGNGTLANMEYILQAKGNATAGVTWT TTCKGTDASLFANFCRSVTQ (SEQ ID NO.100)
N92	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAHVSELLQASAPYKADVELCVY STNETTNCTGGKNGIAADITTAKGYVKSVTTSNGAITVKGDTLANMEYILQATGNAATGVTWT TTCKGTDASLFANFCGSVTQ (SEQ ID NO.101)
N91	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAHVSELLQASAPYKADVELCVY STGKPSTCSGGSNGIAADITTAKGYVASVKTQSGGITVKGNGTLANMEYILQAKGNATAGVTWT TTCKGTDASLFANFCRSVTQ (SEQ ID NO.102)
D219PG	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAHVSELLQASAPYKADVELCVY STNEATKCTGGKNGIAADITTAKGYVKSVTTSNGAITVKGDTLANMEYILQASGNAATGVTWT TTCKGTDASLFANFCGSVTQ (SEQ ID NO.103)
D211PG	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAHVSELLQASAPYKADVELCVY STNETTNCTGGKNGIAADITTAKGYVKSVTTSNGAITVKGDTLANMEYILQATGNAATGVTWT TTCKGTDASLFANFCGSVTQ (SEQ ID NO.104)
D211PD	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAHVSELLQASAPYKADVELCVY STNETTNCTGGKNGIAADITTAKGYVKSVTTSNGAITVKGDTLANMEYILQATGNAATGVTWT TTCKGTDASLFANFCGSVTQ (SEQ ID NO.105)
D204CD	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAHVSELLQASAPYKADVELCVY STNETTNCTGGKNGIAADITTAKGYVKSVTTSNGAITVKGDTLANMEYILXATGNAATGVTWT TTCKGTDASLFANFCGSVTQ (SEQ ID NO.106)

(continuación)

Nombre de la cepa	Secuencia de PIIA
D198PG	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAHVSELLQASAPYKADVELCVY STNETTNCTGGKNGIAADITTAKGYVKSVTTSNGAITVKG DGT LANMEYILQATGNAATGVTWT TTCKGTDASLF PANFCGSVTQ (SEQ ID NO.107)
D198PD	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAHVSELLQASAPYKADVELCVY STNETTNCTGGKNGIAADITTAKGYVKSVTTSNGAITVKG DGT LANMEYILQATGNAATGVTWT TTCKGTDASLF PANFCGSVTQ (SEQ ID NO.108)
D195PD	MKLTTLQTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAHVSELLQASAPYKADVELCVY STGKPSTCSGGNNGIAADIKTAKGYVASVKTQSGGITVKG DGT LANMEYILQATGNAATGVTWT TTCKGTDASLF PANFCGSVTQ (SEQ ID NO.109)
D195CD	MKLTTLQTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAHVSELLQASAPYKADVELCVY STGKPSTCSGGNNGIAADIKTAKGYVASVKTQSGGITVKG DGT LANMEYILQATGNAATGVTWT TTCKGTDASLF PANFCGSVTQ (SEQ ID NO.110)
D189PG	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAHVSELLQASAPYKADVELCVY STNETTSCTGGKNGIAADITTAKGYVKSVTTSNGAITVAGNGTLDGMSYTLTAEGDSAKGV TWK TTCKGTDASLF PANFCGSVTQ (SEQ ID NO.111)
D189PD	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAHVSELLQASAPYKADVELCVY STNETTSCTGGKNGIAADITTAKGYVKSVTTSNGAITVAGNGTLDGMSYTLTAEGDSAKGV TWK TTCKGTDASLF PANFCGSVTQ (SEQ ID NO.112)
D124PG	MKLTTLQTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAHVSELLQASAPYKADVELCVY STGKPSTCSGGNNGIAADIKTAKGYVASVKTQSGGITVKG DGT LANMEYILQATGNAATGVTWT TTCKGTDASLF PANFCGSVTQ (SEQ ID NO.113)
D124PD	MKLTTLQTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAHVSELLQASAPYKADVELCVY STGKPSTCSGGNNGIAADIKTAKGYVASVKTQSGGITVKG DGT LANMEYILQATGNAATGVTWT TTCKGTDASLF PANFCGSVTQ (SEQ ID NO.114)
D124CG	MKLTTLQTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAHVSELLQASAPYKADVELCVY STGKPSTCSGGNNGIAADIKTAKGYVASVKTQSGGITVKG DGT LANMEYILQATGNAATGVTWT TTCKGTDASLF PANFCGSVTQ (SEQ ID NO.115)
D58PG	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAHVSELLQASAPYKADVELCVY STNETTNCTGGKNGIAADITTAKGYVASVKTQSGGITVKG DGT LANMEYILQATGNAATGVTWT TTCKGTEASLF PANFCGSVTQ (SEQ ID NO.116)
BS433	MKLTTLQTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAHVSELLQASAPYKADVELCVY STGKPSTCSGGNNGIAADIKTAKGYVASVKTQSGGITVKG DGT LANMEYILQATGNAATGVTWT TTCKGTDASLF PANFCGSVTQ (SEQ ID NO.117)
BS432	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAHVSELLQASAPYKADVELCVY STGKPSTCSGGSNGIAADITTAKGYVASVKTQSGGITVKGNGT LANMEYILQAKGNATAGVTWT TTCKGTDASLF PANFCRSVTK (SEQ ID NO.118)
BS430	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAHVSELLQASAPYKADVELCVY STNEATKCTGGKNGIAADITTAKGYVKSVTTSNGAITVKG DGT LANMEYILQASGNAATGVTWT TTCKGTDASLF PANFCGSVTQ (SEQ ID NO.119)
1714	MKLTTLQTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKAHVSELLQASAPYKADVELCVY STGKPSTCSGGSNGIAADITTAKGYVASVKTQSGGITVKGNGT LANMEYILQATGNAATGVTWT TTCKGTDASLF PANFCGSVTQ (SEQ ID NO.120)
1128	MKLTTQOTLKKGFTLIELMIVIAIIAILATIAIPSYQNYTKKASVSELLQASAPYKSDVELCVY STGKPSTCSGGSNGIAADITTAKGYVASVKTQSGGITVKGNGT LANMEYILQAKGNATAGVTWT TTCKGTDASLF PANFCRSVTK (SEQ ID NO.121)

PilA puede ser PilA de *H. influenzae* cepa NTHi3219C, NTHi3224A, NTHi12, NTHi44, NTHi67, 1054MEE, 1729MEE, 1728MEE, 1885MEE, 1060MEE, RdKW20, 214NP, 1236MEE, 1714MEE, 1128MEE, 86-028NP, R2846, R2866, 3655, PittAA, PittGG, PittII, R3021, 22.4-21, 3185A, 3221B, 3241A, 038144S1, 821246, 840645, 902550Z19, A840177, A920030, A950014, 901905U, A920029, A930105, 306543X4, N218, N163, N162, N120, N107, N92, N91, D219PG, D211PG, D211PD, D204CD, D198PG, D198PD, D195PD, D195CD, D189PG, D189PD, D124PG, D124PD, D124CG, D58PG, BS433, BS432, BS430, 1714 o 1128. Una secuencia de aminoácidos para PilA de *H. influenzae* cepa D204CD se expone en SEQ ID NO. 106, en la que X en la posición n.º 116 es bien glutamina (Q) o leucina (L); la ambigüedad para el aminoácido en la posición n.º 116 podría esclarecerse por resolución técnica del segundo nucleótido que codifica el aminoácido n.º 116, clarificando la secuencia de PilA para la cepa D204CD. PilA puede ser PilA como se expone en cualquiera de SEQ ID NO. 58 - SEQ ID NO. 121.

PilA puede ser una secuencia con al menos un 95 % de identidad, sobre la longitud completa, a cualquiera de SEQ ID NO. 58 - SEQ ID NO. 121 (como se expone en la Tabla 2).

Los fragmentos inmunogénicos de PilA comprenden fragmentos inmunogénicos de al menos 7, 10, 15, 20, 25, 30 o 50 aminoácidos contiguos de SEQ ID NO. 58 - SEQ ID NO. 121. Los fragmentos inmunogénicos pueden activar anticuerpos que pueden unirse a la secuencia de longitud completa de la que deriva el fragmento.

Por ejemplo, los fragmentos inmunogénicos de PilA comprenden fragmentos inmunogénicos de al menos 7, 10, 15, 20, 25, 30 o 50 aminoácidos contiguos de SEQ ID NO. 58. Los fragmentos inmunogénicos pueden activar anticuerpos que pueden unirse a SEQ ID NO. 58.

La identidad entre polipéptidos puede calcularse por diversos algoritmos. Por ejemplo, puede usarse el programa Needle, del paquete EMBOSS (Software libre; EMBOSS: The European Molecular Biology Open Software Suite (2000). Trends in Genetics 16(6): 276-277) y el programa Gap del paquete GCG® (Accelrys Inc.). Este programa Gap es una implementación del algoritmo de Needleman-Wunsch descrito en: Needleman, S. B. y Wunsch, C. D. (1970) J. Mol. Biol. 48, 443-453. Se ha estado usando la matriz de puntuación BLOSUM62 y el hueco abierto y las sanciones de extensión fueron respectivamente 8 y 2.

Como se usa en el presente documento, "adyuvante" significa un compuesto o una sustancia que, cuando se administra a un sujeto junto con una vacuna, un producto inmunoterapéutico u otra composición que contiene antígeno o inmunógeno, aumenta o potencia la respuesta inmune del sujeto al antígeno o inmunógeno administrados (en comparación con la respuesta inmune que se obtendría en ausencia de adyuvante). Esto ha de distinguirse de "terapia adyuvante", definida por el National Cancer Institute of the United States Institutes of Health en el contexto del tratamiento de cáncer como un tratamiento adicional dado después del tratamiento primario, para disminuir el riesgo de que el cáncer recurra.

Las sustituciones conservativas se conocen bien y se establecen generalmente como las matrices de puntuación por defecto en los programas de ordenador de alineamiento de secuencias. Estos programas incluyen PAM250 (Dayhoff M.O. y col., (1978), "A model of evolutionary changes in proteins", en "Atlas of Protein sequence and structure" 5(3) M.O. Dayhoff (ed.), 345-352), National Biomedical Research Foundation, Washington y Blosum 62 (Steven Henikoff y Jorja G. Henikoff (1992), "Amino acid substitution matrices from protein blocks", Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 89 (Biochemistry): 10915-10919. La invención proporciona además proteínas de fusión de fórmula (I) que contienen sustituciones de aminoácidos conservativas. Por ejemplo, las proteínas de fusión de fórmula (I) pueden contener una sustitución conservativa de cualquier aminoácido de PE o PilA de *H. influenzae* como se describen en cualquiera de las secuencias expuestas en el presente documento (por ejemplo, cualquier secuencia de PE expuesta en SEQ ID NO. 4 - SEQ ID NO. 57 y/o cualquier secuencia de PilA expuesta en SEQ ID NO. 58 - SEQ ID NO. 121).

Como se usa en el presente documento "péptido señal" se refiere a un polipéptido corto (menos de 60 aminoácidos, por ejemplo, 3 a 60 aminoácidos) presente en proteínas precursoras (típicamente en el N terminal) y que está típicamente ausente de la proteína madura. El péptido señal (ps) es típicamente rico en aminoácidos hidrófobos. El péptido señal dirige el transporte y/o la secreción de la proteína traducida a través de la membrana. Los péptidos señal también pueden denominarse señales de marcaje de diana, péptidos de tránsito, señales de localización o secuencias señal. Por ejemplo, la secuencia señal puede ser un péptido señal co-traducciona l o post-traducciona l.

Un péptido señal heterólogo puede escindirse de una construcción de proteína de fusión por peptidasas del péptido señal durante o después del transporte o la secreción de la proteína. Por ejemplo, la peptidasa del péptido señal es una peptidasa I del péptido señal. Un péptido señal "heterólogo" es uno que no está asociado a la proteína como existe en la naturaleza.

Como se usa en el presente documento "tratamiento" significa la prevención de la ocurrencia de síntomas de la afección o enfermedad en un sujeto, la prevención de la recurrencia de síntomas de la afección o enfermedad en un sujeto, el retraso de la recurrencia de los síntomas de la afección o enfermedad en un sujeto, la disminución en la gravedad o frecuencia de los síntomas de la afección o enfermedad en un sujeto, la ralentización o la eliminación del avance de la afección y la eliminación parcial o total de los síntomas de la enfermedad o afección en un sujeto.

Como se usa en el presente documento, "opcionalmente" significa que el evento o eventos posteriormente descritos pueden o pueden no ocurrir e incluye tanto evento o eventos que ocurren como eventos que no ocurren.

La patogénesis de la enfermedad provocada por NTHi comienza con la colonización nasofaríngea. Los mecanismos para adherirse y mantener la residencia a largo plazo dentro del microambiente nasofaríngeo se consideran “determinantes de la virulencia” para NTHi (Vaccine 28: 279-289 (2010)).

La importancia de que NTHi sea capaz de adherirse a las superficies epiteliales mucosas de un hospedador humano se refleja en la multiplicidad de adhesinas expresadas por NTHi. Por ejemplo, algún NTHi expresa pili. Otras estructuras adhesivas pertenecen a la familia autotransportadora de proteínas; estas incluyen proteínas Hap, HMW1/HMW2 e Hia/Hsf. Se han descrito además proteínas de membrana externa, tales como la proteína P2, la proteína P5 y OapA como adhesiones para *Haemophilus influenzae* (Cellular Microbiology 4:191-200 (2002), Microbes and Infection 10: 87-96 (2008), Vaccine 28: 279-289 (2010)).

La otitis media es una causa mayor de morbilidad en el 80 % de todos los niños menores de 3 años de edad (Expert Rev. Vaccines 5:517-534 (2006)). Más del 90 % de los niños desarrollan otitis media antes de la edad de 7 (Current Opinion in Investigational Drugs 4:953-958 (2003)). En 2000, hubo 16 millones de visitas realizadas a médicos en base a oficina para otitis media en los Estados Unidos y aproximadamente 13 millones de prescripciones antibacterianas dispensadas (Pediatrics 113:1451-1465 (2004)). En países europeos, las tasas de otitis media aguda informadas varían entre 0,125 y 1,24 por niño-año (Expert Review of Vaccines 8:1479-1500 (2009)). La otitis media es una infección costosa y la razón más común por la que los niños reciben antibióticos (Current Infectious Disease Reports 11:177-182 (2009)). Las bacterias son responsables de aproximadamente el 70 % de los casos de otitis media aguda, predominando como los agentes causantes *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* no tipificable y *Moraxella* (Expert Review of Vaccines 5:517-534 (2006)). Un subconjunto de niños experimentan otitis media recurrente y crónica y estos niños propensos a otitis tienen derrames prolongados en el oído medio que se asocian a la pérdida de audición y retrasos en el habla y el desarrollo del lenguaje (Current Infectious Disease Reports 11:177-182 (2009)).

Siguiendo la introducción de la vacuna neumocócica heptavalente en muchos países, algunos estudios han demostrado un aumento significativo en la proporción de otitis media aguda provocada por *H. influenzae*, volviéndose *H. influenzae* el patógeno predominante (Pediatric Infectious Disease Journal 23:824-828; Pediatric Infectious Disease Journal 23:829-833 (2004)).

Ya que la otitis media es una enfermedad multifactorial, se ha cuestionado la factibilidad de revertir la otitis media usando una estrategia de vacunación (Current Infectious Disease Reports 11:177-182 (2009)). Sin embargo, los resultados de un estudio sugieren que es posible que un antígeno induzca protección al menos parcial contra *H. influenzae* no tipificable (Lancet 367:740-748 (2006)). Un enfoque para desarrollar antígenos de vacuna es usar regiones antigénicamente conservadas de moléculas de superficie genéticamente heterogéneas pero abundantemente expresadas. Otro enfoque es identificar proteínas de superficie que demuestran la conservación de secuencias o de epítopos funcionales. Una tercera consideración para un antígeno de vacuna debería ser seleccionar un antígeno que se expresa durante la infección y la colonización en un hospedador humano. Murphy (Curr. Infect. Disease Reports 11:177-182 (2009)) cita que, a pesar de la existencia de varios antígenos candidatos potenciales para *H. influenzae* no tipificable, uno no puede predecir con certeza si el antígeno candidato será eficaz (Current Infectious Disease Reports 11:177-182 (2009)). Algunas de las proteínas descritas como antígenos de vacuna potenciales son: proteína adhesina de *Haemophilus* (Hap), proteínas 1 y 2 de alto peso molecular (HMW), adhesina de *H. influenzae* (Hia), proteína D15, proteína de choque térmico HtrA, proteína de superficie P2, lipoproteína D, péptidos derivados de fimbrina P5, proteína de membrana externa P4, proteína de membrana externa (OMP) 26 (OMP26), proteína P6, Proteína E, pilus Tipo IV, lipooligosacárido y fosforil colina (Current Infectious Disease Reports 11:177-182 (2009); Expert Review of Vaccines 5:517-534 (2006)).

El modelo de chinchilla es un modelo animal robusto y validado de otitis media y su prevención (Expert Review of Vaccines 8:1063-1082 (2009)). Aunque el modelo de chinchilla puede imitar el transcurso natural de la infección humana, otros han sugerido que los resultados en el modelo de chinchilla pueden variar de un laboratorio a otro (Current Opinion in Investigational Drugs 4:953-958 (2003)).

También se han usado diversos roedores distintos para la inducción de otitis media y se resumen en Vaccine 26:1501-1524 (2008). El modelo animal murino normalmente se estudia en la investigación de otitis media.

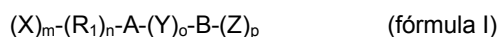
La presencia de anticuerpos bactericidas se asocia a la protección de la otitis media debida a *H. influenzae* no tipificable (Current Opinion in Infectious Disease 16:129-134 (2003)). Sin embargo, una respuesta inmune no necesita ser bactericida para ser eficaz contra NTHi. Los anticuerpos que meramente reaccionan con las adhesinas de superficie de NTHi pueden reducir o eliminar la otitis media en la chinchilla (Current Opinion in Investigational Drugs 4:953-958 (2003)).

La enfermedad pulmonar obstructiva crónica es una enfermedad inflamatoria crónica de los pulmones y una causa principal de morbilidad y mortalidad en todo el mundo. Aproximadamente una de 20 muertes en 2005 en los EE.UU. tuvo EPOC como causa subyacente (Drugs and Aging 26:985-999 (2009)). Se proyecta que en 2020 la EPOC se elevará a ser la quinta causa principal de años de vida ajustados por discapacidad, enfermedades invalidantes crónicas y a ser la tercera causa más importante de mortalidad (Lancet 349:1498-1504 (1997)).

El transcurso de la EPOC se caracteriza por el empeoramiento progresivo de la limitación de las vías aéreas y una disminución en la función pulmonar. La EPOC puede complicarse por exacerbaciones agudas (EA) frecuentes y recurrentes, que se asocia a enormes gastos de salud y alta morbilidad (Proceedings of the American Thoracic Society 4:554-564 (2007)). Un estudio sugiere que aproximadamente el 50 % de las exacerbaciones agudas de los síntomas de la EPOC están causados por *Haemophilus influenzae* no tipificable, *Moraxella catarrhalis*, *Streptococcus pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa* (Drugs and Aging 26:985-999 (2009)). *H. influenzae* se encuentra en el 20-30 % de las exacerbaciones de EPOC; *Streptococcus pneumoniae*, en el 10-15 % de las exacerbaciones de EPOC; y *Moraxella catarrhalis*, en el 10-15 % de las exacerbaciones de EPOC (New England Journal of Medicine 359:2355-2365 (2008)). *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* y *Moraxella catarrhalis* han demostrado ser los patógenos primarios en las exacerbaciones agudas de bronquitis en Hong Kong, Corea del sur y las Filipinas, mientras que *Klebsiella spp.*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter spp.* constituyen una gran proporción de patógenos en otros países/regiones asiáticos incluyendo Indonesia, Tailandia, Malasia y Taiwán (Respirology, (2011) 16, 532-539; doi:10.1111/j.1440.1843.2011.01943.x). En Bangladesh, el 20 % de los pacientes con EPOC mostraron cultivos de esputo positivos para *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*, mientras que el 65 % de los pacientes con EAEPOC mostraron cultivos positivos para *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Moraxella catarrhalis* y combinaciones de los mismos (Mymensingh Medical Journal 19:576-585 (2010)). Sin embargo, se ha sugerido que las dos medidas más importantes para prevenir la exacerbación de EPOC son las inmunizaciones activas y el mantenimiento crónico de la farmacoterapia (Proceedings of the American Thoracic Society 4:554-564 (2007)).

Existe una necesidad de vacunas eficaces contra NTHi. Usar antígenos que pueden actuar en diferentes etapas en la patogénesis puede mejorar la efectividad de una vacuna. Los inventores han descubierto que PilA y PE pueden estar beneficiosamente presentes en las composiciones inmunogénicas de la invención como proteínas de fusión.

La presente invención se refiere a proteínas de fusión de fórmula (I).



en la que

X es un péptido señal o MHHHHHH (SEQ ID NO. 2);

m es 0 o 1;

R₁ es un aminoácido;

n es 0, 1, 2, 3, 4, 5 o 6;

A es un fragmento inmunogénico de la Proteína E seleccionado de SEQ ID NO. 122, SEQ ID NO. 123, SEQ ID NO. 124, SEQ ID NO. 125, SEQ ID NO. 126, SEQ ID NO. 179 o SEQ ID NO. 180 o una secuencia que tiene al menos un 95 % de identidad con una cualquiera de SEQ ID NO. 122, SEQ ID NO. 123, SEQ ID NO. 124, SEQ ID NO. 125, SEQ ID NO. 126, SEQ ID NO. 179 o SEQ ID NO. 180;

Y se selecciona del grupo que consiste en GG, SG, SS y (G)_h en el que h es 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10;

o es 0 o 1;

B es un fragmento inmunogénico de PilA, al menos un 95 % idéntico a los aminoácidos 40-149 de cualquiera de SEQ ID NO. 58 a SEQ ID NO. 121;

Z es GGGHHHHH (SEQ ID NO. 3);

y p es 0 o 1.

En una realización, las proteínas de fusión de fórmula (I) se definen en las que X se selecciona del grupo que consiste en la secuencia señal de CcmH (proteína H de membrana citocromo c), DsbA (proteína periplásmica disulfuro isomerasa I), DsbB (proteína B de membrana de enlace disulfuro), FlgI (proteína de anillo de peptidoglucano flagelar), FocC (proteína Chaperona F1c), MalE (subunidad E del transportador de maltosa), NadA (subunidad A de la quinolinato sintasa), NikA (componente A del transportador ABC de níquel), NspA (proteína A de superficie de *Neisseria*), Omp26 (proteína 26 de la membrana externa), OmpA (proteína A de la membrana externa), OspA (proteína A de superficie externa), pelB (pectato liasa B), PhoA (fosfatasa alcalina bacteriana), PhtD (proteína D de tríada de histidina neumocócica), PhtE (proteína E de la tríada de histidina neumocócica), SfmC (chaperona de pilina periplásmica), Sip1 (proteína inmunogénica de superficie), TolB (Componente B del Complejo de Envuelta Celular Tol-Pal), TorA (subunidad A del sistema N-óxido de trimetilamina reductasa), TorT (proteína T periplásmica del sistema N-óxido de trimetilamina reductasa) e Yral (chaperona de pilina periplásmica putativa); o cualquier subgrupo de las mismas. En una realización, X es un péptido señal co-traducciona l o un péptido señal post-traducciona l. En una realización X es la secuencia señal de FlgI (*flgI sp*). En otra realización particular, X es la secuencia señal de (*pelB sp*). En otra realización, X es un péptido señal post-traducciona l. En otra realización, X se selecciona del grupo que consiste en la secuencia señal de FlgI, NadA y pelB.

En una realización, se definen las proteínas de fusión de fórmula (I) en la que m es 1. En otra realización, m es 0.

En una realización particular, se definen R₁ y n en las que (R₁)_n es 1 a 6 aminoácidos enriquecidos en aminoácidos pequeños habitualmente hidrófilos. Los aminoácidos hidrófilos incluyen ácido glutámico (E), ácido aspártico (D) y asparagina (N).

En una realización, se definen las proteínas de fusión de fórmula (I) en las que n se selecciona del grupo que consiste en 0, 1, 2 y 6. En una realización particular, R_1 y n se definen en las que $(R_1)_n$ se selecciona del grupo que consiste en D, E, ATNDDD (SEQ ID NO. 178) y MD, o cualquier subconjunto de los mismos.

En una realización particular, n se selecciona del grupo que consiste en 1, 2 y 6. En una realización particular, n es 0.

También se describen proteínas de fusión de fórmula (I) en la que A es un fragmento inmunogénico de la Proteína E, en las que la proteína E tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO. 4, SEQ ID NO. 5, SEQ ID NO. 6, SEQ ID NO. 7, SEQ ID NO. 8, SEQ ID NO. 9, SEQ ID NO. 10, SEQ ID NO. 11, SEQ ID NO. 12, SEQ ID NO. 13, SEQ ID NO. 14, SEQ ID NO. 15, SEQ ID NO. 16, SEQ ID NO. 17, SEQ ID NO. 18, SEQ ID NO. 19, SEQ ID NO. 20, SEQ ID NO. 21, SEQ ID NO. 22, SEQ ID NO. 23, SEQ ID NO. 24, SEQ ID NO. 25, SEQ ID NO. 26, SEQ ID NO. 27, SEQ ID NO. 28, SEQ ID NO. 29, SEQ ID NO. 30, SEQ ID NO. 31, SEQ ID NO. 32, SEQ ID NO. 33, SEQ ID NO. 34, SEQ ID NO. 35, SEQ ID NO. 36, SEQ ID NO. 37, SEQ ID NO. 38, SEQ ID NO. 39, SEQ ID NO. 40, SEQ ID NO. 41, SEQ ID NO. 42, SEQ ID NO. 43, SEQ ID NO. 44, SEQ ID NO. 45, SEQ ID NO. 46, SEQ ID NO. 47, SEQ ID NO. 48, SEQ ID NO. 49, SEQ ID NO. 50, SEQ ID NO. 51, SEQ ID NO. 52, SEQ ID NO. 53, SEQ ID NO. 54, SEQ ID NO. 55, SEQ ID NO. 56 y SEQ ID NO. 57; o cualquier subconjunto desde SEQ ID NO. 4 hasta SEQ ID NO. 57. También se describen proteínas de fusión de fórmula (I) en la que A es un fragmento inmunogénico de la Proteína E, en las que la proteína E es aproximadamente un 75 % a un 100 % idéntica a la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO. 4. También se describen proteínas de fusión de fórmula (I) en la que A es un fragmento inmunogénico de la Proteína E, en las que la proteína E es aproximadamente un 90 % a aproximadamente un 100 % idéntica a SEQ ID NO. 4. También se describen proteínas de fusión de fórmula (I) en la que, A es un fragmento inmunogénico de la Proteína E, en las que la proteína E es al menos un 95 % idéntica a cualquiera de SEQ ID NO. 4 - SEQ ID NO. 57. También se describen proteínas de fusión de fórmula (I) en la que, A es un fragmento inmunogénico de la Proteína E, en las que la proteína E es un 93 % a un 100 % idéntica a SEQ ID NO. 124. En una realización particular, A es un fragmento inmunogénico de la Proteína E en la que la Proteína E es SEQ ID NO. 4.

En otra realización, A es un fragmento inmunogénico de la Proteína E de *H. influenzae* seleccionada del grupo que consiste en los aminoácidos 17-160 de SEQ ID NO. 4 (SEQ ID NO. 122), los aminoácidos 18-160 de SEQ ID NO. 4 (SEQ ID NO. 123), los aminoácidos 19-160 de SEQ ID NO. 4 (SEQ ID NO. 124), los aminoácidos 20-160 de SEQ ID NO. 4 (SEQ ID NO. 125) y los aminoácidos 22-160 de SEQ ID NO. 4 (SEQ ID NO. 126). En otra realización, A es un fragmento inmunogénico de la Proteína E de *H. influenzae* seleccionada del grupo que consiste en los aminoácidos 17-160 de SEQ ID NO. 4 (SEQ ID NO. 122), los aminoácidos 18-160 de SEQ ID NO. 4 (SEQ ID NO. 123), los aminoácidos 19-160 de SEQ ID NO. 4 (SEQ ID NO. 124), los aminoácidos 20-160 de SEQ ID NO. 4 (SEQ ID NO. 125), los aminoácidos 22-160 de SEQ ID NO. 4 (SEQ ID NO. 126), los aminoácidos 23-160 de SEQ ID NO. 4 (SEQ ID NO. 179) y los aminoácidos 24-160 de SEQ ID NO. 4 (SEQ ID NO. 180). En una realización adicional, A es un fragmento inmunogénico de la Proteína E de *H. influenzae* seleccionada del grupo que consiste en los aminoácidos 17-160 de SEQ ID NO. 4 (SEQ ID NO. 122), los aminoácidos 18-160 de SEQ ID NO. 4 (SEQ ID NO. 123), los aminoácidos 20-160 de SEQ ID NO. 4 (SEQ ID NO. 125), los aminoácidos 22-160 de SEQ ID NO. 4 (SEQ ID NO. 126), los aminoácidos 23-160 de SEQ ID NO. 4 (SEQ ID NO. 179) y los aminoácidos 24-160 de SEQ ID NO. 4 (SEQ ID NO. 180). Más específicamente, en una realización, A es SEQ ID NO. 124, aminoácidos 19-160 de SEQ ID NO. 4. En una realización adicional, A es SEQ ID NO. 125, aminoácidos 20-160 de SEQ ID NO. 5. En otra realización, A es un fragmento inmunogénico de la Proteína E de *H. influenzae* seleccionada del grupo que consiste en los aminoácidos 23-160 de SEQ ID NO. 4 (SEQ ID NO. 179) y los aminoácidos 24-160 de SEQ ID NO. 4 (SEQ ID NO. 180).

Proteína E - SEQ ID NO. 4

```
MKKIILTLSL GLLTACSAQI QKAEQNDVKL APPTDVRSGY IRLVKNVNYY
IDSESIWVDN QEPQIVHFDA VVNLDKGLYV YPEPKRYARS VRQYKILNCA
NYHLTQVRTD FYDEFWGQGL RAAPKKQKKH TSLTPDRTL YNAAQIICAN
YGEAFSVDKK
```

Aminoácidos 17-160 de la Proteína E de SEQ ID NO. 4 - SEQ ID NO. 122

```
SAQI QKAEQNDVKL APPTDVRSGY IRLVKNVNYY
IDSESIWVDN QEPQIVHFDA VVNLDKGLYV YPEPKRYARS VRQYKILNCA
NYHLTQVRTD FYDEFWGQGL RAAPKKQKKH TSLTPDRTL YNAAQIICAN
YGEAFSVDKK
```

Aminoácidos 18-160 de la Proteína E de SEQ ID NO. 4 - SEQ ID NO. 123

ES 2 658 512 T3

AQI QKAEQNDVKL APPTDVRSGY IRLVKNVNYY
IDSESIWVDN QEPQIVHFDA VVNLDKGLYV YPEPKRYARS VRQYKILNCA
NYHLTQVRTD FYDEFWGQGL RAAPKKQKKH TLSLTPDTTL YNAAQIICAN
YGEAFSVDKK

Aminoácidos 19-160 de la Proteína E de SEQ ID NO. 4 - SEQ ID NO. 124

QI QKAEQNDVKL APPTDVRSGY IRLVKNVNYY
IDSESIWVDN QEPQIVHFDA VVNLDKGLYV YPEPKRYARS VRQYKILNCA
NYHLTQVRTD FYDEFWGQGL RAAPKKQKKH TLSLTPDTTL YNAAQIICAN
YGEAFSVDKK

5 Aminoácidos 20-160 de la Proteína E de SEQ ID NO. 4 - SEQ ID NO. 125

I QKAEQNDVKL APPTDVRSGY IRLVKNVNYY
IDSESIWVDN QEPQIVHFDA VVNLDKGLYV YPEPKRYARS VRQYKILNCA
NYHLTQVRTD FYDEFWGQGL RAAPKKQKKH TLSLTPDTTL YNAAQIICAN
YGEAFSVDKK

Aminoácidos 22-160 de la Proteína E de SEQ ID NO. 4 - SEQ ID NO. 126

KAEQNDVKL APPTDVRSGY IRLVKNVNYY
IDSESIWVDN QEPQIVHFDA VVNLDKGLYV YPEPKRYARS VRQYKILNCA
NYHLTQVRTD FYDEFWGQGL RAAPKKQKKH TLSLTPDTTL YNAAQIICAN
YGEAFSVDKK

Aminoácidos 23-160 de la Proteína E de SEQ ID NO. 4 - SEQ ID NO. 179

AEQNDVKL APPTDVRSGY IRLVKNVNYY
IDSESIWVDN QEPQIVHFDA VVNLDKGLYV YPEPKRYARS VRQYKILNCA
NYHLTQVRTD FYDEFWGQGL RAAPKKQKKH TLSLTPDTTL YNAAQIICAN
YGEAFSVDKK

10

Aminoácidos 24-160 de la Proteína E de SEQ ID NO. 4 - SEQ ID NO. 180

EQNDVKL APPTDVRSGY IRLVKNVNYY
IDSESIWVDN QEPQIVHFDA VVNLDKGLYV YPEPKRYARS VRQYKILNCA
NYHLTQVRTD FYDEFWGQGL RAAPKKQKKH TLSLTPDTTL YNAAQIICAN
YGEAFSVDKK

PilA de *H. influenzae* cepa 86-028NP - SEQ ID NO. 58

MKLTQQTLLK KGFTLIELMI VIAIIAILAT IAIPSYQNYT KKAHVSELLQ
ASAPYKADVE LCVYSTNETT NCTGGKNGIA ADITTAKGYV KSVTTNSGAI
TVKGDGTLAN MEYILQATGN AATGVTWTTT CKGTDASLFP ANFCGSVTQ

15

Aminoácidos 40-149 de PilA de *H. influenzae* cepa 86-028NP - SEQ ID NO. 127.

T KKAHVSELLQ
ASAPYKADVE LCVYSTNETT NCTGGKNGIA ADITTAKGYV KSVTTNSGAI
TVKGDGTLAN MEYILQATGN AATGVTWTTT CKGTDASLFP ANFCGSVTQ

En una realización, se definen las proteínas de fusión de fórmula (I) en la que Y se selecciona del grupo que consiste en GG, SG y SS. En otra realización, se definen las proteínas de fusión de fórmula (I) en la que Y es GG o SG. En una realización, Y es GG.

En una realización, se definen las proteínas de fusión de fórmula (I) en la que o es 1. En otra realización, o es 0.

5 En una realización, se definen las proteínas de fusión de fórmula (I) en la que B es un fragmento inmunogénico de PilA de *H. influenzae* cuando A es un fragmento inmunogénico de la Proteína E de *H. influenzae*. Por ejemplo, B es un fragmento inmunogénico de PilA de *H. influenzae* cepa 86-028NP. En otra realización, B es un fragmento inmunogénico de PilA en el que PilA es aproximadamente un 80 % a un 100 % idéntica a SEQ ID NO: 58. En otra
10 realización, B es un fragmento inmunogénico de PilA en el que PilA tiene un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NO. 58, SEQ ID NO. 59, SEQ ID NO. 60, SEQ ID NO. 61, SEQ ID NO. 62, SEQ ID NO. 63, SEQ ID NO. 64, SEQ ID NO. 65, SEQ ID NO. 66, SEQ ID NO. 67, SEQ ID NO. 68, SEQ ID NO. 69, SEQ ID NO. 70, SEQ ID NO. 71, SEQ ID NO. 72, SEQ ID NO. 73, SEQ ID NO. 74, SEQ ID NO. 75, SEQ ID NO. 76, SEQ ID NO. 77, SEQ ID NO. 78, SEQ ID NO. 79, SEQ ID NO. 80, SEQ ID NO. 81, SEQ ID NO. 82, SEQ ID NO. 83, SEQ ID NO. 84, SEQ ID NO. 85, SEQ ID NO. 86, SEQ ID NO. 87, SEQ ID NO. 88, SEQ ID NO. 89, SEQ ID NO. 90, SEQ ID NO. 91, SEQ ID NO. 92, SEQ ID NO. 93, SEQ ID NO. 94, SEQ ID NO. 95, SEQ ID NO. 96, SEQ ID NO. 97, SEQ ID NO. 98, SEQ ID NO. 99, SEQ ID NO. 100, SEQ ID NO. 101, SEQ ID NO. 102, SEQ ID NO. 103, SEQ ID NO. 104, SEQ ID NO. 105, SEQ ID NO. 106, SEQ ID NO. 107, SEQ ID NO. 108, SEQ ID NO. 109, SEQ ID NO. 110, SEQ ID NO. 111, SEQ ID NO. 112, SEQ ID NO. 113, SEQ ID NO. 114, SEQ ID NO. 115, SEQ ID NO. 116, SEQ ID NO. 117, SEQ ID NO. 118, SEQ ID NO. 119, SEQ ID NO. 120 y SEQ ID NO. 121; o cualquier subconjunto desde SEQ ID NO. 58
20 hasta SEQ ID NO. 121. En otra realización, B es un fragmento inmunogénico de PilA en el que PilA es al menos un 95 % idéntica a cualquiera de SEQ ID NO. 58 - SEQ ID NO. 121. En una realización particular, B es un fragmento inmunogénico de PilA de *H. influenzae* en el que PilA tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO. 58. En otra realización, B es un fragmento inmunogénico de PilA que consiste en los aminoácidos 40-149 de cualquiera de SEQ ID NO. 58 - SEQ ID NO. 121. Más específicamente, en una realización B es el fragmento de PilA como se expone en SEQ ID NO. 127. En una realización adicional, B es un fragmento inmunogénico al menos un 95 % idéntico a los aminoácidos 40-149 de cualquiera de SEQ ID NO. 58 - SEQ ID NO. 121.

En una realización particular, B es un fragmento inmunogénico de PilA como se expone en SEQ ID NO. 127 y A es un fragmento inmunogénico de la Proteína E seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NO. 122, SEQ ID NO. 124, SEQ ID NO. 125 y SEQ ID NO. 126. Más particularmente, B es el fragmento de PilA como se expone en SEQ ID NO. 127 y A es el fragmento de la Proteína E como se expone en SEQ ID NO. 124, aminoácidos 19-160 de la Proteína E de SEQ ID NO. 4. En otra realización, B es el fragmento de PilA como se expone en SEQ ID NO. 127 y A es el fragmento de la Proteína E como se expone en SEQ ID NO. 125.

En otra realización, B es el fragmento de PilA en el que PilA es al menos un 95 % idéntica a cualquiera de SEQ ID NO. 58 - SEQ ID NO. 121 y A es un fragmento inmunogénico de PE en el que PE es al menos un 95 % idéntica a cualquiera de SEQ ID NO. 4 - SEQ ID NO. 57.

En una realización, se definen las proteínas de fusión de fórmula (I) en la que p es 0. En otra realización, se definen las proteínas de fusión de fórmula (I) en la que p es 1.

En una realización, la proteína de fusión de fórmula (I) se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID NO. 138, SEQ ID NO. 140, SEQ ID NO. 142, SEQ ID NO. 144, SEQ ID NO. 146, SEQ ID NO. 148, SEQ ID NO. 150, SEQ ID NO. 182, SEQ ID NO. 184, SEQ ID NO. 186, SEQ ID NO. 188, SEQ ID NO. 190, SEQ ID NO. 192, SEQ ID NO. 194, SEQ ID NO. 196, SEQ ID NO. 198, SEQ ID NO. 200, SEQ ID NO. 202 y SEQ ID NO. 204; o cualquier subconjunto de las mismas. En otra realización, la proteína de fusión de fórmula (I) es aproximadamente un 95 % idéntica a cualquiera de SEQ ID NO. 138, SEQ ID NO. 140, SEQ ID NO. 142, SEQ ID NO. 144, SEQ ID NO. 146, SEQ ID NO. 148, SEQ ID NO. 150, SEQ ID NO. 182, SEQ ID NO. 184, SEQ ID NO. 186, SEQ ID NO. 188, SEQ ID NO. 190, SEQ ID NO. 192, SEQ ID NO. 194, SEQ ID NO. 196, SEQ ID NO. 198, SEQ ID NO. 200, SEQ ID NO. 202 o SEQ ID NO. 204.

Las proteínas de fusión de fórmula (I) son útiles como inmunógenos en sujetos tales como mamíferos, particularmente humanos. En particular, las proteínas de fusión de fórmula (I) son útiles induciendo una respuesta inmune contra *H. influenzae* en sujetos, particularmente humanos. Más específicamente, las proteínas de fusión de fórmula (I) son útiles en el tratamiento o la prevención de otitis media y/o EAPOC y/o neumonía.

La presente invención se refiere a composiciones inmunogénicas que comprenden proteínas de fusión de un fragmento inmunogénico de la Proteína E de *H. influenzae* y un fragmento inmunogénico de PilA de *H. influenzae*. La presente invención también se refiere a vacunas que comprenden dichas composiciones inmunogénicas y a los usos terapéuticos de las mismas.

55 En una realización, las composiciones inmunogénicas comprenden un fragmento inmunogénico de la Proteína E de *H. influenzae* = y un fragmento inmunogénico de Pil A. de *H. influenzae*. La proteína E puede ser SEQ ID NO. 4 o una secuencia de la proteína E al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a SEQ ID NO. 4.

- El fragmento inmunogénico de la Proteína E puede ser SEQ ID NO. 122, SEQ ID NO. 123, SEQ ID NO. 124, SEQ ID NO. 125 o SEQ ID NO. 126 o una secuencia que tiene al menos un 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % de identidad de secuencia con una cualquiera de SEQ ID NO. 122, SEQ ID NO. 123, SEQ ID NO. 124, SEQ ID NO. 125 o SEQ ID NO. 126. El fragmento inmunogénico de la Proteína E puede ser SEQ ID NO. 122, SEQ ID NO. 123, SEQ ID NO. 124, SEQ ID NO. 125, SEQ ID NO. 126, SEQ ID NO. 179 o SEQ ID NO. 180 o una secuencia que tiene al menos un 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % de identidad de secuencia con una cualquiera de SEQ ID NO. 122, SEQ ID NO. 123, SEQ ID NO. 124, SEQ ID NO. 125, SEQ ID NO. 126, SEQ ID NO. 179 o SEQ ID NO. 180. Se han descrito diferencias de aminoácidos en la Proteína E de diversas especies de *Haemophilus* cuando se comparan con la Proteína E de *Haemophilus influenzae* Rd como una cepa de referencia. Microbes & Infection (Corrección a "Identification of a novel *Haemophilus influenzae* protein important for adhesion to epithelia cells" [Microbes Infect. 10 (2008) 87-97], disponible en línea 6 de julio, 2010, "Article in Press") proporciona una secuencia para la Proteína E de *H. influenzae* cepa 772. El documento WO2002/28889 proporciona una secuencia para la Proteína E de *H. influenzae* cepa 12085.
- La Proteína E contiene una región de unión a células epiteliales (PKRYARSVRQ YKILNCANYH LTQVR, SEQ ID NO. 128) que se ha informado estar conservada entre más de 100 aislados clínicos de NTHi, *H. influenzae* encapsulada y cepas de colección de cultivos analizados (Singh y col, J. Infect. Dis. 201(3):414-9 (2010)). Singh y col. Informaron que la Proteína E estaba altamente conservada tanto en NTHi como *H. influenzae* encapsulada (96,9 % - 100 % de identidad sin el péptido señal). En una realización, el fragmento de la Proteína E comprende la región de unión de SEQ ID NO. 128 (PKRYARSVRQ YKILNCANYH LTQVR).
- PilA es una adhesina conservada expresada *in vivo*. La comparación de longitud completa de 64 secuencias de PilA de *Haemophilus influenzae* demostró aproximadamente un 80 % a un 100 % de identidad.
- En otra realización, la composición inmunogénica comprende una proteína de fusión como se define por la fórmula (I).
- En una realización, las presentes composiciones inmunogénicas pueden administrarse con otros antígenos de *H. influenzae*. Por ejemplo, la PE y PilA o la proteína de fusión de fórmula (I) pueden administrarse con la Proteína D de *H. influenzae*. La Proteína D puede ser como se describe en el documento WO91/18926. En otra realización, la composición inmunogénica puede incluir la proteína de fusión de fórmula (I) y la Proteína D de *H. influenzae*.
- En otra realización, las composiciones inmunogénicas de la invención pueden administrarse con antígenos adicionales de otras especies bacterianas que también se sabe que provocan otitis media, EAEPOC o neumonía.
- La cantidad de la composición inmunogénica que se requiere para lograr el efecto terapéutico o biológico deseado dependerá de un número de factores tales como el uso para el que se destina, el medio de administración, el receptor y el tipo y la gravedad de la afección a tratarse, y será en última instancia según la discreción del médico o veterinario que atiende. En general, una dosis típica para el tratamiento de una afección provocada completamente o en parte por *H. influenzae* en un humano, por ejemplo, puede esperarse que caiga en el intervalo de aproximadamente 0,003 mg a aproximadamente 0,090 mg. Más específicamente, una dosis típica para el tratamiento de una afección provocada completamente o en parte por *H. influenzae* en un humano puede caer en el intervalo de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 0,03 mg de la proteína de fusión. La composición inmunogénica puede contener antígenos adicionales; una dosis típica para el tratamiento de una afección provocada completamente o en parte por *H. influenzae* en un humano puede caer en el intervalo de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 0,03 mg para cada antígeno adicional. Esta dosis puede administrarse como una dosis unitaria única. También pueden administrarse varias dosis unitarias separadas. Por ejemplo, las dosis unitarias separadas pueden administrarse como dosis de cebado separadas dentro del primer año de vida o como dosis potenciadoras separadas dadas a intervalos regulares (por ejemplo, cada 1, 5 o 10 años).
- Las formulaciones que comprenden las composiciones inmunogénicas de la invención pueden adaptarse para la administración por una vía apropiada, por ejemplo, por la vía intramuscular, sublingual, transcutánea, intradérmica o intranasal. Dichas formulaciones pueden prepararse por cualquier procedimiento conocido en la técnica.
- Las composiciones inmunogénicas de la presente invención pueden comprender adicionalmente un adyuvante. Cuando el término "adyuvante" se usa en la presente memoria descriptiva, se refiere a una sustancia que se administra junto con la composición inmunogénica para potenciar la respuesta inmune del paciente al componente inmunogénico de la composición.
- Los adyuvantes adecuados incluyen una sal de aluminio tal como gel de hidróxido de aluminio o un fosfato de aluminio o alumbre, pero también puede ser una sal de calcio, magnesio, hierro o cinc, o puede ser una suspensión insoluble de tirosina acilada, o azúcares acilados, sacáridos catiónica o aniónicamente derivatizados o polifosfacenos. En una realización, la proteína de fusión, PE o PilA puede adsorberse sobre fosfato de aluminio. En otra realización, la proteína de fusión, PE o PilA puede adsorberse sobre hidróxido de aluminio. En una tercera realización, puede usarse alumbre como un adyuvante.
- Los sistemas adyuvantes adecuados que promueven una respuesta predominantemente Th1 incluyen: derivados no tóxicos de lípido A, Monofosforil lípido A (MPL) o un derivado de los mismos, particularmente monofosforil lípido A 3-

des-O-acetilado (3D-MPL) (para su preparación véase el documento GB 2220211 A); y una combinación de monofosforil lípido A, preferentemente monofosforil lípido A 3-des-O-acetilado, junto con bien una sal de aluminio (por ejemplo fosfato de aluminio o hidróxido de aluminio) o bien una emulsión de aceite en agua. En dichas combinaciones, el antígeno y el 3D-MPL se contienen en las mismas estructuras particuladas, permitiendo la administración más eficiente de señales antigénicas e inmunoestimulantes. Los estudios han demostrado que el 3D-MPL es capaz de potenciar adicionalmente la inmunogenicidad de un antígeno adsorbido en alumbre (Thoelen et al. Vaccine (1998) 16:708-14; documento EP 689454-B1).

AS01 es un Sistema Adyuvante que contiene MPL (3-O-desacil-4'-monofosforil lípido A), QS21 ((*Quillaja saponaria* Molina, fracción 21) Antigenics, Nueva York, NY, EE.UU.) y liposomas. AS01B es un Sistema Adyuvante que contiene MPL, QS21 y liposomas (50 µg MPL y 50 µg QS21). AS01E es un Sistema Adyuvante que contiene MPL, QS21 y liposomas (25 µg MPL y 25 µg QS21). En una realización, la composición inmunogénica o vacuna comprende AS01. En otra realización, la composición inmunogénica o vacuna comprende AS01B o AS01E. En una realización particular, la composición inmunogénica o vacuna comprende AS01E.

AS03 es un Sistema Adyuvante que contiene α -Tocoferol y escualeno en una emulsión aceite/agua (o/w, por el inglés). AS03_A es un Sistema Adyuvante que contiene α -Tocoferol y escualeno en una emulsión o/w (11,86 mg de tocoferol). AS03_B es un Sistema Adyuvante que contiene α -Tocoferol y escualeno en una emulsión o/w (5,93 mg de tocoferol). AS03_C es un Sistema Adyuvante que contiene α -Tocoferol y escualeno en una emulsión o/w (2,97 mg de tocoferol). En una realización, la composición inmunogénica o vacuna comprende AS03.

AS04 es un Sistema Adyuvante que contiene MPL (50 µg MPL) adsorbido en una sal de aluminio (500 µg AL³⁺). En una realización, la composición inmunogénica o vacuna comprende AS04.

Un sistema que implica el uso de QS21 y 3D-MPL se desvela en el documento WO 94/00153. Una composición en la que QS21 se inactiva con colesterol se desvela en el documento WO 96/33739. Una formulación adyuvante adicional que implica QS21, 3D-MPL y tocoferol en una emulsión de aceite en agua se describe en el documento WO 95/17210. En una realización la composición inmunogénica comprende adicionalmente una saponina, que puede ser QS21. La formulación puede comprender además una emulsión de aceite en agua y tocoferol (documento WO 95/17210). CpG sin metilar que contiene oligonucleótidos (documento WO 96/02555) y otros oligonucleótidos inmunomoduladores (documento WO 0226757 y documento WO 03507822) son también inductores preferenciales de una respuesta TH1 y también son adecuados para su uso en la presente invención.

Los adyuvantes adicionales son aquellos seleccionados del grupo de sales metálicas, emulsiones de aceite en agua, agonistas del receptor tipo Toll (en particular, agonista del receptor 2 tipo Toll, agonista del receptor 3 tipo Toll, agonista del receptor 4 tipo Toll, agonista del receptor 7 tipo Toll, agonista del receptor 8 tipo Tol y agonista del receptor 9 tipo Toll), saponinas o combinaciones de los mismos.

La presente invención proporciona un procedimiento para preparar una composición inmunogénica que comprende combinar una proteína de fusión de fórmula (I) con un adyuvante.

La presente invención proporciona además una vacuna que contiene una composición inmunogénica de la invención y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Los posibles excipientes incluyen arginina, ácido plurónico y/o polisorbato. En una realización preferida, se usa polisorbato 80 (por ejemplo, TWEEN® 20). En una realización adicional, se usa una concentración final de aproximadamente el 0,03 % a aproximadamente el 0,06 %. Específicamente, puede usarse una concentración final de aproximadamente el 0,03 %, 0,04 %, 0,05 % o 0,06 % de polisorbato 80 (p/v).

La presente invención proporciona un procedimiento para preparar una composición inmunogénica o vacuna que comprende combinar una proteína de fusión de fórmula (I) con un excipiente farmacéuticamente aceptable.

La presente invención también proporciona ácidos nucleicos que codifican las proteínas de la invención. La expresión "ácido nucleico" se refiere a una forma polimérica de nucleótidos. Los nucleótidos pueden ser ribonucleótidos, desoxirribonucleótidos o formas modificadas de ribonucleótidos o bien desoxirribonucleótidos. La expresión incluye formas sencillas y dobles de ADN. Preferentemente los ácidos nucleicos están sustancialmente libres de otros ácidos nucleicos.

La presente invención proporciona un procedimiento para producir ácidos nucleicos de la invención. Los ácidos nucleicos de la invención pueden prepararse por procedimientos conocidos por aquellos expertos en la materia. Por ejemplo, los ácidos nucleicos de la invención pueden prepararse digiriendo aminoácidos más largos o uniendo aminoácidos más cortos.

Los siguientes ejemplos se destinan a la ilustración solamente y no se destinan a limitar el ámbito de la invención de ninguna manera.

En los ejemplos, los siguientes términos tienen el significado designado:

	6xhis = seis histidinas;
	xg = fuerza centrífuga (número de gravedades)
	ATP = adenosín trifosfato;
	BCA = ácido bicinconínico;
5	BSA = albúmina de suero bovino;
	°C = grados Celsius;
	CaCl ₂ = cloruro cálcico;
	CV = volumen de la columna;
	ADN = ácido desoxirribonucleico;
10	DSC = calorimetría diferencial de barrido;
	DTT = ditioneitol;
	dNTP = desoxinucleósido trifosfato;
	EDTA = ácido etilendiaminotetraacético;
	FT = flujo a través;
15	HCl = cloruro de hidrógeno;
	His = his = histidina;
	HEPES = ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinetansulfónico;
	IMAC = cromatografía de afinidad de metal inmovilizado;
	IPTG = isopropil β-D-1-tiogalactopiranosido;
20	KCl = cloruro potásico;
	K ₂ HPO ₄ = fosfato potásico dibásico;
	KH ₂ PO ₄ = fosfato potásico monobásico;
	LDS = dodecil sulfato de litio;
	l = litro;
25	MES = ácido 2-(N-morfolino)etansulfónico;
	MgCl ₂ = cloruro magnésico;
	ml = mililitro;
	RPM = revoluciones por minuto;
	min = minuto;
30	mM = millimolar;
	μl = microlitro;
	NaCl = cloruro sódico;
	Na ₂ HPO ₄ = fosfato sódico dibásico;
	NaH ₂ PO ₄ = fosfato sódico monobásico;
35	ng = nanogramo;
	nm = nanómetro;
	O/N = durante toda la noche;
	PBS = tampón fosfato salino;
	PCR = reacción en cadena de la polimerasa;
40	SB = tampón de muestra;
	s = segundo;
	p/v = peso/volumen.

Ejemplos

Ejemplo 1: Proteínas de fusión

45	Las proteínas de fusión se produjeron con diferentes péptidos señal y secuencias conectoras de aminoácidos. Estas proteínas de fusión permitieron la secreción tanto de Proteína E como de PilA (o fragmentos de las mismas) sin restringirse a una única cepa bacteriana. La proteína de fusión se libera en el periplasma después de la retirada del péptido señal heterólogo por una peptidasa de péptido señal. La proteína de fusión purificada de las bacterias no contiene el péptido señal heterólogo. Las proteínas "purificadas" se retiran de las bacterias y carecen del péptido señal.
50	

La siguiente tabla describe las construcciones de proteínas de fusión fabricadas.

Tabla 3: Construcciones de Proteínas de Fusión que contienen PilA y Proteína E.

ID de Construcción	N-terminal -----C-Terminal												
LVL312	flgI sp	E	fragmento PilA (A.A.: 40-149 de SEQ ID NO. 58, SEQ ID NO. 127)				G G	fragmento ProtE (A.A.: 18 a 160 de SEQ ID NO. 4, SEQ ID NO.123)			GGHHHHHHH		
A.A.	1	19	21	130				133	275 276			283	
LVL291	pelB sp		fragmento ProtE (A.A.: 19 a 160 de SEQ ID NO. 4, SEQ ID NO. 124)					G G	fragmento PilA (A.A.: 40-149 de SEQ ID NO. 58, SEQ ID NO. 127)			GGHHHHHHH	
A.A.	1	22 23				164		167	276 277			284	
LVL268	pelB sp		D	fragmento ProtE (A.A.: 20 a 160 de SEQ ID NO. 4, SEQ ID NO. 125)				G G	fragmento PilA (A.A.: 40-149 de SEQ ID NO. 58, SEQ ID NO. 127)			GGHHHHHHH	
A.A.	1	22		24	164				167	276 277		284	
LVL269	nadA sp		AT ND DD	fragmento ProtE (A.A.: 22 a 160 de SEQ ID NO. 4, SEQ ID NO. 126)				G G	fragmento PilA (A.A.: 40-149 de SEQ ID NO. 58, SEQ ID NO. 127)			GGHHHHHH H	
A.A.	1	23 24-29 30					168 171		280 281			288	
LVL270	MH HH HH H	fragmento ProtE (A.A.: 17 a 160 de SEQ ID NO. 4, SEQ ID NO. 122)					G G	fragmento PilA (A.A.: 40-149 de SEQ ID NO. 58, SEQ ID NO. 127)					
A.A.	1	7	8	151				154	263				
LVL315	pelB sp		M D	fragmento ProtE (A.A.: 22 a 160 de SEQ ID NO. 4, SEQ ID NO. 126)				G G	fragmento PilA (A.A.: 40-149 de SEQ ID NO. 58, SEQ ID NO. 127)			GGHHHHHHH	
	1		22	25				163		166	275 276		283
LVL317	pelB sp		fragmento ProtE (A.A.: 19 a 160 de SEQ ID NO. 4, SEQ ID NO. 124)					G G	fragmento PilA (A.A.: 40-149 de SEQ ID NO. 58, SEQ ID NO. 127)				
A.A.	1	22 23				164		167	276				
LVL318	pelB sp		M D	fragmento ProtE (A.A.: 22 a 160 de SEQ ID NO. 4, SEQ ID NO. 126)				G G	fragmento PilA (A.A.: 40-149 de SEQ ID NO. 58, SEQ ID NO. 127)				
A.A.	1	22		25		163		166	275				
LVL702	pelB sp		fragmento ProtE (A.A.: 20 a 160 de SEQ ID NO. 4, SEQ ID NO. 125)					G G	fragmento PilA (A.A.: 40-149 de SEQ ID NO. 58, SEQ ID NO. 127)			GGHHHHHHH	
A.A.	1	22 23				163		166	275		283		
LVL736	pelB sp		fragmento ProtE (A.A.: 17 a 160 de SEQ ID NO. 4, SEQ ID NO. 122)					G G	fragmento PilA (A.A.: 40-149 de SEQ ID NO. 58, SEQ ID NO. 127)			GG HH HH HH	
A.A.	1	22 23				166		169	278			286	
LVL737	pelB sp		fragmento ProtE (A.A.: 18 a 160 de SEQ ID NO. 4, SEQ ID NO.123)					G G	fragmento PilA (A.A.: 40-149 de SEQ ID NO. 58, SEQ ID NO. 127)			GGH HHH HH	
A.A.	1	22 23				165		168	277		285		

(continuación)

LVL738	pelB sp	fragmento ProtE (A.A.: 22 a 160 de SEQ ID NO. 4, SEQ ID NO. 126)	G G	fragmento PilA (A.A.: 40-149 de SEQ ID NO. 58, SEQ ID NO. 127)	GGHHHHHH
A.A.	1	22 23	161	164	273 281
LVL739	pelB sp	fragmento ProtE (A.A.: 23 a 160 de SEQ ID NO. 4, SEQ ID NO. 179)	G G	fragmento PilA (A.A.: 40-149 de SEQ ID NO. 58, SEQ ID NO. 127)	GGHHHHHH
A.A.	1	22 23	160	163	272 280
LVL740	pelB sp	fragmento ProtE (A.A.: 24 a 160 de SEQ ID NO. 4, SEQ ID NO. 180)	G G	fragmento PilA (A.A.: 40-149 de SEQ ID NO. 58, SEQ ID NO. 127)	GGHHHHHH
A.A.	1	22 23	159	162	271 279
LVL735	pelB sp	fragmento ProtE (A.A.: 20 a 160 de SEQ ID NO. 4, SEQ ID NO. 125)	G G	fragmento PilA (A.A.: 40-149 de SEQ ID NO. 58, SEQ ID NO. 127)	
A.A.	1	22 23	163	166	275
LVL778	pelB sp	fragmento ProtE (A.A.: 17 a 160 de SEQ ID NO. 4, SEQ ID NO. 122)	G G	fragmento PilA (A.A.: 40-149 de SEQ ID NO. 58, SEQ ID NO. 127)	
A.A.	1	22 23	166	169	278
LVL779	pelB sp	fragmento ProtE (A.A.: 18 a 160 de SEQ ID NO. 4, SEQ ID NO. 123)	G G	fragmento PilA (A.A.: 40-149 de SEQ ID NO. 58, SEQ ID NO. 127)	
A.A.	1	22 23	165	168	277
LVL780	pelB sp	fragmento ProtE (A.A.: 22 a 160 de SEQ ID NO. 4, SEQ ID NO. 126)	G G	fragmento PilA (A.A.: 40-149 de SEQ ID NO. 58, SEQ ID NO. 127)	
A.A.	1	22 23	161	164	273
LVL781	pelB sp	fragmento ProtE (A.A.: 23 a 160 de SEQ ID NO. 4, SEQ ID NO. 179)	G G	fragmento PilA (A.A.: 40-149 de SEQ ID NO. 58, SEQ ID NO. 127)	
A.A.	1	22 23	160	163	272
LVL782	pelB sp	fragmento ProtE (A.A.: 24 a 160 de SEQ ID NO. 4, SEQ ID NO. 180)	G G	fragmento PilA (A.A.: 40-149 de SEQ ID NO. 58, SEQ ID NO. 127)	
A.A.	1	22 23	159	162	271

sp = péptido señal ; A.A. = aminoácido

El ADN y las secuencias de aminoácidos para cada uno de los péptidos señal y los plásmidos listados en la Tabla 3 se exponen a continuación.

5 SECUENCIAS SEÑAL:*Péptido señal pelB (ADN) - SEQ ID NO. 129:*

atgaaatacgtgctgccgacctgctgctgctgctgctcctgctgcccagccggcgatggcc

Péptido señal pelB (Aminoácido) - SEQ ID NO. 130:

MKYLLPTAAA GLLLLAAQPA MA

Péptido señal Flgl (ADN) - SEQ ID NO. 131:
atgattaaatttctctgcattaattcttctactggtcacgacggcggtcaggct

Péptido señal Flghl (Aminoácido) - SEQ ID NO. 132:
MIKFLSALIL LLVTAAQA

5 *Péptido señal NadA (ADN) - SEQ ID NO. 133:*
atgaaacactttccatcaaagtactgaccacagccatccttgccactttctgtagcggcgactggca

Péptido señal NadA (Aminoácido) - SEQ ID NO. 134:
MKHFPSKVLT TAILATFCSG ALA

SECUENCIAS DE CONSTRUCCIÓN DE PROTEÍNAS DE FUSIÓN:

10 La porción subrayada única de las secuencias de aminoácidos es de PilA de *Haemophilus influenzae* cepa 86-028NP. La porción subrayada en negrita de las secuencias de aminoácido derivó de la Proteína E de *Haemophilus influenzae* cepa 772.

L VL312 (ADN) - SEQ ID NO. 135:

atgattaaatttctctgcattaattcttctactggtcacgacggcggtcaggctgagactaaaaagcagcggtatctgaattactg
caagcgtcagcgcttataaggctgatgtggaattatgtgtatatagcacaatgaaacaacaaactgtacgggtggaaaaaatg
gtattgcagcagatataaccacagcaaaaggctatgtaaatacgtgacaacaagcaacggtgcaataacagtaaaaggggat
ggcacattggcaaatatggaatatatttgcaagctacaggtatgtgcaacaggtgtaactggacaacaactgcaaaggaac
ggatgcctcttatttccagcaaatatttgcggaagtgtcacacaaggcggtgcgcagattcagaaggctgaacaaaatgatgtgaa
gctggcaccgcccactgatgtacgaagcggatatatacgtttggtaaagaatgtgaattattacatcgatagtgatcgatctgggtg
gataaccaagagccacaaattgtacattttgatgcagtggtgaatttagataagggattgtatgtttatcctgagcctaaacgttatgca
cgttctgttcgtcagtataagatttgaattgtgcaaattatcatttaactcaaglacgaactgatttctatgatgaattttggggacagggt
ttgcgggcagcacctaaaaagcaaaagaaacatacggttaagttaacacctgatacaacgctttataatgctgctcagattatttgtg
cgaactatggtgaagcattttcagttgataaaaaaggcggtccaccaccaccaccactaa

15 *LVL312 (proteína): (flgI sp)(E)(PilA aa 40-149)(GG)(ProtE aa 18-160)(GGHHHHHH) - SEQ ID NO. 136 (Ejemplo comparativo)*

MIKFLSALIL LLVTAAQAE TKKAAVSELL QASAPYKADV ELCVYSTNET
TNCTGGKNGI AADITTAKGY VKSVTTSNGA ITVKGDGTLA NMEYILQATG
NAATGVTWTT TCKGTDASLF PANFCGSVTQ GGAQIQKAEQ NDVKLAPPTD
VRSGYIRLVK NVNYYIDSES IWVDNQEPQI VHFDAVVNLD KGLYVYPEPK
RYARSVROYK ILNCANYHLT QVRTDFYDEF WGOGLRAAPK KOKKHTLSLT
PDTTLYNAAQ IICANYGEAF SVDKKGGHHH HHH

LVL291 (ADN) - SEQ ID NO. 137:

atgaaatacctgctgccgaccgctgctgctggtctgctgctcctcgctgcccagccggcgatggcccagattcagaaggctgaaca
aatgatgtgaagctggcaccgcccactgatgtacgaagcggatatatacgtttggtaaagaatgtgaattattacatcgatagta
atcgatctgggtggataaccaagagccacaaattgtacattttgatgcagtggtgaatttagataagggattgtatgtttatcctgagcc
taaacgttatgcacgttctgttcgtcagtataagatctgaattgtgcaaattatcatttaactcaagtacgaactgatttctatgatgaattt
tggggacaggggttgcgggcagcacctaaaaagcaaaagaaacatacgtaagttaacacctgatacaacgctttataatgctgc
tcagattatttgcgaactatggtgaagcatttcagttgataaaaaaggcggcactaaaaaagcagcggatctgaattactgcaa
gcgtcagcgccttataaggctgatgtggaattatgtgtatatagcacaatgaaacaacaaactgtacgggtggaaaaaatggtatt
gcagcagatataaccacagcaaaaaggctatgtaaaatcagtgacaacaagcaacggtgcaataacagtaaaaggggatggc
acattggcaaatatggaatatatttgcagctacaggaatgctgcaacaggtgtaacttggaacaacactgcaaaggaacgga
tgctctttatttcagcaaaattttgcggaagtgtcacacaaggcggccaccaccaccaccactaa

LVL291 (Proteína)(*pelB* sp)(*ProtE* aa 19-160)(GG)(*PilA* aa40-149)(GGHHHHHH) - SEQ ID NO. 138

MKYLPTAA GLLLLAAQPA MAQIQKAEQN DVKLAPPTDV RSGYIRLVKN
VNYYIDSESI WVDNQEPQIV HFDVAVNLDK GLYVYPEPKR YARSVROYKI
LNCANYHLTQ VRTDFYDEFW GQGLRAAPKK OKKHTLSLTP DTTLYNAAQI
ICANYGEAFS VDKKGGTKKA AVSELLQASA PYKADVELCV YSTNETTNCT
GGKNGIAADI TTAKGYVKS VTSNGAITVK GDGTLANMEY ILQATGNAAT
GVTWTTTCKG TDASLFPANF CGSVTQGGHH HHHH

5 LVL268 (ADN) - SEQ ID NO. 139:

atgaaatacctgctgccgaccgctgctgctggtctgctgctcctcgctgcccagccggcgatggccgatattcagaaggctgaaca
aatgatgtgaagctggcaccgcccactgatgtacgaagcggatatatacgtttggtaaagaatgtgaattattacatcgatagta
atcgatctgggtggataaccaagagccacaaattgtacattttgatgcagtggtgaatttagataagggattgtatgtttatcctgagcc
taaacgttatgcacgttctgttcgtcagtataagatctgaattgtgcaaattatcatttaactcaagtacgaactgatttctatgatgaattt
tggggacaggggttgcgggcagcacctaaaaagcaaaagaaacatacgtaagttaacacctgatacaacgctttataatgctgc
tcagattatttgcgaactatggtgaagcatttcagttgataaaaaaggcggcactaaaaaagcagcggatctgaattactgcaa
gcgtcagcgccttataaggctgatgtggaattatgtgtatatagcacaatgaaacaacaaactgtacgggtggaaaaaatggtatt
gcagcagatataaccacagcaaaaaggctatgtaaaatcagtgacaacaagcaacggtgcaataacagtaaaaggggatggc
acattggcaaatatggaatatatttgcagctacaggaatgctgcaacaggtgtaacttggaacaacactgcaaaggaacgga
tgctctttatttcagcaaaattttgcggaagtgtcacacaaggcggccaccaccaccaccac

LVL268 (proteína): (*pelB* sp)(*D*)(*ProtE* aa 20-160)(GG)(*PilA* aa40-149)(GGHHHHHH) - SEQ ID NO. 140:

MKYLPTAA GLLLLAAQPA MADIQKAEQN DVKLAPPTDV RSGYIRLVKN
VNYYIDSESI WVDNQEPQIV HFDVAVNLDK GLYVYPEPKR YARSVROYKI
LNCANYHLTQ VRTDFYDEFW GQGLRAAPKK OKKHTLSLTP DTTLYNAAQI
ICANYGEAFS VDKKGGTKKA AVSELLQASA PYKADVELCV YSTNETTNCT
GGKNGIAADI TTAKGYVKS VTSNGAITVK GDGTLANMEY ILQATGNAAT
GVTWTTTCKG TDASLFPANF CGSVTQGGHH HHHH

LVL269 (ADN) - SEQ ID NO. 141:

atgaaacacattccatccaaagtactgaccacagccatccttgccactttctgtagcggcgactggcagccacaaacgacgacg
ataaggctgaacaaaatgatgtgaagctggcaccgcccactgatgtacgaagcggatatatacgtttggtaaagaatgtgaattatt
acatcgatagtgatcgatctgggtggataaccaagagccacaaattgtacattttgatgcagtggtgaatttagataagggattgtat
gtttatcctgagcctaaacgttatgcacgttctgttcgtcagtataagatcctgaattgtgcaaattatcatttaactcaagtacgaactgat
ttctatgatgaattttggggacaggggttgcgggcagcacctaaaaagcaaaagaaacatacgttaagtttaacacctgatacaac
gctttataatgctgctcagattatttgcgaactatggtgaagcattttcagttgataaaaaaggcggcactaaaaaagcagcggtat
ctgaattactgcaagcgtcagcgccttataaggctgatgtggaattatgtgtatatagcacaatgaaacaacaaactgtacgggtg
gaaaaaatggtattgcagcagatataaccacagcaaaaggctatgtaaaatcagtgacaacaagcaacggtgcaataacagta
aaaggggatggcacattggcaaatatggaatatatttgcgaagctacaggtaatgctgcaacaggtgaactggacaacaacttg
caaaggaacggatgcctctttattccagcaaatatttgcggaagtgtcacacaaggcggccaccaccaccaccactaa

LVL269 (proteína): (nadA sp)(ATNDDD)(ProtE aa 22-160)(GG)(PilA aa 40-149)(GGHHHHHH) - SEQ ID NO.142

MHHHHHSAQ IQKAEQNDVK LAPPTDVRSG YIRLVKNVNY YIDSESIWVD
NOEPOIVHFD AVVNLDKGLY VYPEPKRYAR SVROYKILNC ANYHLTQVRT
DFYDEFWGQG LRAAPKKQKK HTLSLTPDPTT LYNAAQIICA NYGEAFSVDK
KGGTKKAAYS ELLQASAPYK ADVELCVYST NETTNCTGGK NGIAADITTA
KGYVKSVTTS NGAITVKGDG TLANMEYILQ ATGNAATGVT WTTTCKGTDA
SLFPANFCGS VTQ

5

LVL270 (ADN) - SEQ ID NO. 143:

atgaaatacctgctgccgaccgctgctgtggtctgctgctcctgctgccagccggcgatggccatggataaggctgaacaaaa
tgatgtgaagctggcaccgcccactgatgtacgaagcggatatatacgtttggtaaagaatgtgaattattacatcgatagtgatcg
atctgggtggataaccaagagccacaaattgtacattttgatgcagtggtgaatttagataagggattgtatgtttatcctgagcctaaa
cgttatgcacgttctgttcgtcagtataagatcctgaattgtgcaaattatcatttaactcaagtacgaactgatttctatgatgaattttggg
gacaggggttgcgggcagcacctaaaaagcaaaagaaacatacgttaagtttaacacctgatacaacgctttataatgctgctcag
attatttgcgaactatggtgaagcattttcagttgataaaaaaggcggcactaaaaaagcagcggtatctgaattactgcaagcgt
cagcgccttataaggctgatgtggaattatgtgtatatagcacaatgaaacaacaaactgtacgggtggaaaaatggtattgca
gcagatataaccacagcaaaaggctatgtaaaatcagtgacaacaagcaacggtgcaataacagtaaaaggggatggcacat
tggcaaatatggaatatatttgcgaagctacaggtaatgctgcaacaggtgtaactggacaacaactgcaaaggaacggatgcc
tctttattccagcaaatatttgcggaagtgtcacacaaggcggccaccaccaccaccactaa

LVL270 (proteína): (MHHHHHH)(ProtE aa 17-160)(GG)(PilA aa40-149) - SEQ ID NO. 144:

MHHHHHSAQ IQKAEQNDVK LAPPTDVRSG YIRLVKNVNY YIDSESIWVD
NOEPOIVHFD AVVNLDKGLY VYPEPKRYAR SVROYKILNC ANYHLTQVRT
DFYDEFWGQG LRAAPKKQKK HTLSLTPDPTT LYNAAQIICA NYGEAFSVDK
KGGTKKAAYS ELLQASAPYK ADVELCVYST NETTNCTGGK NGIAADITTA
KGYVKSVTTS NGAITVKGDG TLANMEYILQ ATGNAATGVT WTTTCKGTDA
SLFPANFCGS VTQ

10

L VL315 (ADN) - SEQ ID NO. 145:

atgaaatacctgctgccgaccgctgctgctggtctgctgctcctcgctgccagccggcgatggccatggataaggctgaacaaaa
tgatgtgaagctggcaccgcccactgatgtacgaagcggatatatacgtttggttaaagaatgtgaattattacatcgatagtgatcg
atctgggtggataaccaagagccacaaaattgtacattttgatgcagtggtgaatttagataagggattgtatgtttatcctgagcctaaa
cgttatgcacgttctgttcgctcagtataagatcttgaattgtgcaaattatcatttaactcaagtacgaactgatttctatgatgaatttggg
gacaggggttgcgggcagcacctaaaaagcaaaagaaacatacgttaagttaacacctgatacaacgctttataatgctgctcag
attattgtgcgaactatggtgaagcattttcagttgataaaaaaggcggcactaaaaaagcagcgggtatctgaattactgcaagcgt
cagcgccttataaggctgatgtggaattatgtgtatatagcacaatgaaacaacaaactgtacgggtggaaaaaatggtattgca
gcagatataaccacagcaaaaggctatgtaaaatcagtgacaacaagcaacggtgcaataacagtaaaaggggatggcacat
tggcaaatatggaatatattttgcaagctacaggaatgctgcaacaggtgtaacttggaacaacaacttgcaaggaacggatgcc
tctttattccagcaaattttgcggaagtgtcacacaaggcggccaccaccaccaccactaa

LVL315 (proteína): (pelB sp)(MD)(ProtE aa 22-160)(GG)(PilA aa40-149)(GGHHHHHH) - SEQ ID NO. 146:

MKYLLPTAAA GLLLLAAQPA MAMDKAEQND VKLAPPTDVR SGYIRLVKNV
NYIYIDSESIW VDNQEPQIVH FDAVVNLDKG LYVYPEPKRY ARSVROYKIL
NCANYHLTQV RTDFYDEFWG OGLRAAPKKQ KKHTLSLTPD TTLYNAAQII
CANYGEAFSV DKKGGTKKAA VSELLQASAP YKADVELCVY STNETTNCTG
GKNGIAADIT TAKGYVKSVT TSNGAITVKG DGTLANMEYI LQATGNAATG
VTWTTTCKGT DASLFPANFC GSVTQGGHHH HHH

5

LVL317 (ADN) - SEQ ID NO. 147:

atgaaatacctgctgccgaccgctgctgctggtctgctgctcctcgctgccagccggcgatggcccagattcagaaggctgaaca
aaatgatgtgaagctggcaccgcccactgatgtacgaagcggatatatacgtttggttaaagaatgtgaattattacatcgatagtg
atcgatctgggtggataaccaagagccacaaaattgtacattttgatgcagtggtgaatttagataagggattgtatgtttatcctgagcc
taaacgttatgcacgttctgttcgctcagtataagatcttgaattgtgcaaattatcatttaactcaagtacgaactgatttctatgatgaatt
tggggacaggggttgcgggcagcacctaaaaagcaaaagaaacatacgttaagttaacacctgatacaacgctttataatgctgc
tcagattattgtgcgaactatggtgaagcattttcagttgataaaaaaggcggcactaaaaaagcagcgggtatctgaattactgcaa
gcgtcagcgccttataaggctgatgtggaattatgtgtatatagcacaatgaaacaacaaactgtacgggtggaaaaaatggtatt
gcagcagatataaccacagcaaaaggctatgtaaaatcagtgacaacaagcaacggtgcaataacagtaaaaggggatggc
acattggcaaatatggaatatattttgcaagctacaggaatgctgcaacaggtgtaacttggaacaacaacttgcaaggaacgga
tgccctttatttccagcaaattttgcggaagtgtcacacaataa

LVL317 (proteína): (pelB sp)(ProtE aa 19-160)(GG)(PilA aa40-149) - SEQ ID NO. 148:

MKYLLPTAAA GLLLLAAQPA MAQIQKAEQN DVKLAPPTDV RSGYIRLVKN
VNYIYIDSESI WVDNQEPQIV HFDVVNLDK GLYVYPEPKR YARSVROYKI
LNCANYHLTQ VRTDFYDEFW GQGLRAAPKK QKKHTLSLTP DTTLYNAAQI
ICANYGEAFS VDKKGGTKKA AVSELLQASA PYKADVELCV YSTNETTNCT
GGKNGIAADI TTAKGYVKS SVTTSNGAITVK GDGTLANMEY ILQATGNAAT
GVTWTTTCKG TDASLFPANF CGSVTQ

10

LVL318 (ADN) - SEQ ID NO. 149:

atgaaatacctgctgccgaccgctgctgctggtctgctgctcctcgctgcccagccggcgatggccatggataaggctgaacaaaa
tgatgtgaagctggcaccgccgactgatgtacgaagcggatatatacgtttggtaaagaatgtgaattattacatcgatagtgaaatcg
atctgggtggataaccaagagccacaaattgtacattttgatgcagtggtgaatttagataagggattgtatgtttatcctgagcctaaa
cgttatgcacgttctgttcgtcagtataagatcttgaattgtgcaaattatcatttaactcaagtacgaactgatttctatgatgaattttggg
gacaggggttgcgggcagcacctaaaaagcaaaagaaacatacgttaagttaacacctgatacaacgctttataatgctgctcag
attatttgcgaactatggtgaagcattttcagttgataaaaaaggcggcactaaaaaagcagcgggtatctgaattactgcaagcgt
cagcgcttataaggctgatgtggaattatgtgtatatagcacaatgaaacaacaaactgtacgggtggaaaaaatggtattgca
gcagatataaccacagcaaaaaggctatgtaaaatcagtgacaacaagcaacgggtgcaataacagtaaaaggggatggcacat
tggcaaatatggaatatattttgcaagctacaggtaatgctgcaacaggtgtaacttggaacaacaactgcaaaaggaacgggatgcc
tctttattccagcaaattttgcggaagtgtcacacaataa

LVL318 (proteína): (pelB sp)(MD)(ProtE aa 22-160)(GG)(PilA aa40-149) - SEQ ID NO. 150:

MKYLLPTAAA GLLLLLAAQPA MAMDKAEQND VKLAPPTDVR SGYIRLVKNV
NYIDSESIW VDNQEPQIVH FDAVVNLDKG LYVYPEPKRY ARSVROYKIL
NCANYHLTOV RTDFYDEFWG OGLRAAPKKQ KKHTLSLTPD TTYNAAQII
CANYGEAFSV DKGGTKKAA VSELLQASAP YKADVELCVY STNETTNCTG
GKNGIAADIT TAKGYVKSVT TSNGAITVKG DGTLANMEYI LQATGNAATG
VTWTTTCKGT DASLFPANFC GSVTQ

5 LVL702 (ADN) - SEQ ID NO. 181:

atgaaatacctgctgccgaccgctgctgctggtctgctgctcctcgctgcccagccggcgatggccattcagaaggctgaacaaaa
tgatgtgaagctggcaccgccgactgatgtacgaagcggatatatacgtttggtaaagaatgtgaattattacatcgatagtgaaatcg
atctgggtggataaccaagagccacaaattgtacattttgatgcagtggtgaatttagataagggattgtatgtttatcctgagcctaaa
cgttatgcacgttctgttcgtcagtataagatcttgaattgtgcaaattatcatttaactcaagtacgaactgatttctatgatgaattttggg
gacaggggttgcgggcagcacctaaaaagcaaaagaaacatacgttaagttaacacctgatacaacgctttataatgctgctcag
attatttgcgaactatggtgaagcattttcagttgataaaaaaggcggcactaaaaaagcagcgggtatctgaattactgcaagcgt
cagcgcttataaggctgatgtggaattatgtgtatatagcacaatgaaacaacaaactgtacgggtggaaaaaatggtattgca
gcagatataaccacagcaaaaaggctatgtaaaatcagtgacaacaagcaacgggtgcaataacagtaaaaggggatggcacat
tggcaaatatggaatatattttgcaagctacaggtaatgctgcaacaggtgtaacttggaacaacaactgcaaaaggaacgggatgcc
tctttattccagcaaattttgcggaagtgtcacacaaggcggccaccaccaccaccac

LVL702 (proteína): (pelB sp)(ProtE aa 20-160)(GG)(PilA aa40-149)(GGHHHHH) - SEQ ID NO. 182:

MKYLLPTAAA GLLLLLAAQPA MAIQKAEQND VKLAPPTDVR SGYIRLVKNV
NYIDSESIW VDNQEPQIVH FDAVVNLDKG LYVYPEPKRY ARSVROYKIL
NCANYHLTOV RTDFYDEFWG OGLRAAPKKQ KKHTLSLTPD TTYNAAQII
CANYGEAFSV DKGGTKKAA VSELLQASAP YKADVELCVY STNETTNCTG
GKNGIAADIT TAKGYVKSVT TSNGAITVKG DGTLANMEYI LQATGNAATG
VTWTTTCKGT DASLFPANFC GSVTQGGHHH HHH

LVL736 (ADN) - SEQ ID NO. 183:

atgaaatacctgctgccgaccgctgctgctggtctgctgctcctgctgccagccggcgatggccagcgcagattcagaaggc
tgaacaaaatgatgtgaagctggcaccgccgactgatgtacgaagcggatatatacgtttggtaaagaatgtgaattattacatcga
tagtgaatcgatctgggtggataaccaagagccacaaattgtacattttgatgcagtggtgaatttagataagggattgtatgtttatcct
gagcctaaacgttatgcacgttctgttcgtcagtataagatcttgaattgtgcaaattatcatttaactcaagtacgaactgatttctatgat
gaattttggggacaggggttgcgggcagcacctaaaaagcaaaagaaacatacgttaagtttaacacctgatacaacgctttataa
tgctgctcagattatttgcgaactatggtgaagcattttcagttgataaaaaaggcggcactaaaaaagcagcggatctgaatta
ctgaagcgtcagcgccttataaggctgatgtggaattatgtgtatatagcacaatgaaacaacaaactgtacgggtggaaaaa
atggtattgcagcagatataaccacagcaaaaggctatgtaaaatcagtgaacaagcaacggtgcaataacagtaaaaggg
gatggcacattggcaaatatggaatatatttgaagctacaggtaatgtgcaacaggtgtaactggacaacaactgcaaagg
aacggatgcctcttatttccagcaaattttgcggaagtgtcacacaaggcggccaccaccaccaccaccac

LVL736 (proteína): (pelB sp)(ProtE aa 17-160)(GG)(PilA aa40-149)(GGHHHHHH) - SEQ ID NO. 184:

MKYLLPTAAA GLLLLAAQPA MASAOIQKAE QNDVKLAPPT DVRSGYIRLV
KNVNYIDSE SIWVDNQEPQ IVHFDVAVNL DKGLYVYPEP KRYARSVROY
KILNCANYHL TQVRTDFYDE FWQGLRAAP KKQKKHTLSL TPDITLYNAA
QIICANYGEA FSVDKKGGTK KAAVSELLQA SAPYKADVEL CVYSTNETTN
CTGGKNGIAA DITTAKGYVK SVTTSNGAIT VKGDGTLANM EYILQATGNA
ATGVTWTTTC KGTDASLFPA NFCGSVTQGG HHHHHH

5 LVL737 (ADN) - SEQ ID NO. 185:

atgaaatacctgctgccgaccgctgctgctggtctgctgctcctgctgccagccggcgatggccgcccagattcagaaggctga
acaaaatgatgtgaagctggcaccgccgactgatgtacgaagcggatatatacgtttggtaaagaatgtgaattattacatcga
tgaatcgatctgggtggataaccaagagccacaaattgtacattttgatgcagtggtgaatttagataagggattgtatgtttatcctga
gcctaaacgttatgcacgttctgttcgtcagtataagatcttgaattgtgcaaattatcatttaactcaagtacgaactgatttctatgatga
attttggggacaggggttgcgggcagcacctaaaaagcaaaagaaacatacgttaagtttaacacctgatacaacgctttataatgc
tgctcagattatttgcgaactatggtgaagcattttcagttgataaaaaaggcggcactaaaaaagcagcggatctgaattactg
caagcgtcagcgccttataaggctgatgtggaattatgtgtatatagcacaatgaaacaacaaactgtacgggtggaaaaaatg
gtattgcagcagatataaccacagcaaaaggctatgtaaaatcagtgaacaagcaacggtgcaataacagtaaaaggggat
ggcacattggcaaatatggaatatatttgaagctacaggtaatgtgcaacaggtgtaactggacaacaactgcaaaggaac
ggatgcctcttatttccagcaaattttgcggaagtgtcacacaaggcggccaccaccaccaccaccac

LVL737 (proteína): (pelB sp)(ProtE aa 18-160)(GG)(PilA aa40-149)(GGHHHHHH) - SEQ ID NO. 186:

MKYLLPTAAA GLLLLAAQPA MAAOIQKAEQ NDVKLAPPTD VRSGYIRLVK
NVNYIDSES IWVDNQEPQI VHFDVAVNLD KGLYVYPEPK RYARSVROYK
ILNCANYHLT QVRTDFYDEF WQGLRAAPK KQKKHTLSLT PDDITLYNAAQ
IICANYGEAF SVDKKGGTKK AAVSELLQAS APYKADVELC VYSTNETTNC
TGGKNGIAAD ITTAKGYVKS VTTTSNGAITV KGDGTLANME YILQATGNAA
TGVTWTTTCK GTDASLFPAN FCGSVTQGGH HHHHHH

LVL738 (ADN) - SEQ ID NO. 187:

atgaaatacctgctgccgaccgctgctgctggtctgctgctcctcgctgcccagccggcgatggccaaggctgaacaaaatgatgt
gaagctggcaccgcccactgatgtacgaagcggatatatacgtttggtaaagaatgtgaattattacatcgatagtgatcgatctg
ggtggataaccaagagccacaaaattgtacattttgatgcagtggtgaatttagataagggattgtatgtttatcctgagcctaacgcta
tgcacgttctgtcgtcagtataagatcttgaattgtgcaaattatcatttaactcaagtacgaactgatttctatgatgaattttggggaca
gggtttgcgggcagcacctaaaaagcaaaagaaacatacgttaagttaacacctgatacaacgctttataatgctgctcagattatt
tgtgcgaactatggtgaagcattttcagttgataaaaaaggcggcactaaaaaagcagcgggtatctgaattactgcaagcgtcagc
gccttataaggctgatgtggaattatgtgtatatagcacaatgaacaacaaactgtacgggtggaaaaaatggtattgcagcag
atataaccacagcaaaaaggctatgtaaaatcagtgacaacaagcaacgggtgcaataacagtaaaaggggatggcacattggca
aatatggaatatattttgcaagctacaggtaatgctgcaacaggtgtaacttggaacaacaactgcaaaggaacgggatgcctctttatt
tccagcaaattttgcggaagtgtcacacaaggcggccaccaccaccaccac

LVL738 (proteína): (pelB sp)(ProtE aa 22-160)(GG)(PilA aa40-149)(GGHHHHHH) - SEQ ID NO. 188:

MKYLLPTAAA GLLLLLAAQPA MAKAEQNDVK LAPPTDVRSG YIRLVKNVNY
YIDSESIWVD NOEPQIVHFD AVVNLDKGLY VYPEPKRYAR SVROYKILNC
ANYHLTQVRT DFYDEFWGOG LRAAPKKOKK HTLSLTPDPT LYNAAQIICA
NYGEAFSVDK KGGTKKAAS ELLQASAPYK ADVELCVYST NETTNCCTGGK
NGIAADITTA KGYVKSVTTS NGAITVKGDG TLANMEYILQ ATGNAATGVT
WTTTCKGTDA SLFPANFCGS VTQGGHHHHH H

5 LVL739 (ADN) - SEQ ID NO. 189:

atgaaatacctgctgccgaccgctgctgctggtctgctgctcctcgctgcccagccggcgatggccgctgaacaaaatgatgtgaa
gctggcaccgcccactgatgtacgaagcggatatatacgtttggtaaagaatgtgaattattacatcgatagtgatcgatctgggtg
gataaccaagagccacaaaattgtacattttgatgcagtggtgaatttagataagggattgtatgtttatcctgagcctaacgcttatgca
cgttctgttcgtcagtataagatcttgaattgtgcaaattatcatttaactcaagtacgaactgatttctatgatgaattttggggacaggg
ttgcgggcagcacctaaaaagcaaaagaaacatacgttaagttaacacctgatacaacgctttataatgctgctcagattattgtg
cgaactatggtgaagcattttcagttgataaaaaaggcggcactaaaaaagcagcgggtatctgaattactgcaagcgtcagcgcct
tataaggctgatgtggaattatgtgtatatagcacaatgaacaacaaactgtacgggtggaaaaaatggtattgcagcagatat
aaccacagcaaaaaggctatgtaaaatcagtgacaacaagcaacgggtgcaataacagtaaaaggggatggcacattggcaaat
atggaatatattttgcaagctacaggtaatgctgcaacaggtgtaacttggaacaacaactgcaaaggaacgggatgcctctttattcc
agcaaattttgcggaagtgtcacacaaggcggccaccaccaccaccac

LVL739 (proteína): (pelB sp)(ProtE aa 23-160)(GG)(PilA aa40-149)(GGHHHHHH) - SEQ ID NO. 190:

MKYLLPTAAA GLLLLLAAQPA MAAEQNDVKL APPTDVRSGY IRLVKNVNY
IDSESIWVDN QEPQIVHFDA VVNLDKGLYV YPEPKRYARS VRQYKILNCA
NYHLTQVRTD FYDEFWQOGL RAAPKKQKKH TSLTPDPTL YNAAQIICAN
YGEAFSVDKK GGTKKAASVSE LLQASAPYKA DVELCVYSTN ETTNCCTGGKN
GIAADITTAK GYVKSVTTSN GAITVKGDGT LANMEYILQA TGNAATGVTW
TTTCKGTDAS LFPANFCGSV TQGGHHHHHH

LVL740 (ADN) - SEQ ID NO. 191:

atgaaatacctgctgccgaccgctgctgctggtctgctgctcctcgctgccagccggcgatggccgaacaaaatgatgtgaagct
ggcaccgcccactgatgtacgaagcggatatatacgtttggttaaagaatgtgaattattacatcgatagtgatcgatctgggtggat
aaccaagagccacaaaattgtacattttgatgcagtggtgaatttagataagggattgtatgtttatcctgagcctaaacgttatgcacgt
tctgttcgtcagtataagatcttgaattgtgcaaattatcatttaactcaagtacgaactgatttctatgatgaattttggggacagggttg
cgggcagcacctaaaaagcaaaagaaacatacgttaagttaacacctgatacaacgctttataatgctgctcagattttgtgcg
aactatggtgaagcattttcagttgataaaaaaggcggcactaaaaagcagcggatctgaattactgcaagcgtcagcgccttat
aaggctgatgtggaattatgtgtatatagcacaatgaacaacaaactgtacgggtggaaaaaatggtattgcagcagatataac
cacagcaaaaggctatgtaaaatcagtgacaacaagcaacggtgcaataacagtaaaaggggatggcacattggcaaatatg
gaatatatttgcagctacaggaatgtgcaacaggtgtaacttgacaacaactgcaaaggaacggatgcctctttattccag
caatttttgcggaagtgtcacacaaggcggccaccaccaccaccac

LVL740 (proteína): (pelB sp)(ProtE aa 24-160)(GG)(PilA aa40-149)(GGHHHHH) - SEQ ID NO. 192:

MKYLLPTAAA GLLLLAAQPA MAEQNDVKLA PPTDVRSGYI RLVKNVNYII
DSESIWVDNQ EPQIVHFDAV VNLDKGLYVY PEPKRYARSV RQYKILNCAN
YHLTQVRTDF YDEFWQGLR AAPKKQKKHT LSLTPDTTLY NAAQIICANY
GEAFSVDKKG GTKKAAVSEL LQASAPYKAD VELCVYSTNE TTNCTGGKNG
IAADITTAKG YVKSVTTSNG AITVKGDGTL ANMEYILQAT GNAATGVTWT
TTCKGTDASL FPFANFCGSVT QGGHHHHHH

5 LVL735 (ADN) - SEQ ID NO. 193:

atgaaatacctgctgccgaccgctgctgctggtctgctgctcctcgctgccagccggcgatggccattcagaaggctgaacaaaa
tgatgtgaagctggcaccgcccactgatgtacgaagcggatatatacgtttggttaaagaatgtgaattattacatcgatagtgatcg
atctgggtggataaccaagagccacaaaattgtacattttgatgcagtggtgaatttagataagggattgtatgtttatcctgagcctaaa
cgttatgcacgttctgttcgtcagtataagatcttgaattgtgcaaattatcatttaactcaagtacgaactgatttctatgatgaattttggg
gacaggggttgcgggcagcacctaaaaagcaaaagaaacatacgttaagttaacacctgatacaacgctttataatgctgctcag
attatttgcgaactatggtgaagcattttcagttgataaaaaaggcggcactaaaaagcagcggatctgaattactgcaagcgt
cagcgccttataaggctgatgtggaattatgtgtatatagcacaatgaacaacaaactgtacgggtggaaaaaatggtattgca
gcagatataaccacagcaaaaggctatgtaaaatcagtgacaacaagcaacggtgcaataacagtaaaaggggatggcacatt
ggcaaatatggaatatatttgcagctacaggaatgtgcaacaggtgtaacttgacaacaactgcaaaggaacggatgcct
ctttattccagcaaattttgcggaagtgtcacaaa

LVL735 (proteína): (pelB sp)(ProtE aa 20-160)(GG)(PilA aa40-149) - SEQ ID NO. 194:

MKYLLPTAAA GLLLLAAQPA MAIQKAEQND VKLAPPTDVR SGYIRLVKNV
NYIIDSESIW VDNQEPQIVH FDAVVNLDKG LYVYPEPKRY ARSVRQYKIL
NCANYHLTQV RTDFYDEFWQ OGLRAAPKKQ KKHTLSLTPD TTLYNAAQII
CANYGEAFSV DKKGGTKKAA VSELLQASAP YKADVELCVY STNETTNCTG
GKNGIAADIT TAKGYVKSVT TSNGAITVKG DGTLANMEYI LQATGNAATG
VTWTTTCKGT DASLFPANFC GSVTQ

LVL778 (ADN) - SEQ ID NO. 195:

atgaaatacctgctgccgaccgctgctgctggtctgctgctcctcgctgcccagccggcgatggccagcgcccagattcagaaggc
tgaacaaaatgatgtgaagctggcaccgcccactgatgtacgaagcggatatatacgtttgtaaagaatgtgaattattacatcga
tagtgaatcgatctgggtggataaccaagagccacaaattgtacattttgatgcagtggtgaattagataagggattgtatgtttatcct
gagcctaaacgttatgcacgttctgttcgctcagtataagatcttgaattgtgcaaattatcatttaactcaagtacgaactgatttctatgat
gaattttggggacagggtttgcgggcagcacctaaaaagcaaaagaaacatacgttaagtttaacacctgatacaacgctttataat
gctgctcagattatttgcgaactatggtgaagcattttcagttgataaaaaaggcggcactaaaaaagcagcggatctgaattac
tgcaagcgtcagcgcttataaggctgatgtggaattatgtgtatatagcacaatgaacaacaaactgtacgggtggaaaaaat
ggtattgcagcagatataaccacagcaaaaggctatgtaaaatcagtgacaacaagcaacggtgcaataacagtaaaagggg
atggcacattggcaaatatggaatatatttgaagctacaggaatgctgcaacaggtgtaacttggaacaacttgcaagga
acggatgcctctttttccagcaaattttgcggaagtgtcacaca

LVL778 (proteína): (pelB sp)(ProtE aa 17-160)(GG)(PilA aa40-149) - SEQ ID NO. 196:

MKYLLPTAAA GLLLLAAQPA MAAQIQKAE QNDVKLAPPT DVRSGYIRLV
KNVNYIIDSE SIWVDNQEPQ IVHFDVAVNL DKGLYVYPEP KRYARSVROY
KILNCANYHL TVVRTDFYDE FWQGLRAAP KKQKKHTLSL TPDITLYNAA
QIICANYGEA FSVDKKGGTK KAAVSELLQA SAPYKADVEL CVYSTNETTN
CTGGKNGIAA DITTAKGYVK SVTTSNGAIT VKGDGTLANM EYILQATGNA
ATGVTWTTTC KGTDASLFPA NFCGSVTQ

5 LVL779 (ADN) - SEQ ID NO. 197:

atgaaatacctgctgccgaccgctgctgctggtctgctgctcctcgctgcccagccggcgatggccgcccagattcagaaggctga
acaaaatgatgtgaagctggcaccgcccactgatgtacgaagcggatatatacgtttgtaaagaatgtgaattattacatcgaatag
tgaatcgatctgggtggataaccaagagccacaaattgtacattttgatgcagtggtgaattagataagggattgtatgtttatcctga
gcctaaacgttatgcacgttctgttcgctcagtataagatcttgaattgtgcaaattatcatttaactcaagtacgaactgatttctatgatga
attttggggacagggtttgcgggcagcacctaaaaagcaaaagaaacatacgttaagtttaacacctgatacaacgctttataatgc
tgctcagattatttgcgaactatggtgaagcattttcagttgataaaaaaggcggcactaaaaaagcagcggatctgaattactg
caagcgtcagcgcttataaggctgatgtggaattatgtgtatatagcacaatgaacaacaaactgtacgggtggaaaaaatg
gtattgcagcagatataaccacagcaaaaggctatgtaaaatcagtgacaacaagcaacggtgcaataacagtaaaaggggat
ggcacattggcaaatatggaatatatttgaagctacaggaatgctgcaacaggtgtaacttggaacaacttgcaaggaac
ggatgcctctttttccagcaaattttgcggaagtgtcacaca

LVL779 (proteína): (pelB sp)(ProtE aa 18-160)(GG)(PilA aa40-149) - SEQ ID NO. 198:

MKYLLPTAAA GLLLLAAQPA MAAQIQKAEQ NDVKLAPPTD VRSGYIRLVK
NVNYIIDSES IWVDNQEPQI VHFDVAVNLD KGLYVYPEPK RYARSVROYK
ILNCANYHLT QVRTDFYDEF WQGLRAAPK KQKKHTLSLT PDDITLYNAAQ
IICANYGEAF SVDKKGGTKK AAVSELLQAS APYKADVELC VYSTNETTNC
TGGKNGIAAD ITTAKGYVKS VTTTSNGAITV KGDGTLANME YILQATGNAA
TGVTWTTTCK GTDASLFPAN FCGSVTQ

LVL780 (ADN) - SEQ ID NO. 199:

atgaaatacctgctgccgaccgctgctgctggtctgctgctcctcgctgcccagccggcgatggccaaggctgaacaaaatgatgt
gaagctggcaccgcccactgatgtacgaagcggatatatacgtttggtaaagaatgtgaattattacatcgatagtgaatcgatctg
ggtggataaccaagagccacaaaattgtacattttgatgcagtggtgaatttagataagggattgtatgtttatcctgagcctaaacgtta
tgcacgttctgtcgtcagtataagatcttgaattgtgcaaattatcatttaactcaagtacgaactgatttctatgatgaattttggggaca
gggtttgcgggcagcacctaaaaagcaaaagaaacatacgttaagttaacacctgatacaacgctttataatgctgctcagattatt
tgtgcgaactatggtgaagcattttcagttgataaaaaaggcggcactaaaaaagcagcggatctgaattactgcaagcgtcagc
gcctataaggctgatgtgaattatgtgtatatagcacaatgaaacaacaaactgtacgggtggaaaaaatggtattgcagcag
atataaccacagcaaaaggctatgtaaaatcagtgacaacaagcaacgggtgaataacagtaaaaggggatggcacattggca
aatatggaatatattttgcaagctacaggaatgctgcaacaggtgtaactggacaacaactgcaaaggaacggatgcctctttatt
tccagcaaattttgcggaagtgtcacacaa

LVL780 (proteína): (*pelB* sp)(*ProtE* aa 22-160)(GG)(*PilA* aa40-149) - SEQ ID NO. 200:

MKYLLPTAAA GLLLLAAQPA MAEONDVK LAPPTDVRSG YIRLVKNVNY
YIDSESIWVD NOEPQIVHFD AVVNLDKGLY VYPEPKRYAR SVROYKILNC
ANYHLTQVRT DFYDEFWGG LRAAPKKOKK HTLSLTPDIT LYNAAQIICA
NYGEAFSVDK KGGTKKAAS ELLQASAPYK ADVELCVYST NETTNCTGGK
NGIAADITTA KGYVKSVTTS NGAITVKGDG TLANMEYILQ ATGNAATGVT
WTTTCKGTDA SLFPANFCGS VTQ

5

LVL781 (ADN) - SEQ ID NO. 201:

atgaaatacctgctgccgaccgctgctgctggtctgctgctcctcgctgcccagccggcgatggccgctgaacaaaatgatgtga
gctggcaccgcccactgatgtacgaagcggatatatacgtttggtaaagaatgtgaattattacatcgatagtgaatcgatctgggtg
gataaccaagagccacaaaattgtacattttgatgcagtggtgaatttagataagggattgtatgtttatcctgagcctaaacggtatgca
cgttctgtcgtcagtataagatcttgaattgtgcaaattatcatttaactcaagtacgaactgatttctatgatgaattttggggacaggg
ttgcgggcagcacctaaaaagcaaaagaaacatacgttaagttaacacctgatacaacgctttataatgctgctcagattattgtg
cgaactatggtgaagcattttcagttgataaaaaaggcggcactaaaaaagcagcggatctgaattactgcaagcgtcagcgct
tataaggctgatgtgaattatgtgtatatagcacaatgaaacaacaaactgtacgggtggaaaaaatggtattgcagcagatat
aaccacagcaaaaggctatgtaaaatcagtgacaacaagcaacgggtgaataacagtaaaaggggatggcacattggcaaat
atggaatatattttgcaagctacaggaatgctgcaacaggtgtaactggacaacaactgcaaaggaacggatgcctctttattcc
agcaaattttgcggaagtgtcacacaa

LVL781 (proteína): (*pelB* sp)(*ProtE* aa 23-160)(GG)(*PilA* aa40-149) - SEQ ID NO. 202:

MKYLLPTAAA GLLLLAAQPA MAEONDVKL APPTDVRSGY IRLVKNVNY
IDSESIWVDN QEPQIVHFDA VVNLDKGLYV YPEPKRYARS VROYKILNCA
NYHLTQVRTD FYDEFWGG LRAAPKKOKK HTLSLTPDIT LYNAAQIICAN
YGEAFSVDK KGGTKKAAS ELLQASAPYK ADVELCVYSTN NETTNCTGGK
GIAADITTAK GYVKSVTTS NGAITVKGDG TLANMEYILQ ATGNAATGVTW
TTTCKGTDA SLFPANFCGS VTQ

10

LVL782 (ADN) - SEQ ID NO. 203:

atgaaatactgctgccgaccgctgctgctggtctgctgctcctcgctgcccagccggcgatggccgaacaaaatgatgtgaagct
ggcaccgccgactgatgtacgaagcggatatatacgtttgtaaagaatgtgaattattacatcgatagtgatcgatctgggtggat
aaccaagagccacaaaattgtacattttgatgcagtggtgaatttagataagggattgtatgtttatcctgagcctaaacggtatgcacgt
tctgttcgctcagtataagatttgaattgtgcaaattatcatttaactcaagtacgaactgatttctatgatgaattttggggacagggttg
cgggcagcacctaaaaagcaaaagaaacatacgtaagttaacacctgatacaacgctttataatgctgctcagattttgtgcg
aactatggtgaagcattttcagttgataaaaaaggcggcactaaaaaagcagcgggtatctgaattactgcaagcgtcagcgccttat
aaggctgatgtggaattatgtgtatatagcacaatgaacaacaaactgtacgggtggaaaaaatggtattgcagcagatataac
cacagcaaaaggctatgtaaaatcagtgacaacaagcaacgggtgaataacagtaaaaggggatggcacattggcaaataatg
gaatatattttgcaagctacaggtaatgctgcaacaggtgaacttggaacaacactgcaaaggaacggatgcctctttattccag
caatttttgcggaagtgtcacacaa

LVL782 (proteína): (peIB sp)(ProtE aa 24-160)(GG)(PiA aa40-149) - SEQ ID NO. 204:

MKYLLPTAAA GLLLLLAAQPA MAEQNDVKLA PPTDVRSGYI RLVKNVNYI
DSESIWVDNQ EPQIVHFDAV VNLDKGLYVY PEPKRYARSV ROYKILNCAN
YHLTQVRTDF YDEFWGOGLR AAPKKQKKHT LSLTPDPTLY NAAQIICANY
GEAFSVDKKG GTKKAAVSEL LQASAPYKAD VELCVYSTNE TTNCTGGKNG
IAADITTAKG YKSVTTSNG AITVKGDGTL ANMEYILQAT GNAATGVTWT
TTCKGTDASL FPAFNCGSVT Q

- 5 La secuencia de longitud completa para PE y PiA de la que se obtuvieron las secuencias anteriores se exponen en SEQ ID NO. 4 (PE) y SEQ ID NO. 58 (PiA), respectivamente.

Ejemplo 2: Construcción del vector y Transformación

- 10 Los cebadores para amplificar PE de *H. influenzae* cepa 772 se diseñaron en base a la secuencia de *H. influenzae* cepa Hi Rd. La secuencia cebadora 5' contiene una diferencia de nucleótidos en comparación con la secuencia NTHi 772, introduciendo una diferencia de aminoácidos en la posición 24 cuando se compara con la secuencia del genoma NTHi 772 actualmente informada. El aminoácido n.º 24 en las construcciones de la proteína de fusión es E (ácido glutámico) en lugar de K (lisina) como se encuentra en NTHi 772.

Secuencia de ADN para PE de *H. influenzae* cepa Rd. - SEQ ID NO. 151

atgaaaaaattattttaacattatcacttgggttactaccgctgttctgctcaaatccaaaaggctgaacaaaatgatgtgaagctg
gcaccgccgactgatgtacgaagcggatatatacgtttgtaaagaatgtgaattattacatcgatagtgatcgatctgggtggata
accaagagccacaaaattgtacattttgatgctgtggtgaatttagatagggattgtatgtttatcctgagcctaaacggtatgcacgttc
tgttcgctcagtataagatttgaattgtgcaaattatcatttaactcaaatacgaactgatttctatgatgaattttggggacagggtttgcg
ggcagcacctaaaaagcaaaagaaacatacgtaagttaacacctgatacaacgctttataatgctgctcagattatttgcgaaat
tatggttaaagcattttcagttgataaaaaataa

- 15 Secuencia de Proteína para PE de *H. influenzae* cepa Rd. - SEQ ID NO. 152

MKKIILTSL GLLTACSAQI QKAEQNDVKL APPTDVRSGY IRLVKNVNYI
IDSESIWVDN QEPQIVHFDA VVNLDRLGLYV YPEPKRYARS VRQYKILNCA
NYHLTQIRTD FYDEFWGOGL RAAPKKQKKH TSLTPDPTTL YNAAQIICAN
YGKAFSVDKK

Secuencia de ADN para PE de *H. influenzae* cepa 772 (como se expone en: *Microbes & Infection*, Corrección de "Identification of a novel Haemophilus influenzae protein important for adhesion to epithelia cells" [*Microbes Infect.* 10 (2008) 87-97], disponible en línea 6 de julio, 2010, "Article in Press") - SEQ ID NO. 153

atgaaaaaaattattttaacattatcacttgggttacttactgctgttctgctcaaatccaaaaggctaaacaaaatgatgtgaagctg
gcaccgccgactgatgtacgaagcggatatacgtttggttaaagaatgtgaattattacatcgatagtgatcgatctgggtggata
accaagagccacaaaattgtacattttgatgcagtgggaatttagataagggattgtatgtttatcctgagcctaaacgttatgcacgtt
ctgttcgtcagtataagatcttgaattgtgcaaattatcatttaactcaagtacgaactgatttctatgatgaattttggggacaggggttgc
gggcagcacctaaaaagcaaaagaaacatacgttaagttaacacctgatacaacgctttataatgctgctcagattattttgtcga
actatggtgaagcattttcagttgataaaaaa

Secuencia de Proteína para PE de H. influenzae cepa 772 (como se expone en: Microbes & Infection, Corrección de "Identification of a novel Haemophilus influenzae protein important for adhesion to epithelia cells" [Microbes Infect. 10 (2008) 87-97], disponible en línea 6 de julio, 2010, "Article in Press") - SEQ ID NO. 154

MKKIILTSL GLLTACSAQI QKAKQNDVKL APPTDVRSGY IRLVKNVNY
IDSESIWVDN QEPQIVHFDA VVNLDKGLYV YPEPKRYARS VRQYKILNCA
NYHLTQVRTD FYDEFWGQGL RAAPKKQKKH TSLTPDTTL YNAAQIICAN
YGEAFSVDKK

Construcción del vector

Para generar LVL312, LVL291, LVL268, LVL269, LVL270, LVL702, LVL735, LVL778, LVL779, LVL780, LVL781 y LVL782, se preparó una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de los siguientes componentes (los componentes específicos se ejemplifican posteriormente): se formularon 36,6 µl de agua desionizada, 5 µl de tampón n.º 1 10X, 5 µl de dNTP 2 mM, 2 µl de MgCl₂ 25 mM, 0,4 µl de cebador n.º 1 (50 µM), 0,4 µl de cebador n.º 2 (50 µM), 0,5 µl de molde (100 ng/µl) y 0,4 µl de ADN polimerasa KOD HiFi 2,5 unidades/µl (NOVAGEN®). La reacción en cadena de la polimerasa implicó 25 ciclos de 15 segundos de desnaturalización a 98 °C, 2 segundos para hibridar a 55 °C y 20 segundos de extensión de cebadores a 72 °C. Los productos de PCR se purificaron usando el kit de purificación QIAQUICK® PCR (QIAGEN®). Este producto se usó en condiciones recomendadas por el proveedor que fueron: la adición de 5 volúmenes de Tampón PB, proporcionado en el kit de purificación QIAQUICK® PCR, a 1 volumen de la preparación de PCR. La preparación de PCR con Tampón PB se mezcló posteriormente con un vórtex. Se colocó una columna QIAQUICK® en un tubo de recogida de 2 ml. Para unir el ADN en la preparación de PCR a la columna, la muestra mixta se aplicó a la columna QIAQUICK® y se centrifugó durante 30-60 segundos a 14 000 RPM. El flujo a través se descartó y la columna QIAQUICK® se colocó de nuevo en el mismo tubo. Para lavar el ADN unido se añadieron 0,75 ml de Tampón PE, proporcionado en el kit de purificación QIAQUICK® PCR, a la columna QIAQUICK® y la columna se centrifugó durante 30-60 segundos a 14 000 RPM. El flujo a través se descartó y la columna QIAQUICK® se colocó de nuevo en el mismo tubo. La columna QIAQUICK® se centrifugó una vez más en el tubo de recolección de 2 ml durante 1 minuto para retirar el tampón de lavado residual. Cada columna QIAQUICK® se colocó en un tubo de microcentrifuga de 1,5 ml limpio. Para eluir el ADN, se añadieron 33 µl de agua al centro de la membrana QIAQUICK® y la columna se centrifugó durante 1 minuto a 14 000 RPM. Las enzimas de restricción y el tampón relacionado se obtuvieron de New England BioLabs. Por ejemplo, aproximadamente 5 µl de vector pET26b (100 ng/µl), 2 µl de NETampón2 (New England Biolabs, 1X NETampón2: 50 mM NaCl, 10 mM Tris-HCl, 10 mM MgCl₂, 1 mM ditiotretol, pH 7,9 a 25 °C), 1 µl de *NdeI* (20 000 unidades/ml), 1 µl of *HindIII* (20 000 unidades/ml) y 11 µl de agua desionizada se mezclaron e incubaron durante dos horas a 37 °C para la digestión de ADN. En lo sucesivo, se realizó una segunda etapa de purificación usando el kit de purificación QIAQUICK® PCR (QIAGEN®) con el procedimiento descrito anteriormente.

La ligación se realizó usando ADN ligasa T4 Quick y Tampón de Reacción de Ligación Quick de New England BioLabs. Por ejemplo, alrededor de 10 ng de vector y 30 ng de inserto en 10 µl de agua desionizada se mezclaron con 10 µl de Tampón de Reacción de Ligación Quick 2X (New England BioLabs, 132 mM Tris-HCl, 20 mM MgCl₂, 2 mM ditiotretol, 2 mM ATP, 15 % polietilenglicol, pH 7,6 a 25 °C) y 1 µl de ADN ligasa T4 Quick (New England BioLabs). La reacción enzimática se incubó durante 5 minutos a temperatura ambiente antes de la transformación.

Para generar LVL315, LVL317, LVL318, LVL736, LVL737, LVL738, LVL739 y LVL740, se preparó una preparación de PCR de los siguientes componentes: se formularon 40 µl de agua desionizada, 5 µl de tampón de reacción 10X, 1 µl de mezcla de dNTP, 1 µl de cebador n.º 1 (10 µM), 1 µl de cebador n.º 2 (10 µM), 1 µl de molde (25 ng/µl) y 1 µl de ADN polimerasa *PfuUltra* Alta Fidelidad 2,5 unidades/µl (Kit de Mutagénesis Dirigida al Sitio QuikChange II, Agilent Technologies, Stratagene Division). La reacción en cadena de la polimerasa implicó un ciclo de desnaturalización a 95 °C durante 30 s, 18 ciclos de 30 s de desnaturalización a 95 °C, 1 min para la hibridación a 55 °C y 5 min 30 s de extensión de cebadores a 68 °C. Los productos de PCR se digirieron usando 1 µl de enzima de restricción DpnI a 37 °C durante una hora antes de la transformación.

En la Tabla 4 se ilustra una lista detallada de secuencias de cebadores de PCR usadas para las amplificaciones.

Para generar pRIT16711, el fragmento génico PE que codifica para los aminoácidos 22 a 160 de SEQ ID NO. 4, que excluye la secuencia que codifica para su señal de secreción correspondiente, se amplificó por PCR a partir del ADN genómico de NTHi cepa 772. Los cebadores de amplificación se diseñaron a base de la secuencia disponible de la cepa Hi Rd (en ese momento, la secuencia 772 no se conocía). La secuencia del cebador 5' contiene una mutación en comparación con la secuencia NTHi 772 (la secuencia ya disponible), introduciendo una diferencia de aminoácidos en la secuencia codificante de PE en la posición 24, ácido glutámico (E) en lugar de lisina (K). Después de la amplificación por PCR, el inserto se clonó en el vector de expresión pET-26(+) (NOVAGEN®) usando los sitios de restricción *Bam*HI y *Xho*I.

Para generar pRIT16671, un fragmento de ADN que codifica para un fragmento génico de *PilA* (aminoácidos 40 a 149 de SEQ ID NO. 58, SEQ ID NO. 127), que excluye su péptido líder así como una porción de la hélice alfa hidrófoba predicha, se amplificó a partir de ADN genómico de NTHi cepa 86-028NP y se clonó en el vector de expresión pET15. El vector pRIT1670 (que contiene los aminoácidos 40 a 149 de NTHi cepa 86-028NP) se usó como un molde para generar el vector pRIT16671. El fragmento génico de *PilA* se amplificó por PCR usando el vector pRIT1670 y los cebadores MDES PILA-3 y MDES PILA-4. El fragmento de *PilA* se clonó en el vector de expresión pET-26 usando los sitios de restricción *Nde*I / *Xho*I. La secuencia de ADN que codifica seis aminoácidos histidina (his) se incorporó en el cebador 5' para añadir seis histidinas (6xhis) en el extremo N-terminal de la secuencia *PilA* (MDES PILA-3).

Para generar LVL312 (péptido señal *Flg*I-E-fragmento *PilA*-GG-fragmento PE-GGHHHHHH), se realizó una reacción en cadena de la polimerasa para amplificar el gen *PilA* (aminoácidos 40-149 / cepa 86-028NP) usando el vector pRIT16671 como un molde y los cebadores CAN534 y CAN537. La secuencia de ADN que corresponde al péptido señal (sp) *Flg*I y el aminoácido ácido glutámico (E) se incorporaron en el cebador 5' (CAN534). Para conectar la secuencia *PilA* con la secuencia PE, la secuencia de ADN que corresponde al conector de dos aminoácidos glicina (GG) y los aminoácidos PE N-terminales se incorporaron en el cebador 3' (CAN537). Se realizó otra reacción en cadena de la polimerasa para amplificar el gen PE (aminoácidos 18-160) usando el vector pRIT16711 como un molde y los cebadores CAN536 y CAN538. La secuencia de ADN que corresponde a los aminoácidos de *PilA* C-terminales y los aminoácidos GG se incorporaron en el cebador 5' para conectar *PilA* con la secuencia de PE (CAN536). La secuencia de ADN que corresponde al conector de aminoácidos GG y los aminoácidos 6xhis se incorporaron en el cebador 3' (CAN538). Finalmente, para generar LVL312, se realizó una tercera reacción en cadena de la polimerasa para amplificar los genes *PilA* y PE en fusión al péptido señal *Flg*I en el N-terminal, un aminoácido ácido glutámico (E) entre *Flg*I y *PilA*, un conector GG entre las secuencias *PilA* y PE y un conector GG entre PE y los aminoácidos 6xhis en el C-terminal. Para lograr esta amplificación, los productos de las dos reacciones en cadena de la polimerasa descritos anteriormente se usaron como molde con los cebadores CAN534 y CAN538. La secuencia de ADN que corresponde al sitio de restricción *Nde*I se incorporó en el cebador 5' y el sitio de restricción *Hind*III se incorporó en el cebador 3'. El producto de PCR generado se insertó después en el vector de clonación pET-26b(+) (NOVAGEN®).

Para generar LVL291 (péptido señal pelB-fragmento PE-GG-fragmento *PilA*-GG-6xhis), se realizó una reacción en cadena de la polimerasa para amplificar el gen PE (aminoácidos 19-160) usando el vector pRIT16711 como un molde y los cebadores CAN547 y CAN546. La secuencia de ADN que corresponde a los aminoácidos del péptido señal (sp) se incorporó en el cebador 5' (CAN544). Para conectar la secuencia *PilA* con la secuencia PE, la secuencia de ADN que corresponde al conector de aminoácidos GG y los aminoácidos *PilA* N-terminales se incorporaron en el cebador 3' (CAN546). Se realizó otra reacción en cadena de la polimerasa para amplificar el gen *PilA* (aminoácidos 40-149 de SEQ ID NO. 58, SEQ ID NO. 127) usando el vector pRIT16671 como un molde y los cebadores CAN545 y CAN535. La secuencia de ADN que corresponde a los aminoácidos de PE C-terminales y los aminoácidos GG se incorporaron en el cebador 5' (CAN545) para conectar la secuencia de *PilA* con la secuencia de PE. La secuencia de ADN que corresponde al conector de aminoácidos GG y los aminoácidos 6xhis se incorporaron en el cebador 3' (CAN535). Finalmente, para generar LVL291, se realizó una tercera reacción en cadena de la polimerasa para amplificar los genes PE y *PilA* en fusión al péptido señal pelB en el N-terminal, un conector GG entre las secuencias PE y *PilA* y un conector GG entre *PilA* y los aminoácidos 6xhis en el C-terminal. Para lograr esta amplificación, los productos de las dos reacciones en cadena de la polimerasa descritos anteriormente se usaron como molde con los cebadores CAN544 y CAN535. La secuencia de ADN que corresponde al sitio de restricción *Nde*I se incorporó en el cebador 5' y el sitio de restricción *Hind*III se incorporó en el cebador 3'. El producto de PCR generado se insertó después en el vector de clonación pET-26b(+) (NOVAGEN®).

Para generar LVL268 (péptido señal pelB-D-fragmento PE-GG-fragmento *PilA*-GG-6xhis), se realizó una reacción en cadena de la polimerasa para amplificar el gen PE (aminoácidos 20-160) usando el vector pRIT16711 como un molde y los cebadores CAN547 y CAN546. La secuencia de ADN que corresponde a los aminoácidos del péptido señal (sp) pelB y el aminoácido ácido aspártico (D) se incorporaron en el cebador 5' (CAN547). Para conectar la secuencia *PilA* con la secuencia PE, la secuencia de ADN que corresponde al conector de aminoácidos GG y los aminoácidos *PilA* N-terminales se incorporaron en el cebador 3' (CAN546). Se realizó otra reacción en cadena de la polimerasa para amplificar el gen *PilA* (aminoácidos 40-149 / cepa 86-028NP) usando el vector pRIT16671 como un molde y los cebadores CAN545 y CAN535. La secuencia de ADN que corresponde a los aminoácidos de PE C-terminales y los aminoácidos GG se incorporaron en el cebador 5' (CAN545) para conectar la secuencia de *PilA* con la secuencia de PE. La secuencia de ADN que corresponde al conector de aminoácidos GG y los aminoácidos 6xhis se incorporaron en el cebador 3' (CAN535). Finalmente, para generar LVL268, se realizó una tercera reacción en

cadena de la polimerasa para amplificar los genes PE y *PilA* en fusión al péptido señal *pelB* en el N-terminal, un aminoácido ácido aspártico (D) entre el péptido señal *pelB* y PE, un conector GG entre las secuencias PE y *PilA* y un conector GG entre *PilA* y los aminoácidos 6xhis en el C-terminal. Para lograr esta amplificación, los productos de las dos reacciones en cadena de la polimerasa descritos anteriormente se usaron como molde con los cebadores CAN547 y CAN535. La secuencia de ADN que corresponde al sitio de restricción *NdeI* se incorporó en el cebador 5' y el sitio de restricción *HindIII* se incorporó en el cebador 3'. El producto de PCR generado se insertó después en el vector de clonación pET-26b(+) (NOVAGEN®).

Para generar LVL269 (péptido señal *NadA*-ATNDDD-fragmento PE-GG-fragmento *PilA*-GG-6xhis), se realizó una reacción en cadena de la polimerasa para amplificar el gen PE (aminoácidos 22-160 de SEQ ID NO. 4) usando el vector pRIT16711 como un molde y los cebadores CAN548 y CAN546. La secuencia de ADN que corresponde a los aminoácidos del péptido señal (sp) *pelB* y los aminoácidos ATNDDD se incorporaron en el cebador 5' (CAN548). Para conectar la secuencia *PilA* con la secuencia PE, la secuencia de ADN que corresponde al conector de aminoácidos GG y los aminoácidos *PilA* N-terminales se incorporaron en el cebador 3' (CAN546). Se realizó otra reacción en cadena de la polimerasa para amplificar el gen *PilA* (aminoácidos 40-149 de SEQ ID NO. 58, SEQ ID NO. 127) usando el vector pRIT16671 como un molde y los cebadores CAN545 y CAN535. La secuencia de ADN que corresponde a los aminoácidos de PE C-terminales y los aminoácidos GG se incorporaron en el cebador 5' para conectar la secuencia de *PilA* con la secuencia de PE (CAN545). La secuencia de ADN que corresponde al conector de aminoácidos GG y los aminoácidos 6xhis se incorporaron en el cebador 3' (CAN535). Finalmente, para generar LVL269, se realizó una tercera reacción en cadena de la polimerasa para amplificar los genes PE y *PilA* en fusión al péptido señal *NadA* en el N-terminal, los aminoácidos ATNDDD entre el péptido señal *NadA* y PE, un conector GG entre las secuencias PE y *PilA* y un conector GG entre *PilA* y los aminoácidos 6xhis en el C-terminal. Para lograr esta amplificación, los productos de las dos reacciones en cadena de la polimerasa descritos anteriormente se usaron como molde con los cebadores CAN547 y CAN535. La secuencia de ADN que corresponde al sitio de restricción *NdeI* se incorporó en el cebador 5' y el sitio de restricción *HindIII* se incorporó en el cebador 3'. El producto de PCR generado se insertó después en el vector de clonación pET-26b(+) (NOVAGEN®).

Para generar LVL270 (M-6xHis-fragmento PE-GG-fragmento *PilA*), se realizó una reacción en cadena de la polimerasa para amplificar el gen PE (aminoácidos 17-160) usando el vector pRIT16711 como un molde con los cebadores CAN540 y CAN542. La secuencia de ADN que corresponde a los aminoácidos 6xhis se incorporaron en el cebador 5' (CAN540). Para conectar la secuencia *PilA* con la secuencia PE, la secuencia de ADN que corresponde al conector de aminoácidos GG y los aminoácidos *PilA* N-terminales se incorporaron en el cebador 3' (CAN542). Se realizó otra reacción en cadena de la polimerasa para amplificar el gen *PilA* (aminoácidos 40-149 / NTHi cepa 86-028NP) usando el vector pRIT16671 como un molde con los cebadores CAN541 y CAN543. La secuencia de ADN que corresponde a los aminoácidos de PE C-terminales y los aminoácidos GG se incorporaron en el cebador 5' (CAN541) para conectar la secuencia de *PilA* con la secuencia de PE. Finalmente, para generar LVL270, se realizó una tercera reacción en cadena de la polimerasa para amplificar el gen 6-his-PE-GG-*PilA* en fusión. Para lograr esta amplificación, los productos de las dos reacciones en cadena de la polimerasa descritos anteriormente se usaron como molde con los cebadores CAN540 y CAN543. La secuencia de ADN que corresponde al sitio de restricción *NdeI* se incorporó en el cebador 5' y el sitio de restricción *HindIII* se incorporó en el cebador 3'. El producto de PCR generado se insertó después en el vector de clonación pET-26b(+) (NOVAGEN®).

Para generar LVL315 (péptido señal *pelB*-MD-fragmento PE-GG-fragmento *PilA*-GG-6xhis), se realizó una mutagénesis dirigida al sitio para cambiar la secuencia de aminoácidos de PE N-terminales de QIQ a MD usando LVL291 como un molde con los cebadores CAN670 y CAN671 y el Kit de Mutagénesis Dirigida al Sitio QuikChange II (Agilent Technologies, Stratagene Division).

Para generar LVL317 (péptido señal *pelB*-fragmento PE-GG-fragmento *PilA*), se realizó una mutagénesis dirigida al sitio para incorporar un codón de parada entre el gen *PilA* y la secuencia de ADN que corresponde a los restos de aminoácidos GGHHHHHH (SEQ ID NO: 3) usando LVL291 como un molde con los cebadores CAN678 y CAN679 y el Kit de Mutagénesis Dirigida al Sitio QuikChange II (Agilent Technologies, Stratagene Division).

Para generar LVL318 (péptido señal *pelB*-MD-PE-GG-*PilA*), se realizó una mutagénesis dirigida al sitio para incorporar un codón de parada entre el gen *PilA* y la secuencia de ADN que corresponde a los restos de aminoácidos GGHHHHHH (SEQ ID NO: 3) usando LVL315 como un molde con los cebadores CAN678 y CAN679 y el Kit de Mutagénesis Dirigida al Sitio QuikChange II (Agilent Technologies, Stratagene Division).

Para generar LVL702 (LVL291 ΔQ), se realizó una reacción en cadena de la polimerasa usando el vector LVL291 como molde y los cebadores CAN1517 y CAN1518. La delección de tres nucleótidos que corresponden al aminoácido Q en la posición 23 en la secuencia LVL291 se incorporó al cebador 5'. La única diferencia entre LVL702 y LVL291 es la delección del aminoácido Q en la posición 23 en la secuencia LVL291. Los sitios de restricción *NdeI* y *HindIII* se incorporaron en los cebadores 5' y 3' respectivamente. El producto de PCR generado se insertó después en el vector de clonación pET-26b(+) (NOVAGEN®).

Para generar LVL735 (LVL317 ΔQ), se realizó una reacción en cadena de la polimerasa usando el vector LVL317 como molde y los cebadores CAN1517 y CAN1519. La delección de tres nucleótidos que corresponden al aminoácido Q en la posición 23 en la secuencia LVL317 se incorporó al cebador 5'. La única diferencia entre LVL735 y LVL317

es la delección del aminoácido Q en la posición 23 en la secuencia LVL317. Los sitios de restricción *NdeI* y *HindIII* se incorporaron en los cebadores 5' y 3' respectivamente. El producto de PCR generado se insertó después en el vector de clonación pET-26b(+) (NOVAGEN®).

- 5 Para generar LVL736 (LVL291 + SA), se realizó una mutagénesis dirigida al sitio para añadir los aminoácidos S y A entre el aminoácido 22 y 23 en la secuencia LVL291. Se usó LVL291 como un molde con los cebadores CAN1531 y CAN1532 y el Kit de Mutagénesis Dirigida al Sitio QuikChange II (Agilent Technologies, Stratagene Division).

Para generar LVL737 (LVL291 + A), se realizó una mutagénesis dirigida al sitio para añadir el aminoácido A entre el aminoácido 22 y 23 en la secuencia LVL291. Se usó LVL291 como un molde con los cebadores CAN1529 y CAN1530 y el Kit de Mutagénesis Dirigida al Sitio QuikChange II (Agilent Technologies, Stratagene Division).

- 10 Para generar LVL738 (LVL291 Δ QIQ), se realizó una mutagénesis dirigida al sitio para eliminar los aminoácidos Q, I y Q en las posiciones 23 a 25 en la secuencia LVL291. Se usó LVL291 como un molde con los cebadores CAN1523 y CAN1524 y el Kit de Mutagénesis Dirigida al Sitio QuikChange II (Agilent Technologies, Stratagene Division).

- 15 Para generar LVL739 (LVL291 Δ QIQK), se realizó una mutagénesis dirigida al sitio para eliminar los aminoácidos Q, I, Q y K en las posiciones 23 a 26 en la secuencia LVL291. Se usó LVL291 como un molde con los cebadores CAN1525 y CAN1526 y el Kit de Mutagénesis Dirigida al Sitio QuikChange II (Agilent Technologies, Stratagene Division).

- 20 Para generar LVL740 (LVL291 Δ QIQKA), se realizó una mutagénesis dirigida al sitio para eliminar los aminoácidos Q, I, Q, K y A en las posiciones 23 a 27 en la secuencia LVL291. Se usó LVL291 como un molde con los cebadores CAN1527 y CAN1528 y el Kit de Mutagénesis Dirigida al Sitio QuikChange II (Agilent Technologies, Stratagene Division).

- 25 Para generar LVL778 (LVL736 Δ etiqueta 6xHis), LVL779 (LVL737 Δ etiqueta 6xHis), LVL780 (LVL738 Δ etiqueta 6xHis), LVL781 (LVL739 Δ etiqueta 6xHis) y LVL782 (LVL740 Δ etiqueta 6xHis) se realizó una mutagénesis dirigida al sitio usando los vectores LVL736, LVL737, LVL738, LVL739 y LVL740 como moldes, respectivamente, con los cebadores CAN1669 y CAN543. La delección de la etiqueta 6xHis corresponde a la secuencia de aminoácidos GGGHHHHH (SEQ ID NO. 3) en las secuencias C-terminales. Esta delección se incorporó en el cebador 3'. Los sitios de restricción *NdeI* y *HindIII* se incorporaron en los cebadores 5' y 3' respectivamente. El producto de PCR generado se insertó después en el vector de clonación pET-26b(+) (NOVAGEN®).

ID del cebador	Secuencia de ADN 5' - 3'
CAN534	CACACACATATGATTAATAATTCTCTCTGCAATTAATCTTCTACTGGTCACGACGG CGGCTCAGGCTGAGACTAAAAAGCAGCGGTATCTG (SEQ ID NO. 155) TGTGTGAAGCTTTTAGTGGTGGTGGTGGCGCCCTTGTGTGACACTTCCG CAAAAATTTC (SEQ ID NO. 156) TTTTCGGAAGTGTACACACAAGCGCGCGCAGATTTCAGAAGGCTGAACAAAATGA TGT (SEQ ID NO. 157) ACATCATTTTGTTCAGCCTTCTGAATCTGCGCGCCGCTTGTGTGACACTTCCGC AAA (SEQ ID NO. 158) TGTGTGAAGCTTTTAGTGGTGGTGGTGGTGGCGCCCTTTTATCAACTGAA AATG (SEQ ID NO. 159) CACACACATATGCACCAACCACCAACACAGCGCGCAGATTTCAGAAAGGCTGAAC AAAATGATGT (SEQ ID NO. 160) CATTTTCAGTTGATAAAAAAGCGGCACTAAAAAGCAGCGGTATC (SEQ ID NO. 161) GATACCGCTGCTTTTAGTGGCGCTTTTATCAACTGAAAAATG (SEQ ID NO. 162) TGTGTGAAGCTTTTATTGTGTGACACTTCGCAAA (SEQ ID NO. 163) CACACACATATGAAATACCTGTCTGCCGACCGCTGTCTGTGTCTGCTCCTCG CTGCCCCAGCCGGCGATGGCCCCAGATTTCAGAAGGCTGAACAAAATGATGT (SEQ ID NO. 164) GCATTTTCAGTTGAT AAAAAAG GCGGCACT AAAAAAG CAGCGGTATCTG (SEQ ID NO. 165) CAGATACCGCTGCTTTTAGTGGCGCTTTTATCAACTGAAAAATGC (SEQ ID NO. 166) CACACACATATGAAATACCTGTCTGCCGACCGCTGTCTGTGTCTGCTCCTCG CTGCCCCAGCCGGCGATGGCCGATATTCAGAAGGCTGAACAAAATGATGT (SEQ ID NO. 167) CACACACATATGAAACACTTTCATCCAAAGTACTGACCACAGCCATCCTTGCCA CTTCTGTAGCGGCGCACTGGCAGCCCAACACGACGACGATAAGGCTGAACAAAA TGATG (SEQ ID NO. 168)
CAN535	
CAN536	
CAN537	
CAN538	
CAN540	
CAN541	
CAN542	
CAN543	
CAN544	
CAN545	
CAN546	
CAN547	
CAN548	

(continuación)

ID del cebador	Secuencia de ADN 5' - 3'
CAN670	GCCGGCGATGGCCATGGATAAGGCTGAACAAAATG (SEQ ID NO. 169)
CAN671	CATTTTGTTCAGCCCTTATCCATGGCCATGCCGGC (SEQ ID NO. 170)
CAN678	GGAAAGTGTCACACAATAAGGCGCCACCCACC (SEQ ID NO. 171)
CAN679	GGTGGTGGCGCCCTTATTGTGTGACACTTCC (SEQ ID NO. 172)
CAN1517	GATATACATATGAAATACCTGCTGCCGACCGCTGCTGGTCTGCTGCTCCTCG CTGCCAGCCGGCGATGGCCATTCAGAAGGCTGAACAAA (SEQ ID NO. 205)
CAN1518	GGCCGCAAGCTTTAGTGGTGGTGGTGGCGCC (SEQ ID NO. 206)
CAN1519	GGCCGCAAGCTTTATTGTGTGACACTTCC (SEQ ID NO. 207)
CAN 1523	GCTGCCAGCCGGCGATGGCCAAAGGCTGAACAAAATGATGTG (SEQ ID NO. 208)
CAN 1524	CACATCATTTTGTTCAGCCTTGGCCATCGCCGGCTGGGCAGC (SEQ ID NO. 209)
CAN 1525	GCTGCCAGCCGGCGATGGCCGCTGAACAAAATGATGTGAAGC (SEQ ID NO. 210)
CAN 1526	GCTTCACATCATTTTGTTCAGCGGCCATCGCCGGCTGGGCAGC (SEQ ID NO. 211)
CAN 1527	GCTGCCAGCCGGCGATGGCCGAACAAAATGATGTGAAGCTGG (SEQ ID NO. 212)
CAN 1528	CCAGCTTCACATCATTTTGTTCGGCCATCGCCGGCTGGGCAGC (SEQ ID NO. 213)
CAN 1529	GCTGCCAGCCGGCGATGGCCGCCAGATTGAGAAAGGCTGAAC (SEQ ID NO. 214)
CAN 1530	GTTACAGCCTTCTGAATCTGGCGGGCCATCGCCGGCTGGGCAGC (SEQ ID NO. 215)
CAN1531	GCTGCCAGCCGGCGATGGCCAGCGCCCGAGATTGAGAAGGCTGAAC (SEQ ID NO. 216)
CAN 1532	GTTACAGCCTTCTGAATCTGGCGCTGGCCATCGCCGGCTGGGCAGC (SEQ ID NO. 217)
CAN 1669	CACACACATATGAAATACCTGCTGCCGACC (SEQ ID NO. 218)
MDesPILA-3	GAATTCATATGCACCATCACCATCACCATCTAAATAAGCAGCGGTATCTGAA (SEQ ID NO. 173)
MDesPILA-4	GCGCCGCTCGAGTCATTGTGTGACACTTCCGC (SEQ ID NO. 174)
MnoNTHi-44	GCCCAGCCGGCGATGGCCAGATCCAGAAGGCTGAACAAAATG (SEQ ID NO. 175)
MnoNTHi-45	CATTTTGTTCAGCCCTTCTGGATCTGGGCCATCGCCGGCTGGGC (SEQ ID NO. 176)

Transformación

Las células de *Escherichia coli* BLR (DE3) o *E. coli* HMS (DE3) se transformaron con ADN plasmídico de acuerdo con procedimientos convencionales con células tratadas con CaCl_2 (Hanahan D. « Plasmid transformation by Simanis. » In Glover, D. M. (Ed), DNA cloning. IRL Press London. (1985): p. 109-135.). Brevemente, las células BLR (DE3) o HMS174(DE3) competentes se descongelaron suavemente en hielo. Se mezclaron aproximadamente 4 µl de plásmido (10-100 ng) usando 50-100 µl de células competentes. En lo sucesivo, esta formulación se incubó en hielo durante 30 min. Para realizar la reacción de transformación, a la formulación se dieron pulsos de calor a 42 °C durante 45 segundos y después se incubaron en hielo durante 2 minutos. Se añadieron aproximadamente 0,5 ml de medio SOC (caldo Súper Óptimo con represión de catabolitos) a las células transformadas y el cultivo celular se incubó a 37 °C durante una hora antes de colocar en placa en agar Luria-Bertani (LB) con 50 µg/ml de kanamicina. Se colocaron en placa alrededor de 100 µl de cultivo celular transformado y se incubó durante toda la noche a 37°C.

BLR (DE3): BLR es un derivado *recA* de BL21 (F- *ompT hsdSB*(rB- mB-) *gal dcm* (DE3). Esta cepa de *E. coli* usada para la expresión de proteínas recombinantes mejora los rendimientos de monómeros de plásmido y puede ayudar a estabilizar los plásmidos diana que contienen secuencias repetitivas o cuyos productos pueden causar la pérdida del profago DE3 (Studier, F.W. (1991) J. Mol. Biol. 219: 37-44). El genotipo detallado de *E.coli* BLR (DE3) se ha publicado por NOVAGEN®. (F- *ompT hsdSB* (rBmB-) *gal dcm* Δ (srl-*recA*)306::Tn10 (TetR) (DE3).

HMS174 (DE3): Las cepas HMS174 proporcionan la mutación *recA* en un fondo K-12. Como BLR, estas cepas pueden estabilizar ciertos genes diana cuyos productos pueden provocar la pérdida del profago DE3. El genotipo detallado de *E.coli* HMS174 (DE3) se ha publicado por NOVAGEN®. (F- *recA1 hsdR*(rK12- mK12+) (DE3) (Rif R).

La producción usando BLR (DE3) y la caracterización de construcciones etiquetadas con His se describen del Ejemplo 3 al Ejemplo 6

Ejemplo 3: Expresión de proteínas usando un matraz de agitación

Generalmente, se despojó una placa de agar confluyente inoculada con *Escherichia coli* BLR (DE3) transformada con plásmido recombinante, se resuspendió en medio de cultivo y se usó para inocular 800 ml de caldo LB (Becton, Dickinson and Company) $\pm$ 1 % (peso/volumen, p/v), glucosa (Laboratoire MAT, número de catálogo: GR-0101) y 50 µg/ml de kanamicina (Sigma) para obtener una D.O._{600 nm} entre 0,1 y 0,2. Los cultivos se incubaron a 37 °C con agitación de 250 RPM para alcanzar una D.O._{600 nm} de ~0,8.

Después se recogió un ml de cada cultivo, se centrifugó a 14 000 RPM durante 5 minutos y los sobrenadantes y los sedimentos se congelaron a -20 °C separadamente.

A una D.O._{600 nm} de ~0,8, los cultivos de BLR (DE3) se enfriaron (-20 °C, 20 minutos o 4 °C, ° hora, preferentemente a 4 °C durante 1 hora) antes de inducir la expresión de la proteína recombinante por la adición de isopropil β -D-1-tiogalactopiranosido 1 mM (IPTG; EMD Chemicals Inc., número de catálogo: 5815) y se realizó la incubación durante toda la noche a 16, 22 y 30 °C o 3 horas a 37 °C con agitación de 250 RPM, preferentemente durante toda la noche a 22 °C. Después del periodo de inducción los cultivos se centrifugaron a 14 000 RPM durante 5 minutos o 6 000 RPM durante 15 minutos y los sobrenadantes (muestra de la fracción de medio) y los sedimentos (que contienen fracciones soluble e insoluble) se congelaron a -20 °C separadamente.

Estas condiciones se usan para la expresión de proteínas periplásmicas.

Ejemplo 4: Purificación de proteínas usando un matraz de agitación, pastas de células, construcciones etiquetadas con His

Cada sedimento bacteriano obtenido después de la inducción se resuspendió en 20 mM de tampón ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinotansulfónico (HEPES) (pH 8,0) que contiene 500 mM NaCl, 10 mM imidazol y Cóctel Inhibidor de Proteasa Roche COMPLETE® (1 comprimido/50 ml de tampón HEPES que contiene 500 mM NaCl, comprimidos Roche COMPLETE® ULTRA, Roche Diagnostics Corporation). Alternativamente, puede usarse tampón bicina 20 a 50 mM en lugar de tampón HEPES que contiene NaCl. Por ejemplo, puede usarse tampón bicina 20 mM. Las bacterias se lisaron usando un Sistema Constante 1,1 kW 2 X 206842,72 kPa (kilopascales) (30 000 PSI (libras por pulgada cuadrada)). Los componentes solubles (sobrenadante) e insolubles (sedimentos) se separaron por centrifugación a 20 000 g durante 20 min a 4 °C.

Las proteínas etiquetadas con 6-His se purificaron en condiciones nativas en cromatografía de afinidad de metal inmovilizado (IMAC) usando el protocolo de purificación de proteínas PROFINIA™ (Bio-Rad Laboratories, Inc.). Los componentes solubles se cargaron en una columna Trap 5 ml His (Bio-Rad Laboratories, Inc.) pre-equilibrada con el mismo tampón usado para la resuspensión de bacterias; los componentes solubles se añadieron hasta 5 ml/min (produciendo una "fracción de flujo a través"). Después de cargar en la columna, la columna se lavó con 10 volúmenes de columna del mismo tampón a una velocidad de 10 ml/min (produciendo una "fracción de lavado n.º 1"). Se realizó un segundo lavado usando 20 mM de tampón bicina o 20 mM de tampón HEPES (pH 8,0) que contiene 500 mM de NaCl y 20 mM de imidazol, produciendo una "fracción de lavado n.º 2". La elución se realizó usando 2 volúmenes de columna de 20 mM de tampón HEPES o 50 mM de tampón bicina (pH 8,0) que contiene

500 mM de NaCl y 250 mM de imidazol a una velocidad de 10 ml/min, produciendo una “fracción de elución”.

Para mejorar la pureza de la proteína, las fracciones de elución positivas de IMAC se pusieron en conjunto y se cargaron en una columna de cromatografía de exclusión de tamaño (SEC) (HILOAD™ SUPERDEX™ 200 06/60 de GE Healthcare) pre-equilibrada en tampón fosfato salino sin calcio o magnesio (NaCl 137 mM, KCl 2,7 mM, Na₂HPO₄ 8,1 mM, KH₂PO₄ 1,47 mM, pH 7,4). Las muestras de las fracciones de elución se analizaron por electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil sulfato sódico (SDS-PAGE). Las muestras se concentraron usando Centricon 10 000 MW (Millipore).

La concentración de proteína se determinó usando un espectrómetro.

Ejemplo 5: Análisis de SDS-PAGE y transferencia Western de construcciones etiquetadas con His y Análisis de SDS-PAGE de construcciones LVL317 y LVL318 no etiquetadas con His

Preparación de la fracción soluble e insoluble

Por ejemplo, 1 ml de cultivo después de la inducción, véase, por ejemplo, el Ejemplo 3 anterior) se centrifugó a 14 000 RPM durante 2 min. El sedimento se resolubilizó usando 40 µl de Reactivo de Extracción de Proteínas BUGBUSTER® (NOVAGEN®, EMD4 Biosciences, Merck), creando una suspensión celular. La suspensión celular se incubó en una plataforma rotatoria durante 10 min a temperatura ambiente. La suspensión celular se centrifugó después a 14 000 RPM durante 2 min para separar la fracción soluble. El sedimento resultante (fracción insoluble) se resolubilizó usando 70 µl de agua desionizada, 5 µl de ditiotretitol (DTT) 1 M y 25 µl de Tampón de Muestra NUPAGE® LDS (dodecil sulfato de litio) 4X (INVITROGEN™). La fracción soluble (sobrenadante de la suspensión celular del sedimento resolubilizado) se añadió a 30 µl de agua desionizada, 5 µl de DTT 1 M y 25 µl de Tampón de Muestra LDS 4X.

Preparación de la fracción de medios

Por ejemplo, para preparar la fracción de medios, se concentraron 100 µl del sobrenadante del cultivo celular entero inducido después de la centrifugación (véase, por ejemplo, el Ejemplo 3 anterior) añadiendo 500 µl de reactivo RC I (Bio-Rad Laboratories, Inc.); la muestra se mezcló y se incubó durante 1 min a temperatura ambiente. Después, se añadieron 500 µl de Reactivo II (Bio-Rad Laboratories, Inc.) a la muestra y se mezcló. Esta formulación se centrifugó a 14 000 RPM durante 10 min. El sedimento se resolubilizó usando 28 µl de agua desionizada, 2 µl de DTT 1 M y 10 µl de Tampón de Muestra LDS 4X.

Preparación de la fracción de purificación

Por ejemplo, las proteínas purificadas (por ejemplo, obtenidas como se describe en el Ejemplo 4) se prepararon para el análisis por SDS-PAGE añadiendo 70 µl de muestra, 5 µl de DTT 1 M y 25 µl de Tampón de Muestra LDS 4X.

Análisis de SDS-PAGE y transferencia a una membrana de nitrocelulosa

El análisis de SDS-PAGE y transferencia a una membrana de nitrocelulosa se realizaron de acuerdo con las recomendaciones del fabricante (Invitrogen) usando geles NUPAGE® Bis-Tris 4-12 %. Las preparaciones de las muestras, los tampones y las condiciones de migración se realizaron en condiciones recomendadas por los proveedores.

En un ejemplo, el gel se cargó con una muestra de 20 µl de una mezcla maestra que comprendía 70 µl de una fracción de proteína purificada, 5 µl de DTT 1 M y 25 µl de Tampón de Muestra LDS 4X.

Después de que las muestras se corrieran en geles NUPAGE® Bis-Tris 4-12 %, las proteínas se transfirieron a membranas de nitrocelulosa.

Las membranas de nitrocelulosa se bloquearon durante 30 minutos a 37 °C, 60 RPM usando leche al 3 % / solución fresca de PBS 1X. Después de bloquear la incubación, se añadieron Anticuerpos Primarios (Anticuerpo 6X His Tag®, Abcam PLC, número de catálogo: ab9108) a una dilución de: 1:1000 en leche al 3 % / solución fresca de PBS 1X durante 1 hora a 37 °C, 60 RPM. Después de esto, las membranas se lavaron tres veces, durante 5 minutos cada una, a temperatura ambiente usando polisorbato 20 al 0,02 % (por ejemplo, TWEEN™ 20) / PBS 1X. Se añadieron Anticuerpos Secundarios (fosfatasa alcalina (AP) de conejo anti-IgG (H+L) de conejo, Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc.) a una dilución 1:14 000 usando leche al 3 % / solución fresca de PBS 1X. Las membranas se incubaron durante 1 hora a 37 °C, 60 RPM. Después de esto, las membranas se lavaron tres veces durante 5 minutos a temperatura ambiente usando polisorbato 20 al 0,02 % (por ejemplo, TWEEN™ 20) / PBS 1X antes de las exposiciones de membrana a 5-bromo-4-cloro-3-indolil fosfato/nitro azul de tetrazolio (por ejemplo, BCIP®/NBT de Sigma-Aldrich®, 1 comprimido / 10 ml de agua).

Véase la Figura 1 para SDS-PAGE de los extractos bacterianos inducidos para las construcciones de proteínas de fusión LVL291, LVL268 y LVL269. La Fracción Insoluble (I), Fracción Soluble (S) y Fracción medio de cultivo (M) se cargaron para LVL291, LVL268 y LVL269 antes y después de la inducción (ind).

Véase la Figura 2 para SDS-PAGE y transferencia Western con respecto a los extractos de purificación para las construcciones de proteínas de fusión LVL291, LVL268 y LVL269. La Fracción de flujo a través (Ft), fracción de lavado (W) y Fracción de elución (E) se cargaron para la purificación de LVL291, LVL268 y LVL269. Se usó Anti-etiqueta his para sondear los extractos.

- 5 Véase la Figura 3 para SDS-PAGE de los extractos bacterianos inducidos y de purificación para las construcciones de proteínas de fusión LVL291 y LVL315. La Fracción del medio de cultivo (M), la Fracción soluble (Sol), la Fracción insoluble (Ins), la Fracción de flujo a través (Ft), la Fracción de lavado n.º 1 (W1), la Fracción de lavado n.º 2 (W2) y la Fracción de elución (E) se cargaron para LVL291 y LVL315.

- 10 Véase la Figura 4 para SDS-PAGE de los extractos bacterianos inducidos y de purificación para la construcción de proteínas de fusión LVL312. La Fracción del medio de cultivo (M), la Fracción soluble (Sol), la Fracción insoluble (Ins), la Fracción de flujo a través (Ft), la Fracción de lavado n.º 1 (W1), la Fracción de lavado n.º 2 (W2) y la Fracción de elución (E) se cargaron para LVL312.

- 15 Véase la Figura 25 para SDS-PAGE de las fracciones solubles de extractos bacterianos inducidos para las construcciones de proteínas de fusión LVL291, LVL702, LVL736, LVL737, LVL738, LVL739, LVL740 y el vector pET26b (control negativo). (a) Experimento 1 (b) Experimento 2 (c) Experimento 3. Proteína de fusión PE-PilA indicada por una flecha.

Véase la Figura 26 para el porcentaje de banda promedio de la proteína de fusión en la fracción soluble de los Experimentos 1, 2 y 3.

- 20 Los extractos bacterianos LVL317 y LVL318 usados en el análisis SDS-PAGE en la Figura 5 y la Figura 6, respectivamente, se prepararon generalmente como se describe anteriormente.

Figura 5. SDS-PAGE de extractos bacterianos inducidos (1 mM y 10 µM IPTG) para la construcción de proteínas de fusión LVL317. Extractos de antes (NI) y después (In) de la inducción, Fracción soluble (S), Fracción insoluble (I).

- 25 Figura 6. SDS-PAGE de extractos bacterianos inducidos (1 mM y 10 µM IPTG) para la construcción de proteínas de fusión LVL318. Extractos de antes (NI) y después (In) de la inducción, Fracción del medio de cultivo (M), Fracción soluble (S), Fracción insoluble (I).

Las proteínas separadas por SDS-PAGE se transfirieron a una membrana Immobilon-P. Las bandas de proteínas teñidas con Azul Coomassie se cortaron y se colocaron en un reactor secuenciador. La secuenciación se llevó a cabo de acuerdo con el protocolo del fabricante usando un Secuenciador de Proteínas PROCISE® de Applied Biosystems, modelo 494-cLC.

- 30 Tabla 5: Perfiles de expresión de proteínas de matraz de agitación y escisión del péptido señal para las construcciones de proteínas de fusión.

ID de la Construcción de proteína de fusión	Descripción N-term → C-term	Perfil de expresión proteica	Escisión del péptido señal
LVL312	Flgl sp - E - Fragmento PilA - GG - Fragmento PE - GGHHHHHH	In: +++ So: + Se: +	Confirmada
LVL291	PelB sp-Fragmento PE - GG - Fragmento PilA - GGHHHHHH	In: +++ So: ++ Se: +	Confirmada
LVL268	PelB sp - D - Fragmento PE - GG - Fragmento PilA - GGHHHHHH	In: +++ So: ++ Se: +	Confirmada
LVL269	NadA sp - ATNDDD - Fragmento PE - GG - Fragmento PilA - GGHHHHHH	In: +++ So: ++ Se: +	Confirmada
LVL270	MHHHHHH - Fragmento PE - GG - Fragmento PilA	In: + So: - Se: -	No ensayada
LVL315	PelB sp - MD - Fragmento PE - GG - Fragmento PilA - GGHHHHHH	In: +++ So: ++ Se: +	Confirmada
LVL317	PelB - Fragmento PE - GG - Fragmento PilA	In: +++ So: + Se: Nt	Confirmada

(continuación)

ID de la Construcción de proteína de fusión	Descripción N-term → C-term	Perfil de expresión proteica	Escisión del péptido señal
LVL318	PelB sp - MD - Fragmento PE - GG - Fragmento PilA	In: +++ So: + Se: -	
LVL702	PelB sp - Fragmento PE - GG - Fragmento PilA - GGHHHHHH	In: +++ So: ++ Se: Nt	Confirmada
LVL736	PelB sp - Fragmento PE - GG - Fragmento PilA - GGHHHHHH	In: +++ So: ++ Se: Nt	Confirmada
LVL737	PelB sp - Fragmento PE - GG - Fragmento PilA - GGHHHHHH	In: +++ So: ++ Se: Nt	Confirmada
LVL738	PelB sp - Fragmento PE - GG - Fragmento PilA - GGHHHHHH	In: +++ So: ++ Se: Nt	Confirmada
LVL739	PelB sp - Fragmento PE - GG - Fragmento PilA - GGHHHHHH	In: +++ So: ++ Se: Nt	Confirmada
LVL740	PelB sp - Fragmento PE - GG - Fragmento PilA - GGHHHHHH	In: +++ So: ++ Se: Nt	Confirmada

So = Fracción soluble. In = Fracción Insoluble. Se = Proteína secretada en la fracción de medios. Nt = No ensayado. La siguiente clasificación se basó en una inspección visual (coomassie) + : expresión baja; ++ : expresión media; +++ : expresión alta; -: sin expresión

Ejemplo 6: Caracterización de la proteína de fusión LVL291

PROPIEDADES FÍSICAS DE LVLS291: Plegamiento de PE y PilA en LVL291 y Punto de fusión

5 Dicroísmo circular:

Análisis de la estructura secundaria

El dicroísmo circular (DC) se usa para determinar la composición de la estructura secundaria de una proteína midiendo la diferencia en la absorción de la luz polarizada a mano izquierda frente a la luz polarizada a mano derecha que se debe a la asimetría circular. La forma y la magnitud de los espectros de DC en la región UV lejana (190-250 nm) son diferentes si una proteína exhibe una estructura de lámina beta, de hélice alfa o de enrollamiento aleatorio. La abundancia relativa de cada tipo de estructura secundaria en una muestra de proteína dada puede calcularse por comparación con los espectros de referencia.

Los espectros de UV lejanos se miden usando un camino óptico de 0,01 cm de 178 a 250 nm, con una resolución de 1 nm y anchura de banda en un espectropolarímetro Jasco J-720. La temperatura de la célula se mantiene a 23 °C por un bloqueante de células RTE-111 con termostato Peltier. Se mantiene un flujo de nitrógeno de 10 l/min durante las mediciones.

Resultados:

Los espectros de DC de UV lejano obtenidos para las proteínas PE (a partir de la construcción pRIT16762), PilA (a partir de la construcción pRIT 16790) y PEPilA son característicos de proteínas plegadas que contienen una mezcla de estructuras alfa y beta, pero PE es significativamente más rica en hélices alfa que PilA y PE-PilA (Figura 7, espectros DC de las proteínas de fusión PE, PilA y PE-PilA).

Para evaluar la integridad del plegamiento de las proteínas PE y PilA individuales una vez unidas juntas en una proteína quimérica y después verificar una posible interacción entre ambas, se calcularon los espectros de diferencia.

- Cuando se combinan los espectros UV lejanos de PE y PilA, el espectro resultante se superpone al espectro de la quimera PE-PilA (Figura 8, combinación del espectro de DC de PE y PilA). Este resultado sugiere que la quimera PE-PilA contiene todas las estructuras secundarias que se detectan en los componentes individuales. También sugiere que la fusión de las proteínas no tiene mayor impacto en las estructuras secundarias de los componentes individuales y en consecuencia que el plegamiento de PE y PilA no es significativamente diferente

si las proteínas están separadas o en fusión.

Evaluación del punto de fusión:

Para evaluar si la expresión en la fusión tiene un impacto en las propiedades termodinámicas de las proteínas individuales, se han evaluado los puntos de fusión de PE, PilA y PE-PilA monitorizando el desplegamiento de la hélice alfa con la temperatura por dicroísmo circular.

La presencia de la hélice alfa se caracteriza por un mínimo en la señal de dicroísmo circular en 222 nm, por lo que un aumento significativo en la señal de DC en 222 nm durante el aumento de temperatura es una indicación de la desnaturalización proteica. La determinación de la temperatura a la que la proteína se somete a la pérdida de estructura secundaria permite la determinación del punto de fusión (T_m), que corresponde a la temperatura a la que la mitad de las proteínas han perdido su estructura.

El punto de fusión puede determinarse por la identificación del punto de inflexión en la curva de desnaturalización térmica obtenida a partir de un gráfico de temperatura frente a DC 222 nm.

- Los puntos de fusión de PilA y PE como se determina por DC de UV lejano son respectivamente 52 °C y 68 °C (Figura 9, curva de desnaturalización térmica de PilA; Figura 10, curva de desnaturalización térmica de PE).
- La proteína de fusión PE-PilA exhibe dos T_m distintas a 48 °C y 71 °C (Figura 11, curva de desnaturalización térmica de PE-PilA). Estos valores indican que las proteínas PE y PilA todavía se pliegan independientemente cuando se unen a una quimera y que se despliegan a una temperatura similar aunque estén separadas o en fusión. La observación de que el desplegamiento de la porción PilA a 48 °C no provoca la precipitación o impacta en la T_m de la porción PE a 71 °C es una indicación fuerte de que la interacción entre PE y PilA dentro de la fusión es mínima y que no tienen un impacto mayor observable entre sí. Los puntos de fusión de las proteínas son sensibles a diversas condiciones externas, incluyendo la composición del tampón o la presencia de moléculas que interactúen; que no se observe mayor variación tras la fusión de PE y PilA es una indicación fuerte de la conservación de la mayoría de la estructura y de las propiedades tanto de PE como de PilA cuando se unen juntas.

Ejemplo 7: Procedimiento de fermentación

Las proteínas de fusión de la invención pueden prepararse por procedimientos conocidos por aquellos expertos en la materia.

Ejemplo 8: Purificación de proteínas de PE, PilA y LVL317

Purificación de la proteína PE a partir de pRIT16762:

Para generar el vector de expresión pRIT16762, el vector pRIT16711 se digirió usando las enzimas de restricción BamHI y NcoI para eliminar 6 restos de aminoácidos entre la secuencia señal (pelB) y PE. El vector obtenido se llamó pRIT16762. En este vector, hay 3 aminoácidos entre la secuencia señal pelB y PE: MDP. En una segunda etapa, se realizó una mutagénesis dirigida al sitio para cambiar la secuencia de aminoácidos de MDP a QIQ usando pRIT16762 como molde con los cebadores MnoNTHi-44 y MnoNTHi-45 (descritos en la Tabla 4) y el kit de Mutagénesis dirigida al sitio QuikChange II (Agilent Technologies, Stratagene Division).

La semilla funcional de *E. coli* BLR (DE3) que contenía PE QIQ (de la construcción pRIT16762) se descongeló de -80 °C y se usó para preparar 100 ml de pre-cultivo en caldo LB en una incubación durante toda la noche a 37 °C en agitación a 215 RPM. Después de la incubación durante toda la noche, ocho matraces que contenían 800 ml de LB APS se inocularon con 12,5 ml de pre-cultivo y se midió la DO_{600} a alrededor de 0,06. Los cultivos se incubaron 3 h a 37 °C con agitación. A una DO_{600} a alrededor de 0,9, se añadió 1 mM IPTG para iniciar la inducción. Durante la inducción, los cultivos se incubaron 19 h a 22 °C con agitación. Después de la inducción, la DO_{600} fue alrededor de 2,2. Los cultivos celulares se transfirieron a bolsas de centrifuga de 1 l colocadas dentro de botellas de 1 l y se centrifugaron a 4 °C durante 30 minutos a 6.000 xg y el sobrenadante se descartó. Se guardaron alícuotas de 1 ml de cultivo pre- y post-inducción y sobrenadante para análisis futuros.

Lisis de las BLR (DE3) inducidas con PE QIQ

Las bolsas de centrifuga se retiraron de las botellas de centrifugación, se abrieron y el sedimento se expulsó de la bolsa a un vaso de precipitados. Los ocho sedimentos se pusieron juntos y se resuspendieron en 100 ml de tampón de unión (20 mM Hepes, 10mM imidazol, 500 mM NaCl, pH 8,01). Las *E.coli* BLR (DE3) que contenían la construcción PE QIQ se rompieron con el disruptor celular Bench Top Serie TS de Constant Systems Ltd. (1x 206,85 MPa; 1x103,43 MPa (1x30 kPsi; 1x15kPsi)). El lisado se centrifugó 30 minutos, 6000 RPM, 4 °C. El sobrenadante se guardó y se cargó en una columna IMAC.

Purificación IMAC de PE QIQ

La columna IMAC (BioRad, Bio-Scale Mini Profinity IMAC cartucho de 5 ml) se equilibró con 5 CV de tampón de unión (20 mM HEPES, 10 mM imidazol, 500 mM NaCl, pH 8,01) a 5 ml/min. Se cargaron 100 ml de sobrenadante

lisado en la IMAC a 2,5 ml/min. El flujo a través se recogió en fracciones de 50 ml para análisis futuros. La columna se lavó con 3 CV de tampón de unión para retirar la proteína sin unir. La muestra que contenía proteínas sin unir se recogió en una alícuota de 15 ml en un tubo de 50 ml. La columna se lavó con 2 CV de tampón de lavado (20 mM HEPES, 20 mM imidazol, 500 mM NaCl, pH 8,01) recogido en fracciones de 2 ml en una placa de 96 pocillos. La proteína unida se eluyó después con 6 CV de tampón de elución al 100 % (20 mM HEPES, 250 mM imidazol, 500 mM NaCl, pH 8,01). La proteína eluida se recogió en fracciones de 2 ml en placas de 96 pocillos. El lavado y la elución se realizaron a 5 ml/min.

Cromatografía de exclusión de tamaño (SEC) del conjunto IMAC de PE QIQ

La columna SEC (GE healthcare, HILOAD™ 26/60 SUPERDEX™ 75 clasificación prep, 60 cm de altura aprox. 319 ml de volumen) se equilibró con 3 CV de tampón SEC (20 mM HEPES, 150 mM NaCl, pH 8,49). Se cargaron 11 ml de eluido IMAC en la columna a un caudal de 2,5 ml/min. Se recogieron fracciones de 2 ml de 0,3 CV a 0,9 CV. Se realizaron dos ejecuciones después las fracciones se analizaron por SDS-PAGE. Las fracciones de las dos ejecuciones que contienen la proteína Prot E se pusieron juntos ("conjunto SEC", 48 ml de volumen total aprox.). Se añadieron 500 mM de Arginina al conjunto SEC.

Dosificación de las muestras puestas en conjunto PE QIQ generadas en el protocolo SEC anterior

El conjunto SEC se dosificó con el procedimiento RCDC (Agente reductor y detergente compatible, por sus siglas en inglés) del kit Bio-Rad RC DC™ siguiendo el protocolo del fabricante:

Para cada muestra ensayada y patrón, se distribuyeron 25 µl en tubos de microfuga por duplicado. Se añadieron 125 µl de Reactivo I Bio-Rad RC en cada tubo; cada tubo se sometió a vórtex y se incubó durante 1 minuto a temperatura ambiente. Se añadieron 125 µl de Reactivo II Bio-Rad RC en cada tubo; cada tubo se sometió a vórtex y se centrifugó después a 14.000 xg durante 5 minutos. Los sobrenadantes se descartan invirtiendo los tubos en papel de tejido absorbente permitiendo que el líquido se drene completamente de los tubos. Se añaden 25,4 µl de Reactivo A (ya preparado mezclando 20 µl de Reactivo S por 1 ml de Reactivo A) a cada tubo; cada tubo se sometió a vórtex y se incubó durante 5 minutos a temperatura ambiente o hasta que el precipitado se disuelva completamente. Se somete a vórtex antes de avanzar a la siguiente etapa. Añadir 200 µl de reactivo B de CD a cada tubo y someter a vórtex inmediatamente. Incubar a temperatura ambiente durante 15 minutos. Transferir todas las muestras a una placa de 96 pocillos y leer la absorbancia a 750 nm para determinar la concentración de proteína para cada muestra de proteína desconocida.

La concentración de ProtE fue 1,069 mg/ml.

Purificación de proteína PilA etiquetada conHis

PilA se purificó siguiendo el procedimiento general a continuación:

Las células de *E. coli* que contienen una construcción que codifica PilA o un fragmento de la misma se suspenden en BUGBUSTER® y nucleasa BENZONASE® (NOVAGEN®), por ejemplo 10 ml de BUGBUSTER® y 10 µl de nucleasa BENZONASE®. El lisado celular se mezcla a temperatura ambiente en una plataforma rotatoria, por ejemplo, durante 15 minutos. El lisado celular se centrifuga a 4 °C, por ejemplo a 16.000 g durante 20 minutos. El sobrenadante que contiene la proteína se añade a una columna Ni NTA que contiene una resina Ni NTA HIS-BIND® y se mezcla a 4 °C, por ejemplo durante 1 hora. La columna puede consistir en 2 ml de resina Ni NTA HIS-BIND® (NOVAGEN®) y 10 ml de tampón de unión 1X (del kit de NOVAGEN® de tampón Ni-NTA). Después se recoge el flujo a través de la columna. La resina se lava dos veces con tampón de lavado 1X, por ejemplo, que contiene 300 mM NaCl, 50 mM NaH₂PO₄, 25 mM imidazona, pH 8,0. El lavado se recoge por flujo de gravedad. La proteína se eluye de la columna con tampón de elución 1X, por ejemplo, 300 mM NaCl, 50 mM NaH₂PO₄, 250 mM imidazona, pH 8,0. La proteína puede purificarse adicionalmente por diálisis con el tampón de unión y reejecutarse sobre una columna Ni NTA como se ha descrito anteriormente.

Escisión de trombina de PilA

PilA se incuba después con trombina (diluida 1/50) a temperatura ambiente durante 16 h, para retirar la etiqueta de histidina.

Cromatografía de exclusión de tamaño (SEC) en PilA escindida con trombina.

La columna SEC (GE healthcare, HILOAD™ 26/60 SUPERDEX™ 75 clasificación prep., 60 cm de altura aprox. 319 ml de volumen) se equilibró con 5 CV de tampón SEC (20 mM HEPES, 150 mM NaCl, pH 8,52). Se cargaron aproximadamente 10 ml de PilA escindida en la columna a un caudal de 2,5 ml/min. Se recogieron fracciones de 2 ml de 0,3 CV a 0,9 CV. Se realizaron dos ejecuciones después las fracciones se analizaron por SDS-PAGE. Las fracciones de las dos ejecuciones que contenían la proteína PilA escindida se pusieron juntas ("conjunto SEC", 52 ml de volumen aprox. total).

Dosificación de PIIA, conjunto SEC.

El conjunto SEC se dosificó con el procedimiento RCDC como se describe anteriormente. La concentración de PIIA escindida estuvo en 5,37 mg/ml.

Diálisis del conjunto SEC PIIA con PBS 1x pH 7,4 (factor de diálisis = 1600) y dosificación por RCDC

- 5 La concentración post-diálisis determinada por RCDC estuvo en 3,0 mg/ml.

*Purificación de LVL317**Choque osmótico*

Ya que la proteína de fusión LVL317 se expresa y procesa en el periplasma bacteriano, la proteína se extrajo por choque osmótico.

- 10 Una pasta celular de *E. coli* B2448 recolectada congelada (-20 °C) que contenía LVL317 de 4 l de cultivo fermentador se puso en conjunto y se resuspendió en un tampón hipertónico que consiste en 24 mM Tris-HCl, 16 % (p/v) sacarosa, 9,9 % (p/v) glucosa, 10 mM EDTA, pH 8,0 hasta un volumen final de 4 l. La suspensión se mezcló cuidadosamente durante 30 min a temperatura ambiente usando un propulsor de 3 hojas instalado en un agitador básico RW 16, a velocidad media. La suspensión se centrifugó a 15.900 x g durante 30 minutos a temperatura ambiente. El sobrenadante (SN1) se guardó para el análisis en gel.

El sedimento resultante se resuspendió en una solución hipotónica; 38 mM MgCl₂, y se mezcló durante 30 min a temperatura ambiente. LA mezcla se centrifugó a 15.900 x g durante 30 minutos a temperatura ambiente y el antígeno se recuperó en el sobrenadante (SN2).

- 20 Se realizó una clarificación del SN2 por filtración a través de un filtro Sartorius Sartopore 2 MidiCap de polietersulfona 0,45/0,2 µm, a 600 ml/min de caudal.

El SN2 se diluyó 1:3 con 20 mM NaH₂PO₄-Na₂HPO₄, pH 7,0, el pH se ajustó a 7,0 si fuera necesario y se realizó otra clarificación por filtración a través de un filtro Sartorius Sartopore 2 MidiCap de polietersulfona 0,45/0,2 µm, a 600 ml/min de caudal.

Cromatografía SP SEPHAROSE™ de flujo rápido (SP FF)

- 25 El SN2 diluido/filtrado se cargó y se capturó en una resina intercambiadora catiónica fuerte (SP SEPHAROSE™ FF - GE Healthcare) en una columna de 14 cm DI (diámetro interno) x 20 cm (volumen de la columna 3100 ml) equilibrada con 2 CV de tampón 20 mM NaH₂PO₄ / Na₂HPO₄ pH 7,0. Después de lavar la columna con 5 CV de tampón 20 mM NaH₂PO₄ / Na₂HPO₄ pH 7,0, el antígeno (contenido dentro de LVL317) se eluyó aumentando la concentración de NaCl hasta 100 mM en el mismo tampón de lavado.

- 30 Véase la Figura 12 para un cromatograma típico de SP SEPHAROSE™ de Flujo Rápido.

Cromatografía Q SEPHAROSE™ de flujo rápido (Q FF)

- 35 El antígeno presente en el Eluido de SP FF se diluyó 1:4 con un 20 mM Tris pH 8,5, el pH se ajustó a 8,5 si fuera necesario y se pasó a través de una resina intercambiadora catiónica fuerte (Q SEPHAROSE™ FF - GE Healthcare) en una columna de 14 cm DI x 11,8 cm (volumen de la columna 1800 ml) equilibrada con 2 CV de tampón 20 mM Tris pH 8,5. El antígeno se recuperó en la fracción de flujo a través.

Véase la Figura 13 para un cromatograma típico de Q SEPHAROSE™ de Flujo Rápido.

Concentración, diafiltración, adición de polisorbato 80 y filtración estéril

- 40 El flujo a través Q FF que contenía el antígeno se concentró hasta 0,7-0,8 mg/ml a base del cromatograma UV y se diafiltró con 5 DV de tampón 10 mM KH₂PO₄ / K₂HPO₄ pH 6,5 usando una membrana Pellicon-2™ de 10 kDa de corte (Millipore).

- 45 Usando una solución madre al 5 %, se añadió polisorbato 80 (por ejemplo, TWEEN™ 80) al retenido de ultrafiltración y se agitó durante 30 minutos con un agitador magnético a 130 rpm a 4 °C. La concentración final del polisorbato 80 fue el 0,04 %. El retenido de ultrafiltración se esterilizó por filtración a través de una membrana de Acetato de Celulosa 0,45/0,2 µm (Sartobran 300, Sartorius). El volumen purificado se almacenó a -20 °C o -80 °C. La concentración absoluta de proteína se midió por AAA (Análisis de aminoácidos) a 0,737 mg/ml.

Ejemplo 9: Uso de Polisorbato 80

Un experimento de titulación indicó que la adición de polisorbato 80, específicamente, TWEEN™ 80 a una concentración final del 0,04 % (p/v) al volumen purificado antes de la filtración estéril reduce la formación de partículas filamentosas y la agregación.

De acuerdo con el análisis de DSC, el TWEEN™ 80 redujo el grado de cambio estructural (30-45 °C) visto después de ciclos de congelación/descongelación después del almacenamiento a -20 °C y después de 4 días de almacenamiento a 4 °C, -20 °C y 37 °C.

Ejemplo 10: Análisis SDS-PAGE y transferencia Western de LVL317

5 Análisis SDS-PAGE y transferencia Western

Se cargó un gel NUPAGE®, Bis-Tris al 4-12 % como se describe a continuación con 10 µg de muestra en tampón de muestra NUPAGE® LDS que contiene 50 mM DTT calentado 5 min a 95 °C (se cargaron 20 µl de muestra para muestras que tienen concentración baja). Migración: 35 minutos a 200 Voltios a temperatura ambiente (TA) en Tampón de ejecución NUPAGE® MES. El gel se tiñó 2 horas con azul Instant (Novexin cat.: ISB01L) y se destiñó durante toda la noche en agua.

10

Contenidos de carril:

- | | | |
|---|--|----------------------------|
| 1: Patrón MW (10 µl) | 2: Inicio (fracción total) (10 µg) | 3: SN1 sin filtrar (10 µg) |
| 4: SN2 sin filtrar (10 µg) | 5: Sin extraer (10 µg) | 6: Carga SP FF (10 µg) |
| 7: Flujo a través SP FF (6,9 µg) | 8: Lavado SP FF (20 µl) | 9: Elución SP FF (10 µg) |
| 10: Tira SP FF (10 µg) | 11: Carga Q FF (8,9 µg) | 12: Elución Q FF (9,8 µg) |
| 13: Tira Q FF (4,8 µg) | 14: TFF retenido antes del pico 0,04 % TWEEN™ 80 (10 µg) | |
| 15: Volumen purificado Sin filtrar pico de 0,04 % TWEEN™ 80 (10 µg) | | |
| 16: Volumen purificado Filtrado estéril pico de 0,04 % TWEEN™ 80 (10 µg) | | |
| 17: Volumen purificado Filtrado estéril pico 0,04 % TWEEN™ 80 (20 µg + pico de lisado celular E. Coli Rix (1 µg)) | | |
| 18: lisado celular E. Coli Rix (2 µg) | | |
| 19: lisado celular E. Coli Rix (1 µg) | | |
| 20: lisado celular E. Coli Rix (0,5 µg) | | |

Véase la Figura 14 para un SDS-PAGE de las muestras en el procedimiento a partir del procedimiento de purificación de la proteína de fusión Pe-PilA.

15

Para la transferencia Western, las proteínas se transfirieron a 4 °C durante toda la noche a 30 Voltios en tampón de transferencia NUPAGE® + 20 % metanol, 0,1 % SDS en una membrana de nitrocelulosa. Las membranas se bloquearon 1 hora con 50 mM Tris, 150 mM NaCl pH 7,4 + 5 % de leche seca no grasa, se incubó 2 horas en anticuerpo primario policlonal de conejo diluido en tampón de bloqueo (anti-Prot-E 1/50 000 y anti-Ecoli (BLR) 1/1 000), se lavó 3x5 minutos en 50 mM Tris pH 7,4 + 0,05 % Tween 20, se incubó durante 1 hora en anticuerpo secundario (cabra anti-conejo conjugado a fosfatasa alcalina diluida 1/5000 en tampón de bloqueo), se lavó 3x5 minutos en tampón de lavado y se desarrolló en sustrato BCIP/NBT (1 comprimido por 10 ml). Todas las incubaciones se realizaron en 25 ml por membrana.

20

Véase la Figura 15 para una transferencia Western de las muestras en el procedimiento a partir del procedimiento de purificación de la proteína de fusión Pe-PilA. La transferencia usa anti-PE policlonal de conejo.

Contenidos de carril:

- | | | |
|---|--|----------------------------|
| 1: Patrón MW (10 µl) | 2: Inicio (fracción total) (10 µg) | 3: SN1 sin filtrar (10 µg) |
| 4: SN2 sin filtrar (10 µg) | 5: Sin extraer (10 µg) | 6: Carga SP FF (10 µg) |
| 7: Flujo a través SP FF (6,9 µg) | 8: Lavado SP FF (20 µl) | 9: Elución SP FF (10 µg) |
| 10: Tira SP FF (10 µg) | 11: Carga Q FF (8,9 µg) | 12: Elución Q FF (9,8 µg) |
| 13: Tira Q FF (4,8 µg) | 14: TFF retenido antes del pico 0,04 % TWEEN™ 80 (10 µg) | |
| 15: Volumen purificado Sin filtrar pico de 0,04 % TWEEN™ 80 (10 µg) | | |
| 16: Volumen purificado Filtrado estéril pico de 0,04 % TWEEN™ 80 (10 µg) | | |
| 17: Volumen purificado Filtrado estéril pico 0,04 % TWEEN™ 80 (20 µg + pico de lisado celular E. Coli Rix (1 µg)) | | |
| 18: lisado celular E. Coli Rix (2 µg) | | |
| 19: lisado celular E. Coli Rix (1 µg) | | |
| 20: lisado celular E. Coli Rix (0,5 µg) | | |

25

Véase la Figura 16 para una transferencia Western de las muestras en el procedimiento a partir del procedimiento de purificación de la proteína de fusión Pe-PilA. La transferencia usa anti-E. coli (BLR) policlonal de conejo.

Contenidos de carril:

- | | | |
|----------------------------------|--|----------------------------|
| 1: Patrón MW (10 µl) | 2: Inicio (fracción total) (10 µg) | 3: SN1 sin filtrar (10 µg) |
| 4: SN2 sin filtrar (10 µg) | 5: Sin extraer (10 µg) | 6: Carga SP FF (10 µg) |
| 7: Flujo a través SP FF (6,9 µg) | 8: Lavado SP FF (20 µl) | 9: Elución SP FF (10 µg) |
| 10: Tira SP FF (10 µg) | 11: Carga Q FF (8,9 µg) | 12: Elución Q FF (9,8 µg) |
| 13: Tira Q FF (4,8 µg) | 14: TFF retenido antes del pico 0,04 % TWEEN™ 80 (10 µg) | |
- 15: Volumen purificado Sin filtrar pico de 0,04 % TWEEN™ 80 (10 µg)
 16: Volumen purificado Filtrado estéril pico de 0,04 % TWEEN™ 80 (10 µg)
 17: Volumen purificado Filtrado estéril pico 0,04 % TWEEN™ 80 (20 µg + pico de lisado celular E. Coli Rix (1 µg))
 18: lisado celular E. Coli Rix (2 µg)
 19: lisado celular E. Coli Rix (1 µg)
 20: lisado celular E. Coli Rix (0,5 µg)

Comentarios de las figuras de SDS-PAGE y Transferencia Western: La proteína de fusión PE-PilA migra a 30 kDa. La extracción por choque osmótico extrae la proteína de fusión expresada y procesada en el periplasma bacteriano y reduce la contaminación de la bacteria. Pequeña pérdida de la proteína de fusión durante el tratamiento hipertónico (carril 3). Una pequeña proporción no se extrae por tratamiento hipotónico y se mantiene asociada a las células (carril 5). Pequeña pérdida en el flujo a través de SP FF (carril 7) y en la fracción de tira de ambas columnas (carriles 10 y 13). Ya que el volumen total de la fracción de tira es bajo la pérdida de proteína no es significativa. Las bandas degradadas son visibles en las fracciones de tira pero no en el producto final. No hay contaminación significativa de proteínas de la célula hospedadora *E. coli* en el volumen purificado (carril 16).

- 10 El análisis de LVL735 y LVL778 produjo perfiles similares a LVL31.

Ejemplo 11: Datos de puntos de fusión para PE, PilA y LVL317

La transición térmica de la proteína de fusión PE-PilA sin etiqueta His (LVL317) se comparó con la transición térmica tanto de las proteínas PE etiquetada con his (como se describe en el Ejemplo 8) como PilA escindida (como se describe en el Ejemplo 8), purificadas como se describe anteriormente.

- 15 Antes de la DSC, PE y PilA se dializaron durante toda la noche en 10 mM K₂HPO₄/KH₂PO₄ pH 6,5 + 0,04 % Tween 80 (relación 1:250 volumen de la muestra:del tampón) para tenerlas en el mismo tampón como la proteína de fusión. Después de la diálisis, la concentración de las proteínas se midió por BCA y se ajustó a 300 µg/ml (PE) y 500 µg/ml (PilA).

- 20 El análisis se realizó en VP™-DSC de MicroCal, LLC (parte de GE Healthcare). El tampón de diálisis final se usó como referencia y se sustrajo de los barridos. Velocidad de barrido de DSC 90 °C/h. Para evaluar la capacidad de medir la transición térmica en el Recipiente Final (RF) después de la formulación, la proteína de fusión se diluyó a la concentración RF (60 µg/ml). Datos de recipiente final no mostrados.

Resultados:

- 25 Véase la Figura 17 para la transición térmica de la proteína de fusión Pe-PilA y las proteínas PE y PilA. Curvas: PilA (1), Proteína E (Prot E, PE) (2), PE-PilA PB sin diluir 737mg/ml (3) y PE-PilA PB diluida a la concentración RF 60 µg/ml (4).

1 - PilA	Tm: 53 °C
2 - Proteína E	Tm: 63
3 - PE-PilA PB (Volumen Purificado) sin diluir 737 µg/ml	Tm ₁ : 53,7 °C y Tm ₂ : 66,1 °C
4 - PE-PilA PB diluida a la concentración RF 60 µg/ml	Tm1: 53,2 °C y Tm2: 67,6 °C

Se detectaron dos transiciones en la proteína de fusión purificada (LVL317) (curvas 3 y 4).

La Tm₁ (53,7 °C) de la proteína de fusión PE-PilA es similar a la transición de PilA (53 °C).

- 30 Desplazamiento significativo de Tm₂ en PE-PilA (66,1 °C) en comparación con la transición de PE (63 °C). La fusión de ambos dominios parece estabilizar el fragmento PE.

El desplazamiento de Tm₂ en la proteína de fusión diluida en comparación con la no diluida es un artefacto de concentración que surge de la fuerte pendiente decreciente típica de la agregación que es dependiente de la

concentración.

El análisis del plegamiento de antígenos de LVL735 y LVL778 fueron similares a aquel de LVL317.

Ejemplo 12: Respuesta de inmunogenicidad de la construcción LVL291 de proteína de fusión PE-PilA en ratones Balb/c

5 La respuesta inmune dirigida contra la proteína de fusión PE-PilA LVL291 (la proteína de fusión LVL291 sin el péptido señal heterólogo) formulada en AS03_A se evaluó en ratones Balb/c. Los animales (20 ratones/grupo) se inmunizaron por la vía intramuscular los días 0, 14 y 28 con 10 µg de PE (del vector pRIT16762), PilA (del vector pRIT16790) o PE-PilA, cada uno formulado en AS03_A. El grupo control se vacunó solamente con AS03_A. La
10 respuesta de anticuerpos dirigida contra cada antígeno se determinó en sueros individuales recogidos el día 42. No se obtuvo respuesta de anticuerpos con el control negativo. Como se muestra en la Figura 18, la respuesta de anticuerpos dirigidos contra PilA fue mayor en ratones inmunizados con la fusión PE-PilA en comparación con la respuesta de anticuerpos en ratones inmunizados con PilA monovalente. Las respuestas de anticuerpos dirigidas contra PE fueron similares en ratones inmunizados con la proteína de fusión y ratones inmunizados con PE monovalente. GMT = título de media geométrica. Los datos se capturaron y analizaron con el Software SOFTMAX® Pro (Molecular Devices) en WINDOWS® (Microsoft); la función log logística de cuatro parámetros se usó para
15 calcular la curva patrón. La función log logística de cuatro parámetros describe, con un alto grado de precisión, la curva del suero de referencia que muestra una forma sigmoidea pronunciada cuando se representa en una escala densidad óptica frente a concentración (log). Las concentraciones de anticuerpos se calcularon en cada dilución de muestras de suero de ratón por interpolación de la curva patrón. El anticuerpo en los sueros de control de calidad y
20 en las muestras de suero desconocidas se obtiene promediando los valores de todas las diluciones que caen dentro del intervalo de trabajo (10-80 %) de la curva de dilución de la referencia.

Los resultados se muestran en la Figura 18, que grafica las respuestas de anticuerpos frente a la proteína de fusión PE-PilA LVL291 y contra PE y PilA monovalentes en el modelo de ratón Balb/c.

Ejemplo 13: Modelo de colonización nasofaríngeo murino. Inmunización con PE-PilA. Desafío con NTHi cepa 86-028NP y NTHi cepa 3224A.

25 Ratones hembra balb/c (20/grupo) se inmunizaron intranasalmente los días 0 y 14 con 6 µg de una proteína de fusión PE-PilA purificada (LVL291 para el desafío con 86-028NP; LVL317 para el desafío con la cepa 322A) formulada con LT (toxina lábil al calor de *Escherichia coli*) y el día 28 con 6 µg de una proteína de fusión PE-PilA purificada en tampón fosfato salino (PBS). Los ratones control (20/grupo) se vacunaron con LT sola. Los ratones se
30 desafiaron intranasalmente de forma posterior con 5 x 10⁶ UFC (unidades formadoras de colonias) de NTHi homóloga cepa 86-028NP y NTHi heteróloga cepa 322A. La homología y la heterología se determinan por referencia a la cepa NTHi con la que los ratones se inmunizaron. Se contaron las colonias bacterianas en las cavidades nasales y se retiraron los días 1 y 2 después del desafío. D1 = día 1. D2 = día 2.

35 La vacunación PE-PilA aumentó la desaparición de NTHi cepa 86-028NP y NTHi cepa 322A en la nasofaringe el día 1 y el día 2 después del desafío.

Para el experimento realizado con NTHi cepa 86-028NP: Se realizó un ANOVA fijo de 2 vías usando los valores log₁₀ de los recuentos como respuesta, siendo los factores fijos el grupo (4 niveles) y el día (2 niveles). Se rechazó asumir la heterogeneidad de la varianza y se ajustó a los datos un modelo con varianzas heterogéneas. No se detectó interacción significativa entre los 2 factores. El grupo fusión PE-PilA (6 µg por ratón) redujo
40 significativamente las UFC en comparación con el grupo control (LT); siendo la relación de la media geométrica igual a 0,06 con un intervalo de confianza del 95 % de 0,01, 0,25.

Para el experimento realizado con NTHi cepa 322A: Se realizó un ANOVA fijo de 3 vías usando los valores log₁₀ como respuesta, siendo los factores fijos el grupo, el día y el experimento. El ensayo de Shapiro-Wilk y Levene no rechazó las presunciones de normalidad y homogeneidad de las varianzas. No se detectó interacción significativa
45 entre ninguno de los 2 factores o entre los 3 factores y solamente se mantuvieron los factores principales en el análisis. PE-PilA / LT redujeron significativamente las UFC en comparación con el grupo control; siendo la relación de la media geométrica igual a 0,11 con un intervalo de confianza del 95 % de 0,02, 0,61.

Véase la Figura 19 para el efecto de la vacunación de la proteína de fusión Pe-PilA en la desaparición bacteriana de NTHi cepa 86-028NP en la nasofaringe de ratón.

50 Véase la Figura 20 para el efecto de la vacunación de la proteína de fusión Pe-PilA en la desaparición bacteriana de NTHi cepa 322A en la nasofaringe de ratón.

Ejemplo 14: Modelo de colonización nasofaríngeo murino. Inmunización con PilA. Desafío con NTHi cepa 3219C.

55 Ratones hembra OF1 (20 ratones/grupo) se inmunizaron intranasalmente los días 0 y 14 con 3 µg de PilA (del vector 16790) formulada con LT y el día 28 con 3 µg de PilA en PBS. Los ratones control se vacunaron con LT sola. Los

ratones se desafiaron intranasalmente de forma posterior con 5×10^6 UFC de NTHi cepa 3219C. Se contaron las colonias bacterianas en las cavidades nasales y se retiraron los días 3 y 4 después del desafío. D3 = día 3. D4 = día 4.

Véase la Figura 21 para el efecto de la vacunación de PilA en la desaparición bacteriana en la nasofaringe de ratón.

5 **Ejemplo 15: Modelo de colonización nasofaríngeo murino. Inmunización con PE. Desafío con NTHi cepa 3224A.**

10 Ratones hembra Balb/c (20 ratones/grupo) se inmunizaron intranasalmente los días 0 y 14 con 3 μ g de PE (del vector pRIT16762) formulada con LT y el día 28 con 3 μ g de PilA en PBS. Los ratones control se vacunaron con LT sola. Los ratones se desafiaron intranasalmente de forma posterior con 5×10^6 UFC de NTHi cepa 3224A. Se contaron las colonias bacterianas en las cavidades nasales y se retiraron los días 3 y 4 después del desafío. Se examinaron 10 ratones el día 3 (D3). Se examinaron 10 ratones el día 4 (D4). La vacunación de PE aumentó significativamente la desaparición de NTHi en la nasofaringe el día 4 después del desafío (Figura 22), usando el ensayo de Dunn para el análisis estadístico.

Véase la Figura 22 para el efecto de la vacunación de PE en la desaparición bacteriana en la nasofaringe de ratón.

15 **Ejemplo 16: Unión a Vitronectina. Inhibición de la unión a vitronectina por la proteína de fusión PE-PilA LVL317 y LVL735.**

20 Se evaluó la capacidad de PE en la construcción de proteína de fusión PE-PilA LVL317 para unirse a vitronectina. Unas placas de microtitulación (POLYSORP™, Nunc, Thermo Fisher Scientific) se recubrieron con PE (del vector pRIT16762) o con proteína de fusión PE-PilA LVL317 purificada (10 μ g/ml). Las placas se lavaron cuatro veces con NaCl 150 mM-polisorbato 20, 0,05 % (por ejemplo, TWEEN™ 20) y se bloquearon durante una o dos horas con PBS-BSA al 1 %. Después de cuatro lavados, se añadió vitronectina (Vitronectina de plasma humano, SIGMA-ALDRICH®) (10 μ g/ml), se diluyó dos veces (12 diluciones) y las placas se incubaron durante 1 h a temperatura ambiente. Las placas se lavaron después 4 veces con NaCl 150 mM-polisorbato 20, 0,05 % (por ejemplo, TWEEN™ 20). Después de los lavados, la vitronectina unida se detectó usando peroxidasa de oveja anti-vitronectina humana (US Biological) seguido de la adición de orto-fenilén diamina/sustrato H_2O_2 . El color desarrollado es directamente proporcional a la cantidad de anticuerpo fijado a la vitronectina.

Véase la Figura 23 para (a) proteína de fusión PE-PilA LVL317 unida a vitronectina. PilA = PilA de NTHi cepa 86-028NP (como se describe para pRIT16790); PE = Proteína E (como se describe para pRIT16762) y (b) proteína de fusión PE-PilA LVL317 y LVL735 unidas a vitronectina.

30 **Ejemplo 17: Unión a Vitronectina. Inhibición de la unión a vitronectina por anticuerpos dirigidos contra la proteína de fusión PE-PilA LVL291.**

35 Unas placas de microtitulación (POLYSORP™, Nunc, Thermo Fisher Scientific) se recubrieron con PE (del vector pRIT16762) o con proteína de fusión PE-PilA purificada (10 μ g/ml). Las placas se lavaron cuatro veces con NaCl 150 mM-polisorbato 20, 0,05 % (por ejemplo, TWEEN™ 20) y se bloquearon durante una o dos horas con PBS-BSA al 1 %. Después de los lavados, se añadió vitronectina (Vitronectina de plasma humano, SIGMA-ALDRICH®) a 40 μ g/ml y los anticuerpos anti-PE-PilA purificados (producidos y purificados en el laboratorio) se diluyeron en serie dos veces y se incubaron durante 1 h a temperatura ambiente. Las placas se lavaron después 4 veces con NaCl 150 mM-polisorbato 20, 0,05 % (por ejemplo, TWEEN™ 20). Después de cuatro lavados, la vitronectina unida se detectó usando peroxidasa de oveja anti-vitronectina humana (US Biological) seguido de la adición de orto-fenilén diamina/sustrato H_2O_2 . El color desarrollado es directamente proporcional a la cantidad de anticuerpo fijado a la vitronectina. Se observó la inhibición de la unión de vitronectina a PE por los anticuerpos policlonales dirigidos contra PE-PilA.

Véase la Figura 34 para la inhibición de la unión de vitronectina por los anticuerpos policlonales contra la proteína de fusión PE-PilA.

45 **Ejemplo 18: Antigenicidad de la proteína de fusión PE-PilA LVL291. ELISA.**

50 La proteína de fusión PE-PilA LVL291 purificada se validó en un ensayo de antigenicidad con proteínas monovalentes como control. La proteína de fusión se ensayó en un ELISA de sándwich desarrollado con anticuerpos policlonales (de conejo y de cobaya) generados contra el fragmento génico PE que codifica para los aminoácidos 22 a 160 de SEQ ID NO: 4 (como se describe para pRIT16711) o contra PilA de NTHi cepa 86-028NP (del vector pRIT16790).

55 PilA o PE se añadió a 100 ng/ml y se diluyó en serie dos veces. Después de 30 minutos de incubación y después de lavar, el antígeno unido se detectó por un suero policlonal de conejo obtenido después de la inmunización con PE o PilA. Los anticuerpos unidos se detectaron usando una peroxidasa anti-Ig de conejo (Jackson Immunoresearch Laboratories, Inc.) seguido de la adición de orto-fenilén diamina/sustrato H_2O_2 . El color desarrollado es directamente proporcional a la cantidad de antígeno presente. Las lecturas de absorbancia se midieron usando un

espectrofotómetro para placas de microtitulación. La antigenicidad de las muestras se determinó por comparación con la curva del antígeno de referencia PE de longitud completa o de PiIA de longitud completa y se expresa en ug/ml. La referencia representó el 100 % de antigenicidad.

- 5 Como se observa en la tabla 6: La antigenicidad se observó con la proteína de fusión PE-PiIA LVL291 purificada en comparación con los antígenos PE y PiIA monovalentes.

Tabla 6: Antigenicidad relativa obtenida con la proteína de fusión PE-PiIA LVL291 purificada en el ensayo de antigenicidad.

	Antigenicidad relativa de PE (%)
Proteína E como Referencia	100
PE-PiIA	130-148
	Antigenicidad relativa de PE (%)
Proteína E como Referencia	100
PE-PiIA	120-152

Ejemplo 19: Inmunogenicidad de la proteína de fusión PE-PiIA LVL735.

- 10 Ratones Balb/c hembra (n = 34) se inmunizaron por la vía intramuscular los días 0, 14 y 28 con 50 µl de formulación de vacuna que contenía 1, 0,2 o 0,04 µg de proteína de fusión PE-PiIA LVL317 o LVL735 formuladas con AS01_E o AlPO₄ (fosfato aluminico). Las respuestas de anticuerpos a PE y PiIA se determinaron en sueros individuales recogidos el día 42 y se midió el nivel de IgG contra PE y PiIA y se expresó en µg / ml.

- 15 Véase la Figura 27 para la respuesta de anticuerpos PE y PiIA a LVL317 y LVL735. GMC = concentración media geométrica. GMT = título de media geométrica. IC = intervalos de confianza.

Ejemplo 20: Efectividad protectora de las proteínas de fusión LVL735 y LVL317 en un modelo de ratón de colonización nasofaríngea de *Haemophilus influenzae* no tipificable.

- 20 Ratones Balb/c hembra se inmunizaron intranasalmente los días 0 y 14 con 10 µl de formulación de vacuna que contenía 5,8 µg de LVL735 o LVL317 mezcladas con 0,5 µg de toxina lábil (LT) de *E. coli*. Se administró una dosis potenciadora de 5,8 µg de LVL735 o LVL317 sin adyuvantar el día 28. Los ratones control se vacunaron solamente con LT los días 0 y 14 y PBS el día 28. Los animales se desafiaron intranasalmente con 5 x 10⁶ ufc de NTHi cepa 3224A el día 42. Se contaron las colonias bacterianas en las cavidades nasales y se retiraron los días 1 y 2 después del desafío (n = 10/punto de tiempo). Las cavidades nasales se homogeneizan en el medio y se realiza la cuantificación bacteriana. Los resultados se expresan bien en UFC/ml.

- 25 Véase la Figura 28 para el efecto de la vacunación de LVL735 y LVL317 en la desaparición bacteriana en un modelo de ratón de colonización nasofaríngea de *Haemophilus influenzae* no tipificable.

LISTADO DE SECUENCIAS

- 30 <110> GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A. POOLMAN, JAN BLAIS, NORMAND LABBE, STEVE
- <120> PROTEÍNAS DE FUSIÓN Y VACUNAS DE COMBINACIÓN
- <130> 55075317-28PCT
- 35 <150> 61/474779
- <151> 13-04-2011
- <150> 61/534012
- 40 <151> 13-09-2011
- <160> 219
- <170> FastSEQ para Windows Versión 4.0
- 45 <210> 1
- <211> 25
- <212> PRT
- <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 1

Pro	Lys	Arg	Tyr	Ala	Arg	Ser	Val	Arg	Gln	Tyr	Lys	Ile	Leu	Asn	Cys
1				5					10					15	
Ala	Asn	Tyr	His	Leu	Thr	Gln	Val	Arg							
			20					25							

<210> 2

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 2

Met	His	His	His	His	His	His	His
1						5	

<210> 3

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 3

Gly	Gly	His	His	His	His	His	His
1						5	

<210> 4

<211> 160

<212> PRT

<213> *Haemophilus influenzae*

<400> 4

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

<210> 5

<211> 160

<212> PRT

<213> *Haemophilus influenzae*

<400> 5

```

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

```

5 <210> 6
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

10 <400> 6

```

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

```

15 <210> 7
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

20 <400> 7

```

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

```

<210> 8
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 8

```

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

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

```

<210> 9
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 9

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

<210> 10
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 10

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

<210> 11
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 11

ES 2 658 512 T3

```

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

```

<210> 12
 <211> 159
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 12

```

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

```

<210> 13
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 13

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

<210> 14
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 14

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

<210> 15
 <211> 194
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 15

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

<210> 16
 <211> 195
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*
 <400> 16

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

<210> 17

<211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

5 <400> 17

```

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

<210> 18
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

10

<400> 18

15

```

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

<210> 19
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

20

<400> 19

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

<210> 20

<211> 160

<212> PRT

<213> *Haemophilus influenzae*

<400> 20

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

<210>21

<211> 160

<212> PRT

<213> *Haemophilus influenzae*

<400>21

ES 2 658 512 T3

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

<210> 22
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 22

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

<210> 23
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 23

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

<210> 24
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 24

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

<210> 25
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 25

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

<210> 26
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 26

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

<210> 27
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 27

```

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

```

<210> 28
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 28

```

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

```

<210> 29
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 29

```

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

```

<210> 30
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

 <400> 30

```

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

```

<210> 31
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

 <400> 31

```

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

```

<210> 32
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 32

```

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

Gln Ile Ile Cys Ala Asn Tyr Gly Lys Ala Phe Ser Val Asp Lys Lys
          145          150          155          160

```

<210> 33
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 33

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

<210> 34
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 34

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

<210> 35
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 35

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

<210> 36
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 36

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

<210> 37
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 37

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

<210> 38
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*
 <400> 38

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

<210> 39
 <211> 159
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*
 <400> 39

```

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

```

```

          85          90          95
Asn Cys Ala Asn Tyr His Leu Thr Gln Val Arg Thr Asp Phe Tyr Asp
          100          105          110
Glu Phe Trp Gly Gln Gly Leu Arg Ala Ala Pro Lys Lys Gln Lys Lys
          115          120          125
His Thr Leu Ser Leu Thr Pro Asp Thr Thr Leu Tyr Asn Ala Ala Gln
          130          135          140
Ile Ile Cys Ala Asn Tyr Gly Glu Ala Phe Ser Val Asp Lys Lys
145          150          155

```

<210> 40
 <211> 159
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 40

```

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

```

<210> 41
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 41

```

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

Gln Ile Ile Cys Ala Asn Tyr Gly Lys Ala Phe Ser Val Asp Lys Lys
145          150          155          160

```

<210> 42
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 42

```

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

```

<210> 43
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 43

```

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

```

<210> 44
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 44

```

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

```

<210> 45
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 45

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

<210> 46
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 46

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

<210> 47
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 47

```

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

```

<210> 48
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*
 <400> 48

```

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

```

<210> 49
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*
 <400> 49

```

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

```

<210> 50
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 50

```

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

Gln Ile Ile Cys Ala Asn Tyr Gly Lys Ala Phe Ser Val Asp Lys Lys
145          150          155          160

```

<210> 51
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400>51

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

<210> 52
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 52

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

<210> 53
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 53

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

<210> 54
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 54

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

<210> 55
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 55

ES 2 658 512 T3

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

<210> 56
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*
 <400> 56

5

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

<210> 57
 <211> 159
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*
 <400> 57

10

15

ES 2 658 512 T3

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

<210> 58
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 58

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

<210> 59
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 59

```

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

```

```

Gly Ser Val Thr Gln
145

```

<210> 60
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 60

```

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

```

<210> 61
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 61

ES 2 658 512 T3

```

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

```

<210> 62
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 62

```

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

```

<210> 63
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 63

```

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

```

<210> 64
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 64

```

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

```

<210> 65
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 65

```

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

```

<210> 66
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*
 <400> 66

```

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

```

<210> 67
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*
 <400> 67

```

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

```

<210> 68
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 68

```

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

```

```

Arg Ser Val Thr Lys
145

```

<210> 69
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 69

```

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

```

<210> 70
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 70

```

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

```

<210> 71
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 71

```

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

```

<210> 72
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

 <400> 72

```

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

```

<210> 73
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

 <400> 73

```

Met Lys Leu Thr Thr Gln Gln Thr Leu Lys Lys Gly Phe Thr Leu Ile
 1          5          10          15
Glu Leu Met Ile Val Ile Ala Ile Ile Ala Ile Leu Ala Thr Ile Ala
          20          25          30

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

```

<210> 74
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 74

```

Met Lys Leu Thr Thr Gln Gln Thr Leu Lys Lys Gly Phe Thr Leu Ile
 1          5          10          15
Glu Leu Met Ile Val Ile Ala Ile Ile Ala Ile Leu Ala Thr Ile Ala
          20          25          30

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

```

<210> 75
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 75

```

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

```

```

          85          90          95
Ser Gly Gly Ile Thr Val Lys Gly Asp Gly Thr Leu Ala Asn Met Glu
          100          105          110
Tyr Ile Leu Gln Ala Thr Gly Asn Ala Ala Thr Gly Val Thr Trp Thr
          115          120          125
Thr Thr Cys Lys Gly Thr Glu Ala Ser Leu Phe Pro Ala Asn Phe Cys
          130          135          140
Gly Ser Val Thr Gln
145

```

<210> 76
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 76

```

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

```

<210> 77
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 77

```

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

```

```

Gly Ser Val Thr Gln
145

```

<210> 78
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 78

```

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

```

<210> 79
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 79

```

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

```

<210> 80
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 80

```

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

```

<210> 81
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 81

```

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

```

<210> 82
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 82

```

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

```

<210> 83
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 83

```

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

```

<210> 84
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 84

```

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

```

<210> 85
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 85

```

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

```

<210> 86
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 86

```

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

```

Gly Ser Val Thr Gln
 145

<210> 87
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 87

```

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

```

<210> 88
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 88

```

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

```

<210> 89
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 89

```

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

```

<210> 90
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 90

```

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

```

<210> 91
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 91

```

Met Lys Leu Thr Thr Gln Gln Thr Leu Lys Lys Gly Phe Thr Leu Ile
 1          5          10          15
Glu Leu Met Ile Val Ile Ala Ile Ile Ala Ile Leu Ala Thr Ile Ala
          20          25          30

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

```

<210> 92
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 92

```

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

```

<210> 93
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 93

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

				85				90					95		
Ser	Gly	Gly	Ile	Thr	Val	Lys	Gly	Asn	Gly	Thr	Leu	Thr	Asn	Met	Glu
			100					105					110		
Tyr	Ile	Leu	Gln	Ala	Thr	Gly	Asn	Ala	Ala	Thr	Gly	Val	Thr	Trp	Thr
		115					120					125			
Thr	Thr	Cys	Lys	Gly	Thr	Asp	Ala	Ser	Leu	Phe	Pro	Ala	Asn	Phe	Cys
	130					135					140				
Gly	Ser	Ile	Thr	Gln											
145															

<210> 94
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 94

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

<210> 95
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 95

```

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

```

```

Gly Ser Val Thr Gln
145

```

<210> 96
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 96

```

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

```

<210> 97
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 97

```

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

```

<210> 98
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 98

```

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

```

<210> 99
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 99

```

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

```

<210> 100
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 100

```

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

```

<210> 101
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 101

```

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

```

<210> 102
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 102

```

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

```

<210> 103
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 103

```

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

```

<210> 104
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 104

```

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

Gly Ser Val Thr Gln
145

```

<210> 105
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 105

```

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

```

<210> 106
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<220>
 <221> VARIANTE
 <222> (1)...(149)
 <223> Xaa = glutamina o leucina

<400> 106

```

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

```

<210> 107
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 107

```

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

```

<210> 108
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 108

```

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

```

<210> 109
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 109

```

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

```

<210> 110
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 110

```

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

```

<210> 111
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 111

```

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

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

```

<210> 112
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 112

```

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

```

<210> 113
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 113

```

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

```

```

      100      105      110
Tyr Ile Leu Gln Ala Thr Gly Asn Ala Ala Thr Gly Val Thr Trp Thr
      115      120      125
Thr Thr Cys Lys Gly Thr Asp Ala Ser Leu Phe Pro Ala Asn Phe Cys
      130      135      140
Gly Ser Val Thr Gln
145

```

<210> 114
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 114

```

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

```

<210> 115
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 115

```

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

```

<210> 116
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 116

```

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

```

<210> 117
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 117

```

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

```

<210> 118
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 118

```

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

```

<210> 119
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 119

```

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

```

<210> 120
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 120

```

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

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

```

<210> 121
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 121

```

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

```

<210> 122

<211> 144

<212> PRT

<213> *Haemophilus influenzae*

<400> 122

```

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

          100          105          110
Lys His Thr Leu Ser Leu Thr Pro Asp Thr Thr Leu Tyr Asn Ala Ala
          115          120          125
Gln Ile Ile Cys Ala Asn Tyr Gly Glu Ala Phe Ser Val Asp Lys Lys
          130          135          140

```

<210> 123

<211> 143

<212> PRT

<213> *Haemophilus influenzae*

<400> 123

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

<210> 124
 <211> 142
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 124

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

<210> 125
 <211> 141
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 125

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

<210> 126

<211> 139

5 <212> PRT

<213> *Haemophilus influenzae*

<400> 126

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

10

<210> 127

<211> 110

<212> PRT

15 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 127

```

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

65      70      75      80
Asn Ala Ala Thr Gly Val Thr Trp Thr Thr Thr Cys Lys Gly Thr Asp
85      90      95
Ala Ser Leu Phe Pro Ala Asn Phe Cys Gly Ser Val Thr Gln
100      105      110

```

<210> 128
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 128

```

Pro Lys Arg Tyr Ala Arg Ser Val Arg Gln Tyr Lys Ile Leu Asn Cys
1      5      10      15
Ala Asn Tyr His Leu Thr Gln Val Arg
20      25

```

<210> 129
 <211> 66
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> péptido señal pelB

<400> 129

```

atgaaatacc tgctgccgac cgctgctgct ggtctgctgc tctcgcgtgc ccagccggcg 60
atggcc                                           66

```

<210> 130
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> péptido señal pelB

<400> 130

```

Met Lys Tyr Leu Leu Pro Thr Ala Ala Ala Gly Leu Leu Leu Ala
1      5      10      15
Ala Gln Pro Ala Met Ala
20

```

<210> 131
 <211> 57
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> péptido señal FlgI

<400> 131
atgattaaat ttctctctgc attaattctt ctactgtgca cgacggcggc tcaggct 57

5 <210> 132
<211> 19
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10 <220>
<223> péptido señal Fgl

<400> 132

Met	Ile	Lys	Phe	Leu	Ser	Ala	Leu	Ile	Leu	Leu	Val	Thr	Thr	Ala
1				5					10				15	
Ala	Gln	Ala												

15 <210> 133
<211> 69
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

20 <220>
<223> péptido señal NadA

<400> 133

25 **atgaaacact ttccatccaa agtactgacc acagccatcc ttgocacttt ctgtagcggc 60**
gcactggca 69

30 <210> 134
<211> 23
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

35 <220>
<223> péptido señal NadA

<400> 134

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									
			20												

40 <210> 135
<211> 852
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

45 <220>
<223> LVL312

<400> 135

```

atgattaaat ttctctctgc attaattcct ctactgggtca cgacggcggc tcaggctgag 60
actaaaaaag cagcgggtatc tgaattactg caagcggtcag cgccttataa ggctgatgtg 120
gaattatgtg tatatagcac aaatgaaaca acaaactgta cgggtggaaa aaatggtatt 180
gcagcagata taaccacagc aaaaggctat gtaaaatcag tgacaacaag caacgggtgca 240
ataacagtaa aaggggatgg cacattggca aatatggaat atattttgca agctacaggt 300
aatgctgcaa caggtgtaac ttggacaaca acttgcaaag gaacggatgc ctctttattt 360
ccagcaaatt tttgcggaag tgtcacacaa ggcgcgcgcg agattcagaa ggctgaacaa 420
aatgatgtga agctggcacc gccgactgat gtacgaagcg gatataacg tttggtaaag 480
aatgtgaatt attacatcga tagtgaatcg atctgggtgg ataaccaaga gccacaaatt 540
gtacattttg atgcagtggg gaatttagat aagggattgt atgtttatcc tgagcctaaa 600
cgttatgcac gttctgttcg tcagtataag atcttgaatt gtgcaaatta tcatttaact 660
caagtacgaa ctgattttcta tgatgaattt tggggacagg gtttgcgggc agcacctaaa 720
aagcaaaaaga aacatacgtt aagtttaaca cctgatacaa cgctttataa tgctgctcag 780
attattttgtg cgaactatgg tgaagcattt tcagttgata aaaaaggcgg ccaccaccac 840
caccaccact aa 852

```

<210> 136
 <211> 283
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> LVL312

<400> 136

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

ES 2 658 512 T3

<210> 137
 <211> 855
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> LVL291

10

<400> 137

```

atgaaatacc tgctgccgac cgctgctgct ggtctgctgc tcctcgctgc ccagccggcg 60
atggcccaga ttcagaaggc tgaacaaaat gatgtgaagc tggcaccgcc gactgatgta 120
cgaagcggat atatacgttt ggtaaagaat gtgaattatt acatcgatag tgaatcgatc 180
tgggtggata accaagagcc acaaattgta ctttttgatg cagtggtgaa tttagataag 240
ggattgtatg tttatcctga gcctaaacgt tatgcacgtt ctgttcgtca gtataagatc 300
ttgaattgtg caaattatca tttaactcaa gtacgaactg atttctatga tgaattttgg 360
ggacaggggt tgcgggcagc acctaaaaag caaaagaaac atacgttaag tttaacacct 420
gatacaacgc tttataatgc tgctcagatt atttgtgcga actatggtga agcattttca 480
gttgataaaa aaggcggcac taaaaaagca gcggtatctg aattactgca agcgtcagcg 540
ccttataagg ctgatgtgga attatgtgta tatagcacia atgaaacaac aaactgtacg 600
ggtggaaaaa atggtattgc agcagatata accacagcaa aaggctatgt aaaatcagtg 660
acaacaagca acggtgcaat aacagtaaaa ggggatggca cattggcaaa tatggaatat 720
atthttgcaag ctacaggtaa tgctgcaaca ggtgttaact ggacaacaac ttgcaaagga 780
acggatgcct ctttattttcc agcaaattht tgccggaagt tcacacaagg cggccaccac 840
caccaccacc actaa
855
  
```

15

<210> 138
 <211> 284
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20

<220>
 <223> LVL291

<400> 138

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

<210> 139
 <211> 852
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> LVL268

<400> 139

```

atgaaatacc tgcctgccgac cgctgctgct ggtctgctgc tcctcgctgc ccagccggcg 60
atggccgata ttcagaaggc tgaacaaaat gatgtgaagc tggcaccgcc gactgatgta 120
cgaagcggat atatacgttt ggtaaagaat gtgaattatt acatcgatag tgaatcgatc 180
tgggtggata accaagagcc acaaattgta cattttgatg cagtggtgaa tttagataag 240
ggattgtatg tttatcctga gcctaaacgt tatgcacgtt ctgttcgtca gtataagatc 300
ttgaattgtg caaattatca tttaactcaa gtacgaactg atttctatga tgaattttgg 360
ggacagggtt tgcgggcagc acctaataag caaaagaaac atacgttaag tttaacacct 420
gatacaacgc tttataatgc tgctcagatt atttgtgcga actatgggtga agcattttca 480
gttgataaaa aaggcggcac taaaaaagca gcggtatctg aattactgca agcgtcagcg 540
ccttataagg ctgatgtgga attatgtgta tatagcacia atgaaacaac aaactgtacg 600
ggtggaaaaa atggtattgc agcagatata accacagcaa aaggctatgt aaaatcagtg 660
acaacaagca acggtgcaat aacagtaaaa ggggatggca cattggcaaa tatggaatat 720
atgttgcaag ctacaggtaa tgctgcaaca ggtgtaactt ggacaacaac ttgcaaagga 780
acggatgcct ctttatttcc agcaaatatt tgccggaagtg tcacacaagg cggccaccac 840
caccaccacc ac                                     852
    
```

5
 <210> 140
 <211> 284
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> LVL268

10
 <400> 140

```

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

```

15
 <210> 141
 <211> 867
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> LVL269

20
 <400> 141

```

atgaaacact ttccatccaa agtactgacc acagccatcc ttgccacttt ctgtagcggc 60
gcactggcag ccacaaacga cgacgataag gctgaacaaa atgatgtgaa gctggcaccg 120
ccgactgatg tacgaagcgg atatatacgt ttggtaaaga atgtgaatta ttacatcgat 180
agtgaatcga tctgggtgga taaccaagag ccacaaattg tacattttga tgcagtggtg 240
aatttagata agggattgta tgtttatcct gaggcctaaac gttatgcacg ttctgttcgt 300
cagtataaga tcttgaattg tgcaaattat catttaactc aagtacgaac tgatttctat 360
gatgaatttt ggggacaggg ttigcgggca gcacctaataa agcaaaaagaa acatacgtta 420
agtttaaacac ctgatacaaac gctttataat gctgctcaga ttatttgtgc gaactatggg 480
gaagcatttt cagttgataa aaaaggcggc actaaaaaag cagcgggtatc tgaattactg 540
caagcgtcag cgccttataa ggctgatgtg gaattatgtg tatatagcac aaatgaaaca 600
acaaactgta cgggtggaaa aaatgggtatt gcagcagata taaccacagc aaaaggctat 660
gtaaaatcag tgacaacaag caacggtgca ataacagtaa aaggggatgg cacattggca 720
aatatggaat atattttgca agctacaggt aatgctgcaa caggtgtaac ttggacaaca 780
acttgcaaaag gaacgggatgc ctctttattt ccagcaaatt ttgcggaag tgtcacacaa 840
ggcggccacc accaccacca ccactaa 867

```

<210> 142
 <211> 288
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> LVL269

<400> 142

```

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

```

ES 2 658 512 T3

<210> 143
 <211> 792
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> LVL270

10

<400> 143

```

atgcaccacc accaccacca cagcgcgcag attcagaagg ctgaacaaaa tgatgtgaag 60
ctggcaccgc cgactgatgt acgaagcgga tatatacgtt tggtaaagaa tgtgaattat 120
tacatcgata gtgaatcgat ctgggtggat aaccaagagc cacaaattgt acattttgat 180
gcagtgggtga atttagataa gggattgtat gtttatcctg agcctaaacg ttatgcacgt 240
tctgttcgtc agtataagat cttgaattgt gcaaattatc atttaactca agtacgaact 300
gattttctatg atgaattttg gggacagggt ttgcgggcag cacctaaaaa gcaaaagaaa 360
catacgttaa gtttaacacc tgatacaacg ctttataatg ctgctcagat tatttgtgcg 420
aactatgggtg aagcattttc agttgataaa aaaggcggca ctaaaaaagc agcggtatct 480
gaattactgc aagcgtcagc gccttataag gctgatgtgg aattatgtgt atatagcaca 540
aatgaaacaa caaactgtac ggggtgaaaa aatgggtattg cagcagatat aaccacagca 600
aaaggctatg taaaatcagt gacaacaagc aacggtgcaa taacagtaaa aggggatggc 660
acattggcaa atatggaata tattttgcaa gctacaggta atgctgcaac aggtgtaact 720
tggaacaaca cttgcaaagg aacggatgcc tctttatttc cagcaaattt ttgcggaagt 780
gtcacacaat aa 792
  
```

<210> 144
 <211> 263
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> LVL270

20

<400> 144

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

<210> 145
 <211> 852
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> LVL315

<400> 145

atgaaataacc	tgetgccgac	cgctgctgct	ggtctgctgc	tctctgctgc	ccagccggcg	60
atggccatgg	ataaggctga	acaaaatgat	gtgaagctgg	caccgccgac	tgatgtacga	120
agcggatata	tacgttttgt	aaagaatgtg	aattattaca	tcgatagtga	atcgatctgg	180
gtggataacc	aagagccaca	aattgtacat	tttcatgcag	tggtgaattt	agataaggga	240
ttgtatgttt	atcctgagcc	taaacgttat	gcacgttctg	ttcgtcagta	taagatcttg	300
aattgtgcaa	attatcattt	aactcaagta	cgaactgatt	tctatgatga	attttgggga	360
cagggtttgc	gggcagcacc	taaaaagcaa	aagaaacata	cgtaagttt	aacacctgat	420
acaacgcttt	ataatgctgc	tcagattatt	tgtgcgaact	atggtgaagc	attttcagtt	480
gataaaaaag	gcggcactaa	aaaagcagcg	gtatctgaat	tactgcaagc	gtcagcgcc	540
tataaggctg	atgtggaatt	atgtgtatat	agcacaaatg	aaacaacaaa	ctgtacgggt	600
ggaaaaaatg	gtattgcagc	agatataacc	acagcaaaaag	gctatgtaaa	atcagtgcga	660
acaagcaacg	gtgcaataac	agtaaaaagg	gatggcacat	tggcaaatat	ggaatatatt	720
ttgcaagcta	caggtaatgc	tgcaacaggt	gtaacttgga	caacaacttg	caaaggaacg	780
gatgcctctt	tatttccagc	aaatttttgc	ggaagtgtca	cacaaggcgg	ccaccaccac	840
caccaccact	aa					852

<210> 146
 <211> 283
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> LVL315

<400> 146

10

```

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

```

<210> 147
 <211> 831
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> LVL317

20

<400> 147

```

atgaaatacc tgcgtccgac cgctgctgct ggtctgctgc tcctcgctgc ccagccggcg 60
atggccocaga ttcagaaggc tgaacaaaat gatgtgaagc tggcacccgc gactgatgta 120
cgaagcgggat atatacgttt ggtaaagaat gtgaattatt acatcgatag tgaatcgatc 180
tgggtgggata accaagagcc acaaattgta cattttgatg cagtgggtgaa tttagataag 240
ggattgtatg tttatcctga gcctaaacgt tatgcacgtt ctgttcgtca gtataagatc 300
ttgaattgtg caaattatca ttttaactcaa gtacgaactg atttctatga tgaatttttg 360
ggacaggggtt tgcgggcagc acctaaaaag caaaagaaac atacgttaag tttaacacct 420
gatacaacgc tttataatgc tgctcagatt atttgtgcga actatgggtga agcattttca 480
gttgataaaa aaggcgggcac taaaaaagca gcggtatctg aattactgca agcgtcagcg 540
ccttataagg ctgatgtgga attatgtgta tatagcacia atgaaacaac aaactgtacg 600
ggtggaaaaa atggtattgc agcagatata accacagcaa aaggctatgt aaaatcagtg 660
acaacaagca acggtgcaat aacagtaaaa ggggatggca cattggcaaa tatggaatat 720
atgttgcaag ctacaggtaa tgctgcaaca ggtgtaactt ggacaacaac ttgcaaagga 780
acggatgcct ctttatttcc agcaaatttt tgcgggaagtg tcacacaata a 831

```

<210> 148

<211> 276

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> LVL317

<400> 148

```

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

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

```

ES 2 658 512 T3

<210> 149
 <211> 828
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> LVL318

<400> 149

10

```

atgaaatacc tgctgccgac cgctgctgct ggtctgctgc tcctcgctgc ccagccggcg 60
atggccatgg ataaggctga acaaaatgat gtgaagctgg caccgccgac tgatgtacga 120
agcggatata tacgttttgt aaagaatgtg aattattaca tcgatagtga atcgatctgg 180
gtggataacc aagagccaca aattgtacat tttgatgcag tggatgaattt agataaggga 240
ttgtatgttt atcctgagcc taaacgttat gcacgttctg ttcgtcagta taagatcttg 300
aattgtgcaa attatcattt aactcaagta cgaactgatt tctatgatga attttgggga 360
cagggtttgc gggcagcacc taaaaagcaa aagaaacata cgttaagttt aacacctgat 420
acaacgcttt ataatgctgc tcagattatt tgtgcgaact atggtgaagc attttcagtt 480
gataaaaaag gcggcactaa aaaagcagcg gtatctgaat tactgcaagc gtcagcgccct 540
tataaggctg atgtggaatt atgtgtatat agcacaaatg aaacaacaaa ctgtacgggt 600
ggaaaaaatg gtattgcagc agatataacc acagcaaaaag gctatgtaaa atcagtgaca 660
acaagcaacg gtgcaataac agtaaaaggg gatggcacat tggcaaatat ggaatatatt 720
ttgcaagcta caggtaatgc tgcaacaggt gtaacttggg caacaacttg caaaggaacg 780
gatgcctctt tatttccagc aaatttttgc ggaagtgtca cacaataa 828
  
```

<210> 150
 <211> 275
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> LVL318

20

<400> 150

```

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

```

<210> 151
 <211> 483
 <212> ADN
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 151

```

atgaaaaaaaa ttattttaac attatcactt gggttactta ccgcttggtc tgctcaaata 60
caaaaggctg aacaaaatga tgtgaagctg gcaccgccga ctgatgtacg aagcggatat 120
atacgtttgg taaagaatgt gaattattac atcgatagtg aatcgatctg ggtggataac 180
caagagccac aaattgtaca ttttgatgct gtggtgaatt tagatagggg attgtatggt 240
tatactgagc ctaaacgtta tgcacgttct gttcgtcagt ataagatttt gaattgtgca 300
aattatcatt taactcaaata acgaactgat ttctatgatg aattttgggg acagggtttg 360
cgggcagcac ctaaaaagca aaagaaacat acgttaagtt taacacctga tacaacgctt 420
tataatgctg ctcagattat ttgtgcaaata tatggtaaag cattttcagt tgataaaaaa 480
taa
483

```

<210> 152
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 152

Met Lys Lys Ile Ile Leu Thr Leu Ser Leu Gly Leu Leu Thr Ala Cys

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

<210> 153
 <211> 480
 <212> ADN
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 153

atgaaaaaaa	ttattttaac	attatcactt	gggttactta	ctgcctgttc	tgctcaaate	60
caaaaggcta	aacaaaatga	tgtgaagctg	gcaccgccga	ctgatgtacg	aagcggatat	120
atacgtttgg	taaagaatgt	gaattattac	atcgatagtg	aatcgatctg	ggtggataac	180
caagagccac	aaattgtaca	ttttgatgca	gtggtgaatt	tagataaggg	attgtatgtt	240
tatcctgagc	ctaaacgtta	tgcacgttct	gttcgtcagt	ataagatcct	gaattgtgca	300
aattatcatt	taactcaagt	acgaactgat	ttctatgatg	aattttgggg	acagggtttg	360
cgggcagcac	ctaaaaagca	aaagaaacat	acgttaagtt	taacacctga	tacaacgctt	420
tataatgctg	ctcagattat	ttgtgcgaac	tatggtgaag	catttttcagt	tgataaaaaa	480

<210> 154
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 154

ES 2 658 512 T3

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

<210> 155
 <211> 91
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Cebador

<400> 155

cacacacata tgattaaatt tctctctgca ttaattcttc tactgggtcac gacggcggt 60
caggctgaga ctaaaaaagc agcggatatct g 91

<210> 156
 <211> 66
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Cebador

<400> 156

tgtgtgaagc ttttagtggt ggtggtggtg gtggcgcgt tactgtgacac ttccgcaaaa 60
atttgc 66

<210> 157
 <211> 58
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Cebador

<400> 157
 ttgcggaag tgtcacacaa ggccggcgcg agattcagaa ggctgaacaa aatgatgt 58

<210> 158
 <211> 58
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>

ES 2 658 512 T3

<223> Cebador
 <400> 158
 5 acatcatttt gttcagcctt ctgaatctgc gcgcccgcctt gtgtgacact tccgcaaa 58
 <210> 159
 <211> 59
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 159
 15 tgtgtgaagc ttttagtggt ggtggtggtg gtggccgcct ttttatcaa ctgaaaatg 59
 <210> 160
 <211> 65
 <212> ADN
 20 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Cebador
 25 <400> 160
 cacacacata tgcaccacca ccaccaccac agcgcgcaga ttcagaaggc tgaacaaaat 60
 gatgt 65
 <210> 161
 30 <211> 46
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 35 <223> Cebador
 <400> 161
 cattttcagt tgataaaaaa ggccgcacta aaaaagcagc ggtatc 46
 40 <210> 162
 <211> 46
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 45 <223> Cebador
 <400> 162
 gataccgctg ctttttagt gccgccttt ttatcaactg aaaatg 46
 50 <210> 163
 <211> 35
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 55 <220>
 <223> Cebador
 <400> 163
 60 tgtgtgaagc ttttattgtg tgacacttcc gcaaa 35
 <210> 164
 <211> 104
 <212> ADN
 65 <213> Secuencia artificial

ES 2 658 512 T3

<220>
 <223> Cebador

 <400> 164
 5
 cacacacata tgaaatacct gctgccgacc gctgctgctg gtctgctgct cctcgctgcc 60
 cagccggcga tggcccagat tcagaaggct gaacaaaatg atgt 104

 <210> 165
 <211> 49
 10 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Cebador
 15

 <400> 165
 gcatttcag ttgataaaaa aggcggcact aaaaaagcag cggatatcg 49

 <210> 166
 20 <211> 49
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 25 <223> Cebador

 <400> 166
 cagataccgc tgcttttta gtgccgcctt tttatcaac tgaaaatgc 49

 <210> 167
 30 <211> 104
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 35 <223> Cebador

 <400> 167

 cacacacata tgaaatacct gctgccgacc gctgctgctg gtctgctgct cctcgctgcc 60
 40 **cagccggcga tggccgatat tcagaaggct gaacaaaatg atgt 104**

 <210> 168
 <211> 115
 45 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Cebador

 <400> 168
 50
 cacacacata tgaaacaactt tccatccaaa gtactgacca cagccatcct tgccactttc 60
 tgtagcggcg cactggcagc cacaaacgac gacgataagg ctgaacaaaa tgatg 115

 <210> 169
 55 <211> 35
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 60 <223> Cebador

 <400> 169

	gccggcgatg gccatggata aggctgaaca aaatg	35
5	<210> 170 <211> 35 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
10	<220> <223> Cebador	
	<400> 170 catttggctc agccttatcc atggccatcg ccggc	35
15	<210> 171 <211> 34 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
20	<220> <223> Cebador	
25	<400> 171 ggaagtgtca cacaataagg cggccaccac cacc	34
30	<210> 172 <211> 34 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
35	<220> <223> Cebador	
40	<400> 172 ggtgggtgtg gccgccttat tgtgtgacac ttcc	34
45	<210> 173 <211> 54 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
50	<220> <223> Cebador	
55	<400> 173 gaattccata tgcaccatca ccatcaccat actaaaaaag cagcgggtatc tgaa	54
60	<210> 174 <211> 32 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
65	<220> <223> Cebador	
	<400> 174 gcgccgctcg agtcattgtg tgacacttcc gc	32
	<210> 175 <211> 43 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
	<220> <223> Cebador	
	<400> 175	

gcccagccgg cgatggccca gatccagaag gctgaacaaa atg 43

<210> 176
<211> 43
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador

<400> 176
cattttgttc agccttctgg atctggggcca tcgccggctg ggc 43

<210> 177
<211> 254
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Proteína de fusión

<400> 177

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

<210> 178
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 178

Ala Thr Asn Asp Asp Asp
1 5

5 <210> 179
<211> 138
<212> PRT
<213> *Haemophilus influenzae*

10 <400> 179

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

15 <210> 180
<211> 137
<212> PRT
<213> *Haemophilus influenzae*

20 <400> 180

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

25 <210> 181
<211> 849
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> LVL702

<400> 181

5

```

atgaaatacc tgctgccgac cgctgctgct ggtctgctgc tctctgctgc ccagccggcg 60
atggccattc agaaggctga acaaaatgat gtgaagctgg caccgccgac tgatgtacga 120
agcggatata tacgttttgt aaagaatgtg aattattaca tcgatagtga atcgatctgg 180
gtggataacc aagagccaca aattgtacat tttgatgcag tggagaattt agataaggga 240
ttgtatgttt atcctgagcc taaacgttat gcacgttctg ttcgtcagta taagatcttg 300
aattgtgcaa attatcattt aactcaagta cgaactgatt tctatgatga attttgggga 360
cagggtttgc gggcagcacc taaaaagcaa aagaaacata cgtaagttt aacacctgat 420
acaacgcttt ataatgctgc tcagattatt tgtgcgaact atgggtgaagc attttcagtt 480
gataaaaaag gcggcactaa aaaagcagcg gtatctgaat tactgcaagc gtcagcgcct 540
tataaggctg atgtggaatt atgtgtatat agcacaaatg aaacaacaaa ctgtacgggt 600
ggaaaaaatg gtattgcagc agatataacc acagcaaaag gctatgtaaa atcagtgaca 660

acaagcaacg gtgcaataac agtaaaaggg gatggcacat tggcaaatat ggaatatatt 720
ttgcaagcta caggtaatgc tgcaacaggt gtaacttgga caacaacttg caaaggaacg 780
gatgcctctt tatttccagc aaatttttgc ggaagtgtca cacaaggcgg ccaccaccac 840
caccaccac
849

```

<210> 182
<211> 283
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

10

<220>
<223> LVL702

15

<400> 182

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

<210> 183
 <211> 858
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> LVL736

<400> 183

```

atgaaatacc tgctgccgac cgctgctgct ggtctgctgc tctctgctgc ccagccggcg 60
atggccagcg cccagattca gaaggctgaa caaatgatg tgaagctggc accgccgact 120
gatgtacgaa gcggatatat acgtttggta aagaatgtga attattacat cgatagttaa 180
tcgatctggg tggataacca agagccacaa attgtacatt ttgatgcagt ggtgaattta 240
gataagggat tgtatgttta tctgagcct aaacgttatg cacgttctgt tcgtcagtat 300
aagatcttga attgtgcaaa ttatcattta actcaagtac gaactgattt ctatgatgaa 360
ttttggggac agggtttgcg ggcagcacct aaaaagcaaa agaaacatac gttaagttaa 420
acacctgata caacgcttta taatgctgct cagattattt gtgcgaacta tggatgaagca 480
ttttcagttg ataaaaaagg cggcactaaa aaagcagcgg tatctgaatt actgcaagcg 540
tcagcgcctt ataaggctga tgtggaatta tgtgtatata gcacaaatga aacaacaaac 600
tgtacgggtg gaaaaaatgg tattgcagca gatataacca cagcaaaagg ctatgtaaaa 660
tcagtgcacaa caagcaacgg tgcaataaca gtaaaagggg atggcacatt ggcaaatatg 720
gaatatattt tgcaagctac aggtaatgct gcaacaggtg taacttggac aacaacttgc 780
aaaggaacgg atgcctcttt atttccagca aatttttgcg gaagtgtcac acaaggcggc 840
caccaccacc accaccac

```

<210> 184
 <211> 286
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> LVL736

10

<400> 184

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

<210> 185
 <211> 855
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> LVL737

20

<400> 185

ES 2 658 512 T3

```

atgaaatacc tgctgccgac cgctgctgct ggtctgctgc tcctcgctgc ccagccggcg 60
atggccgccc agattcagaa ggctgaacaa aatgatgtga agctggcacc gccgactgat 120
gtacgaagcg gatataacg tttggtaaag aatgtgaatt attacatcga tagtgaatcg 180
atctgggtgg ataaccaaga gccacaaatt gtacattttg atgcagtggg gaatttagat 240
aagggtattgt atgtttatcc tgagcctaaa cgttatgcac gttctgttcg tcagtataag 300
atcttgaatt gtgcaaatta tcatttaact caagtacgaa ctgatttcta tgatgaattt 360
tggggacagg gtttgccggc agcacctaaa aagcaaaaga aacatacgtt aagtttaaca 420
cctgatacaa cgctttataa tgctgctcag attatttgtg cgaactatgg tgaagcattt 480
tcagttgata aaaaaggcgg cactaaaaaa gcagcgggtat ctgaattact gcaagcgtca 540
gogccttata aggtgatgt ggaattatgt gtatatagca caaatgaaac aacaaactgt 600
acgggtggaa aaaatggtat tgcagcagat ataaccacag caaaaggcta tgtaaaatca 660
gtgacaacaa gcaacggtgc aataacagta aaaggggatg gcacattggc aaatatggaa 720
tatattttgc aagctacagg taatgctgca acaggtgtaa cttggacaac aacttgcaaa 780
ggaacggatg cctctttatt tccagcaaat ttttgcgga gtgtcacaca aggcggccac 840
caccaccacc accac 855

```

<210> 186
 <211> 285
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> LVL737

<400> 186

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

<210> 187
<211> 843
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> LVL738

<400> 187

```

atgaaatacc tgctgccgac cgctgctgct ggtctgctgc tcctcgtgc ccagccggcg 60
atggccaagg ctgaacaaaa tgatgtgaag ctggcaccgc cgactgatgt acgaagcgga 120
tatatacgtt tggtaaaagaa tgtgaattat tacatcgata gtgaatcgat ctgggtggat 180
aaccaagagc cacaaattgt acattttgat gcagtgggta atttagataa gggattgtat 240
gtttatcctg agcctaaacg ttatgcacgt tctgttcgtc agtataagat cttgaattgt 300
gcaaattatc atttaactca agtacgaact gatttctatg atgaattttg gggacagggt 360
ttgcgggcag cacctaaaaa gcaaaagaaa catacgttaa gtttaacacc tgatacaacg 420
ctttataatg ctgctcagat tatttgtgcg aactatgggtg aagcattttc agttgataaa 480
aaaggcggca ctaaaaaagc agcgggtatct gaattactgc aagcgtcagc gccttataag 540
gctgatgtgg aattatgtgt atatagcaca aatgaaacaa caaactgtac ggggtgaaaa 600
aatggtattg cagcagatat aaccacagca aaaggctatg taaaatcagt gacaacaagc 660
aacggtgcaa taacagtaaa aggggatggc acattggcaa atatggaata tattttgcaa 720
gctacaggta atgctgcaac aggtgtaact tggacaacaa cttgcaaagg aacggatgcc 780
tctttatttc cagcaaatth ttgcggaagt gtcacacaag gcggccacca ccaccaccac 840
cac

```

<210> 188
 <211> 281
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> LVL738

<400> 188

```

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

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

```

ES 2 658 512 T3

<210> 189
 <211> 840
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> LVL739

10

<400> 189

```

atgaaatacc tgctgccgac cgctgctgct ggtctgctgc tctctgctgc ccagccggcg 60
atggcgctg aacaaaatga tgtgaagctg gcaccgccga ctgatgtacg aagcggatat 120
atacgtttgg taaagaatgt gaattattac atcgatagtg aatcgatctg ggtggataac 180
caagagccac aaattgtaca ttttgatgca gtggtgaatt tagataaggg attgtatgtt 240
tatoctgagc ctaaacgtta tgcacgttct gttcgtcagt ataagatctt gaattgtgca 300
aattatcatt taactcaagt acgaactgat ttctatgatg aattttgggg acagggtttg 360
cgggcagcac ctaaaaagca aaagaaacat acgttaagtt taacacctga tacaacgctt 420
tataatgctg ctcagattat ttgtgcgaac tatggtgaag cattttcagt tgataaaaaa 480
ggcggcacta aaaaagcagc ggtatctgaa ttactgcaag cgtcagcgcc ttataaggct 540
gatgtggaat tatgtgtata tagcacaaat gaaacaacaa actgtacggg tggaaaaaat 600
ggtattgcag cagatataac cacagcaaaa ggctatgtaa aatcagtgac aacaagcaac 660
ggtgcaataa cagtaaaagg ggatggcaca ttggcaaata tggaatatat ttgcaagct 720
acaggtaatg ctgcaacagg tgtaacttgg acaacaactt gcaaaggaac ggatgcctct 780
ttatttccag caaatttttg cggaagtgtc acacaaggcg gccaccacca ccaccaccac 840
  
```

<210> 190
 <211> 280
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> LVL739

20

<400> 190

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

<210> 191
 <211> 837
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> LVL740

<400> 191

```

atgaaatacc tgctgccgac cgctgctgct ggtctgctgc tcctcgctgc ccagccggcg 60
atggccgaac aaaatgatgt gaagctggca ccgccgactg atgtacgaag cggatatata 120
cgtttggtta agaattgtgaa ttattacatc gatagtgaat cgatctgggt ggataacca 180
gagccacaaa ttgtacattt tgatgcagtg gtgaatttag ataagggatt gtatgtttat 240
cctgagccta aacgttatgc acgttctgtt cgtcagtata agatcttgaa ttgtgcaa 300
tatcatttaa ctcaagtaag aactgatttc tatgatgaat tttggggaca gggtttgccg 360
gcagcaccta aaaagcaaaa gaaacatacg ttaagtttaa cacctgatac aacgctttat 420
aatgctgctc agattatttg tgcgaactat ggtgaagcat tttcagttga taaaaaaggc 480
ggcactaaaa aagcagcggg atctgaatta ctgcaagcgt cagcgcctta taaggctgat 540
gtggaattat gtgtatatag cacaaatgaa acaacaaact gtacgggtgg aaaaaatgg 600
attgcagcag atataaccac agcaaaaggc tatgtaaaat cagtgcacaac aagcaacgg 660
gcaataacag taaaagggga tggcacattg gcaaatatgg aatatatttt gcaagctaca 720
ggtaatgctg caacaggtgt aacttggaca acaacttgca aaggaacgga tgcctcttta 780
tttccagcaa atttttgcgg aagtgtcaca caaggcggcc accaccacca ccaccac 837

```

<210> 192
 <211> 279
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> LVL740

<400> 192

```

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

```

ES 2 658 512 T3

<210> 193
 <211> 825
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> LVL735

10

<400> 193

```

atgaaatacc tgctgccgac cgctgctgct ggtctgctgc tcctcgctgc ccagccggcg 60
atggccattc agaaggctga acaaaatgat gtgaagctgg caccgccgac tgatgtacga 120
agcggatata tacgttttgt aaagaatgtg aattattaca tcgatagtga atcgatctgg 180
gtggataaacc aagagccaca aattgtacat tttgatgcag tggatgaattt agataaggga 240
ttgtatgttt atcctgagcc taaacgttat gcacgttctg ttcgtcagta taagatcttg 300
aattgtgcaa attatcattt aactcaagta cgaactgatt tctatgatga attttgggga 360
cagggtttgc gggcagcacc taaaaagcaa aagaaacata cgtaaagttt aacacctgat 420
acaacgcttt ataatgctgc tcagattatt tgtgcgaact atggtgaagc attttcagtt 480
gataaaaaag gcggcactaa aaaagcagcg gtatctgaat tactgcaagc gtcagcgcct 540
tataaggctg atgtggaatt atgtgtatat agcacaaatg aaacaacaaa ctgtacgggt 600
ggaaaaaatg gtattgcagc agatataacc acagcaaaaag gctatgtaaa atcagtgaca 660
acaagcaacg gtgcaataac agtaaaaggg gatggcacat tggcaaatat ggaatatatt 720
ttgcaagcta caggtaatgc tgcaacaggt gtaacttgga caacaacttg caaaggaacg 780
gatgcctctt tatttccagc aaatttttgc ggaagtgtca caca 825
  
```

<210> 194
 <211> 275
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> LVL735

20

<400> 194

```

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

```

<210> 195
 <211> 834
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> LVL778

<400> 195

ES 2 658 512 T3

```

atgaaatacc tgctgccgac cgctgctgct ggtctgctgc tcctcgctgc ccagccggcg 60
atggccagcg cccagattca gaaggctgaa caaatgatg tgaagctggc accgccgact 120
gatgtacgaa gcggatatat acgtttggta aagaatgtga attattacat cgatagtga 180
tcgatctggg tggataacca agagccacaa attgtacatt ttgatgcagt ggtgaattta 240
gataagggat tgtatgttta tcctgagcct aaacggtatg cacgttctgt tcgtcagtat 300
aagatcttga attgtgcaaa ttatcattta actcaagtac gaactgattt ctatgatgaa 360
ttttggggac aggggtttgcg ggcagcacct aaaaagcaaa agaaacatac gttaagttta 420
acacctgata caacgcttta taatgctgct cagattattt gtgcgaacta tgggtgaagca 480
ttttcagttg ataaaaaagg cggcactaaa aaagcagcgg tatctgaatt actgcaagcg 540
tcagcgccctt ataaggctga tgtggaatta tgtgtatata gcacaaatga aacaacaaac 600
tgtacgggtg gaaaaaatgg tattgcagca gatataacca cagcaaaagg ctatgtaaaa 660
tcagtgacaa caagcaacgg tgcaataaca gtaaaagggg atggcacatt ggcaaatatg 720
gaatatattt tgcaagctac aggtaatgct gcaacaggtg taacttggac aacaacttgc 780

```

```

aaaggaacgg atgcctcttt atttccagca aatttttgcg gaagtgtcac acaa 834

```

<210> 196
 <211> 278
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> LVL778

<400> 196

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

<210> 197
 <211> 831
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> LVL779

<400> 197

```

atgaaatacc tgctgccgac cgctgctgct ggtctgctgc tcctcgctgc ccagccggcg 60
atggccgccc agattcagaa ggctgaacaa aatgatgtga agctggcacc gccgactgat 120
gtacgaagcg gatataacg ttgggtaaag aatgtgaatt attacatcga tagtgaatcg 180
atctgggtgg ataaccaaga gccacaaatt gtacattttg atgcagtggg gaatttagat 240
aagggtattg atgtttatcc tgagcctaaa cgttatgcac gttctgttcg tcagtataag 300
atcttgaatt gtgcaaatta tcatttaact caagtacgaa ctgatttcta tgatgaattt 360
tggggacagg gtttgcgggc agcacctaaa aagcaaaaga aacatacgtt aagttaaca 420
cctgatacaa cgctttataa tgctgctcag attatttgtg cgaactatgg tgaagcattt 480
tcagttgata aaaaaggcgg cactaaaaaa gcagcgggat ctgaattact gcaagcgtca 540
gogccttata aggctgatgt ggaattatgt gtatatagca caaatgaaac aacaaaactgt 600
acgggtggaa aaaatgggtat tgcagcagat ataaccacag caaaaggcta tgtaaaatca 660
gtgacaacaa gcaacgggtg aataacagta aaaggggatg gcacattggc aaatatggaa 720
tatattttgc aagctacagg taatgctgca acaggtgtaa cttggacaac aacttgcaaa 780
ggaacgggatg cctctttatt tccagcaaat ttttgcggaa gtgtcacaca a 831
    
```

<210> 198
 <211> 277
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> LVL779

<400> 198

10

```

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

<210> 199
 <211> 819
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> LVL780

20

<400> 199

```

atgaaatacc tgctgccgac cgctgctgct ggtctgctgc tcctcgctgc ccagccggcg 60
atggccaagg ctgaacaaaaa tgatgtgaag ctggcaccgc cgactgatgt acgaagcgga 120
tatatacgtt tggtaaagaa tgtgaattat tacatcgata gtgaatcgat ctgggtggat 180
aaccaagagc cacaaattgt acattttgat gcagtgggtga atttagataa gggattgtat 240
gtttatcctg agcctaaacg ttatgcacgt tctgttcgtc agtataagat cttgaattgt 300
gcaaattatc atttaactca agtacgaact gatttctatg atgaattttg gggacagggt 360
ttgcgggcag cacctaaaaa gcaaaagaaa catacgttaa gtttaacacc tgatacaacg 420
ctttataatg ctgctcagat tatttgtgcy aactatgggtg aagcattttc agttgataaa 480
aaaggcggca ctaaaaaagc agcgggtatct gaattactgc aagcgtcagc gccttataag 540
gctgatgtgg aattatgtgt atatagcaca aatgaaacaa caaactgtac ggggtggaaa 600
aatggtattg cagcagatat aaccacagca aaaggctatg taaaatcagt gacaacaagc 660
aacggtgcaa taacagtaaa aggggatggc acattggcaa atatggaata tattttgcaa 720
gctacaggta atgctgcaac aggtgtaact tggacaacaa cttgcaaagg aacggatgcc 780
tctttatttc cagcaaattt ttgcgggaagt gtcacacaa 819

```

<210> 200
 <211> 273
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> LVL780

<400> 200

```

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

```

<210> 201
 <211> 816
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> LVL781

10

<400> 201

```

atgaaatacc tgctgccgac cgctgctgct ggtctgctgc tcctcgctgc ccagccggcg 60
atggccgctg aacaaaatga tgtgaagctg gcaccgccga ctgatgtacg aagcggatat 120
atacgtttgg taaagaatgt gaattattac atcgatagtg aatcgatctg ggtggataac 180
caagagccac aaattgtaca ttttgatgca gtggtgaatt tagataaggg attgtatggt 240
taccctgagc ctaaacgtta tgcacgttct gttcgtcagt ataagatctt gaattgtgca 300
aattatcatt taactcaagt acgaactgat ttctatgatg aattttgggg acagggtttg 360
cgggcagcac ctaaaaagca aaagaaacat acgttaagtt taacacctga tacaacgctt 420
tataatgctg ctcagattat ttgtgcgaac tatggtgaag catthttcagt tgataaaaaa 480
ggcggcacta aaaaagcagc ggtatctgaa ttactgcaag cgtcagcgcc ttataaggct 540
gatgtggaat tatgtgtata tagcacaaat gaaacaacaa actgtacggg tggaaaaaat 600
ggtattgcag cagatataac cacagcaaaa ggctatgtaa aatcagtgac aacaagcaac 660
ggtgcaataa cagtaaaagg ggatggcaca ttggcaaata tggaatatat tttgcaagct 720
acaggtaatg ctgcaacagg tgtaacttgg acaacaactt gcaaaggaac ggatgcctct 780
ttatttccag caaatttttg cggaagtgtc acacaa 816
    
```

<210> 202
 <211> 272
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15

<220>
 <223> LVL781

20

<400> 202

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

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

<210> 203
 <211> 813
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> LVL782

<400> 203

atgaaataacc	tgctgccgac	cgctgctgct	ggctgctgctgc	tcctcgctgc	ccagccggcg	60
atggcogaac	aaaatgatgt	gaagctggca	ccgccgactg	atgtacgaag	cggatatata	120
cgtttggttaa	agaatgtgaa	ttattacatc	gatagtgaat	cgatctgggt	ggataaccaa	180
gagocacaaa	ttgtacattt	tgatgcagtg	gtgaatttag	ataagggatt	gtatgtttat	240
cctgagccta	aacgttatgc	acgttctgtt	cgtcagtata	agatcttgaa	ttgtgcaa	300
tatcatttaa	ctcaagtaacg	aactgatttc	tatgatgaat	tttggggaca	gggtttgcgg	360
gcagcaccta	aaaagcaaaa	gaaacatacg	ttaagttaa	cacctgatac	aacgctttat	420
aatgctgctc	agattatttg	tgcgaaactat	ggtgaagcat	tttcagttga	taaaaaaggc	480
ggcactaaaa	aagcagcggg	atctgaatta	ctgcaagcgt	cagcgcctta	taaggctgat	540
gtggaattat	gtgtatatag	cacaaatgaa	acaacaaact	gtacgggtgg	aaaaaatggg	600
attgcagcag	atataaccac	agcaaaaggc	tatgtaaaat	cagtgcacac	aagcaacggg	660
gcaataacag	taaaagggga	tggcacattg	gcaaatatgg	aatatatttt	gcaagctaca	720
ggtaatgctg	caacaggtgt	aacttggaca	acaacttgca	aaggaacgga	tgcctcttta	780
tttocagcaa	atTTTTgcgg	aagtgtcaca	caa			813

<210> 204
 <211> 271
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> LVL782

<400> 204

```

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

<210> 205
 <211> 95
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Cebador

<400> 205

```

gatatacata tgaaatacct gctgccgacc gctgctgctg gtctgctgct cctcgtgccc 60
cagccggcga tggccattca gaaggctgaa caaaa 95
    
```

<210> 206
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Cebador

5 <400> 206
 ggccgcaagc ttttagtggt ggtggtggtg gtggccgcc 39

10 <210> 207
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Cebador

20 <400> 207
 ggccgcaagc ttttattgtg tgacacttc 30

 <210> 208
 <211> 42
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Cebador

30 <400> 208
 gctgcccagc cggcgatggc caaggctgaa caaatgatg tg 42

 <210> 209
 <211> 42
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Cebador

40 <400> 209
 cacatcattt tgtcagcct tggccatcg cggctgggca gc 42

 <210> 210
 <211> 43
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Cebador

50 <400> 210
 gctgcccagc cggcgatggc cgctgaacaa aatgatgtga agc 43

 <210> 211
 <211> 43
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

55 <220>
 <223> Cebador

60 <400> 211
 gcttcacatc attttgttca gcggccatcg ccggtgggc agc 43

65 <210> 212
 <211> 43
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Cebador

5 <400> 212
 gctgcccagc cggcgatggc cgaacaaaat gatgtgaagc tgg 43

10 <210> 213
 <211> 43
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Cebador

20 <400> 213
 ccagcttcac atcattttgt tcggccatcg ccggctgggc agc 43

 <210> 214
 <211> 43
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Cebador

30 <400> 214
 gctgcccagc cggcgatggc cgcccagatt cagaaggctg aac 43

 <210> 215
 <211> 43
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Cebador

40 <400> 215
 gttcagcctt ctgaatctgg gcggccatcg ccggctgggc agc 43

 <210> 216
 <211> 46
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Cebador

50 <400> 216
 gctgcccagc cggcgatggc cagcgcccag attcagaagg ctgaac 46

 <210> 217
 <211> 46
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

55 <220>
 <223> Cebador

60 <400> 217
 gttcagcctt ctgaatctgg gcgctggcca tcgccggctg ggcagc 46

 <210> 218
 <211> 30
 <212> ADN
 65 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Cebador

<400> 218

cacacacata tgaataacct gctgccgacc 30

<210> 219

<211> 253

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

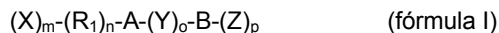
<223> PROTEÍNA DE FUSIÓN

<400> 219

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

REIVINDICACIONES

1. Una proteína de fusión de fórmula I:



en la que

- 5 X es un péptido señal o MHHHHHH (SEQ ID NO. 2);
m es 0 o 1;
R₁ es un aminoácido;
n es 0, 1, 2, 3, 4, 5 o 6;
A es un fragmento inmunogénico de la Proteína E seleccionado de SEQ ID NO. 122, SEQ ID NO. 123, SEQ ID
10 NO. 124, SEQ ID NO. 125, SEQ ID NO. 126, SEQ ID NO. 179 o SEQ ID NO. 180 o una secuencia que tiene al
menos un 95 % de identidad de secuencia con una cualquiera de SEQ ID NO. 122, SEQ ID NO. 123, SEQ ID
NO. 124, SEQ ID NO. 125, SEQ ID NO. 126, SEQ ID NO. 179 o SEQ ID NO. 180;
Y se selecciona del grupo que consiste en GG, SG, SS, GGG y (G)_h en el que h es 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10;
o es 0 o 1;
15 B es un fragmento inmunogénico de PilA, al menos un 95 % idéntico a los aminoácidos 40-149 de cualquiera de
SEQ ID NO. 58 a SEQ ID NO. 121;
Z es GGHHHHHH (SEQ ID NO. 3); y
p es 0 o 1.
- 20 2. La proteína de fusión de acuerdo con la reivindicación 1, en la que X es el péptido señal de una proteína
seleccionada del grupo que consiste en FlgI, NadA y pelB.
3. La proteína de fusión de acuerdo con la reivindicación 1, en la que m es 0.
4. La proteína de fusión de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en la que A es un fragmento
inmunogénico de la Proteína E de *H. influenzae* seleccionado del grupo que consiste en los aminoácidos 17-160 de
25 SEQ ID NO. 4 (SEQ ID NO. 122), los aminoácidos 18-160 de SEQ ID NO. 4 (SEQ ID NO. 123), los aminoácidos 19-
160 de SEQ ID NO. 4 (SEQ ID NO. 124), los aminoácidos 20-160 de SEQ ID NO. 4 (SEQ ID NO. 125), los
aminoácidos 22-160 de SEQ ID NO. 4 (SEQ ID NO. 126), los aminoácidos 23-160 de SEQ ID NO. 4 (SEQ ID NO.
179) y los aminoácidos 24-160 de SEQ ID NO. 4 (SEQ ID NO. 180).
5. La proteína de fusión de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en la que B es un fragmento
inmunogénico de PilA que consiste en los aminoácidos 40-149 de cualquiera de SEQ ID NO. 58 - SEQ ID NO. 121.
- 30 6. La proteína de fusión de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en la que B es el fragmento
inmunogénico de PilA de *H. influenzae* como se expone en SEQ ID NO. 127.
7. La proteína de fusión de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en la que A es SEQ ID NO. 125.
8. La proteína de fusión de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en la que A es SEQ ID NO. 124.
9. La proteína de fusión de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en la que B es el fragmento de
35 PilA como se expone en SEQ ID NO. 127 y A es un fragmento inmunogénico de la Proteína E seleccionado del
grupo que consiste en SEQ ID NO. 122, SEQ ID NO. 124, SEQ ID NO. 125 y SEQ ID NO. 126.
10. La proteína de fusión de acuerdo con la reivindicación 1, seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.
138, SEQ ID NO. 140, SEQ ID NO. 142, SEQ ID NO. 144, SEQ ID NO. 146, SEQ ID NO. 148, SEQ ID NO. 150,
SEQ ID NO. 182, SEQ ID NO. 184, SEQ ID NO. 186, SEQ ID NO. 188, SEQ ID NO. 190, SEQ ID NO. 192, SEQ ID
40 NO. 194, SEQ ID NO. 196, SEQ ID NO. 198, SEQ ID NO. 200, SEQ ID NO. 202 o SEQ ID NO. 204.
11. La proteína de fusión de acuerdo con la reivindicación 1, seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO.
138, SEQ ID NO. 140, SEQ ID NO. 142, SEQ ID NO. 144, SEQ ID NO. 146, SEQ ID NO. 148, SEQ ID NO. 150,
SEQ ID NO. 182, SEQ ID NO. 184, SEQ ID NO. 186, SEQ ID NO. 188, SEQ ID NO. 190, SEQ ID NO. 192, SEQ ID
NO. 194, SEQ ID NO. 196, SEQ ID NO. 198, SEQ ID NO. 200, SEQ ID NO. 202 o SEQ ID NO. 204, en las que el
45 péptido señal se ha retirado.
12. La proteína de fusión de acuerdo con la reivindicación 1 de SEQ ID NO. 148.
13. La proteína de fusión de acuerdo con la reivindicación 1 de SEQ ID NO. 177 (QIQKAEQN DVKLAPPTDV
RSGYIRLVKN VNYIDSESI WVDNQEPQIV HFDVVNLDK GLYVYPEPKR YARSVRQYKI LNCANYHLTQ
VRTDFYDEFW GQGLRAAPKK QKKHTLSLTP DDTLYNAAQI ICANYGEAFS VDKKGGTKKA AVSELLQASA
50 PYKADVELCV YSTNETTNTT GGKNGIAADI TTAKGYVKS V TTSNGAITVK GDGTLANMEY ILQATGNAAT
GVTWTTTCKG TDASLFPANF CGSVTQ).
14. La proteína de fusión de acuerdo con la reivindicación 1 de SEQ ID NO. 194.

15. La proteína de fusión de acuerdo con la reivindicación 1 de SEQ ID NO. 219 (IQKAEQND VKLAPPTDVR SGYIRLVKNV NYYIDSESIW VDNQEPQ IVH FDAVVNLDKG LYVYPEPKRY ARSVRQYKIL NCANYHLTQV RTDFYDEFWG QGLRAAPKKQ KKHTLSLTPD TTLYNAAQII CANYGEAFSV DKKGGTKKAA VSELLQASAP YKADVELCVY STNETTNCTG GKNGLAADIT TAKGYVKSVT TSNGAITVKG DGTLANMEYI LQATGNAATG VTWTTTCKGT DASLFPANFC GSVTQ).
16. Una composición inmunogénica que comprende las proteínas de fusión de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-15.
17. Una composición inmunogénica de acuerdo con la reivindicación 16, que comprende además la Proteína D de *H. influenzae*.
18. Una composición inmunogénica de acuerdo con la reivindicación 16 o la reivindicación 17, que comprende además un adyuvante, opcionalmente en la que el adyuvante es AS01 por ejemplo, AS01B o AS01E.
19. Una vacuna que comprende la proteína de fusión de una cualquiera de las reivindicaciones 1-15 o la composición inmunogénica de las reivindicaciones 16-18.
20. La proteína de fusión de las reivindicaciones 1-15, o la composición inmunogénica de las reivindicaciones 16-18, o la vacuna de la reivindicación 19, para su uso en el tratamiento o la prevención de otitis media.
21. La proteína de fusión, la composición inmunogénica o la vacuna de las reivindicaciones 1-19,
- para su uso en el tratamiento o la prevención de exacerbaciones agudas de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EA-EPOC); y/o
 - para su uso en el tratamiento o la prevención de neumonía; y/o
 - para su uso en el tratamiento o la prevención de una infección o enfermedad por *H. influenzae*.
22. La proteína de fusión, la composición inmunogénica o la vacuna de las reivindicaciones 1-19, para su uso en el tratamiento o la prevención de exacerbaciones agudas de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EAEPOC).
23. La proteína de fusión de las reivindicaciones 1-15, para su uso en la inducción de una respuesta inmune contra *H. influenzae* en seres humanos.
24. Un procedimiento de producción de la expresión periplásmica de una proteína de fusión de las reivindicaciones 1-15, en el que el procedimiento comprende inducir la expresión de proteínas que contienen un péptido señal, en el que el péptido señal es de FlgI o pelB.

Figura 1

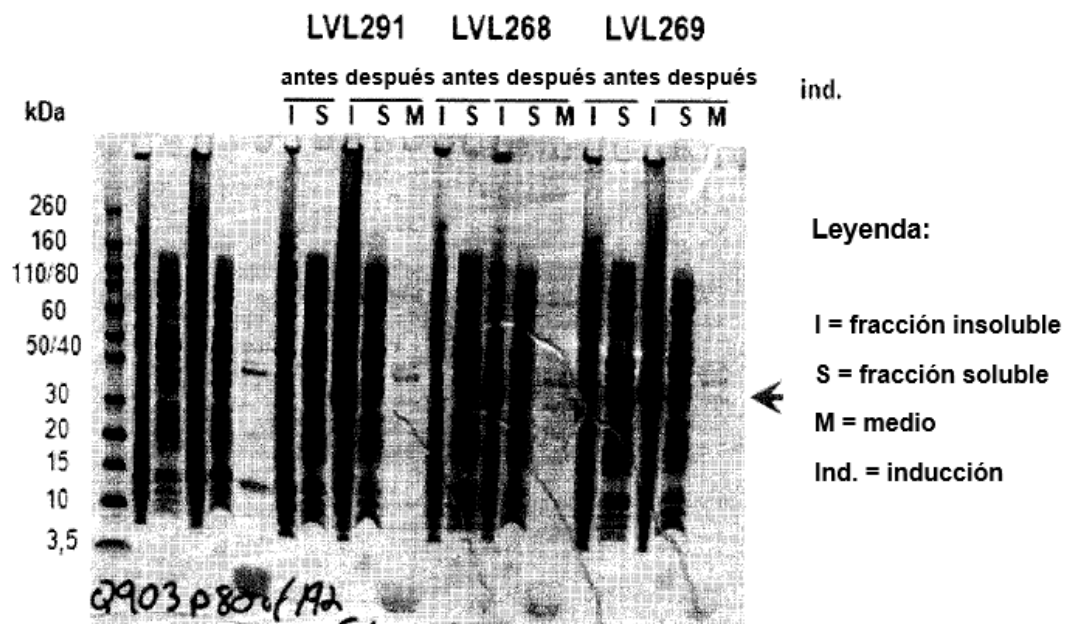


Figura 2

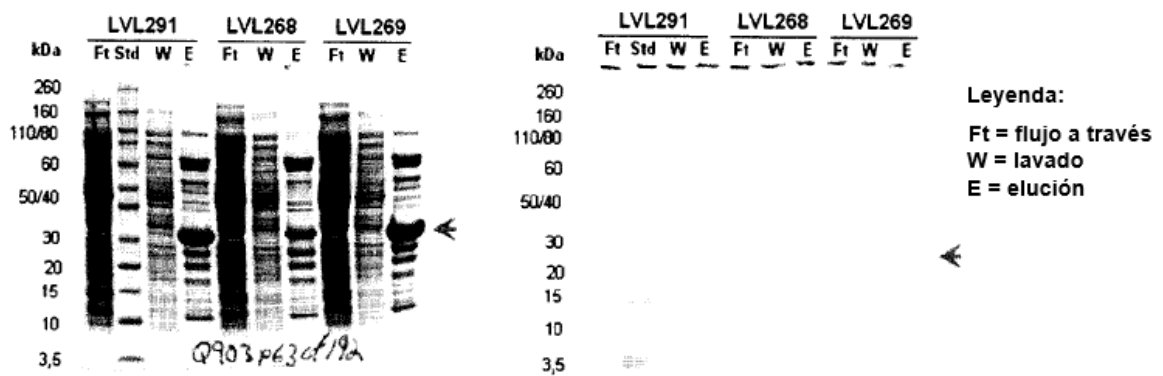


Figura 3

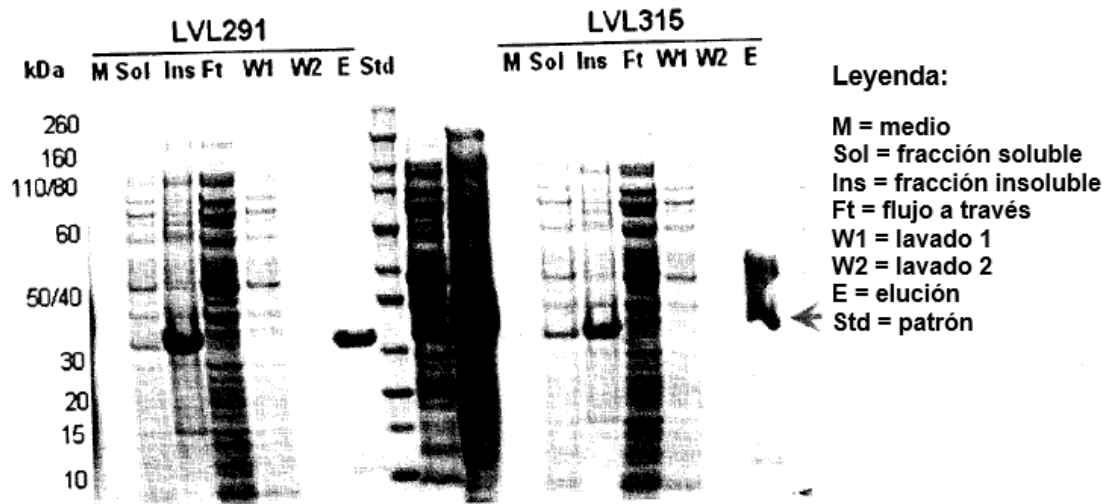


Figura 4

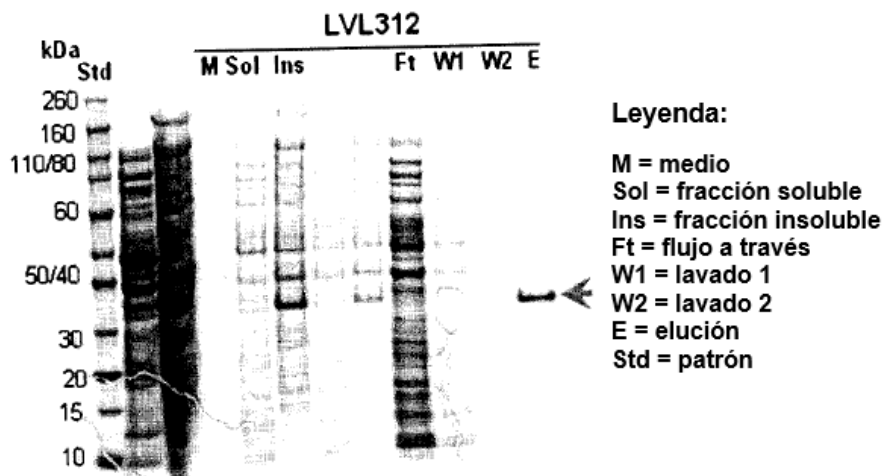


Figura 5

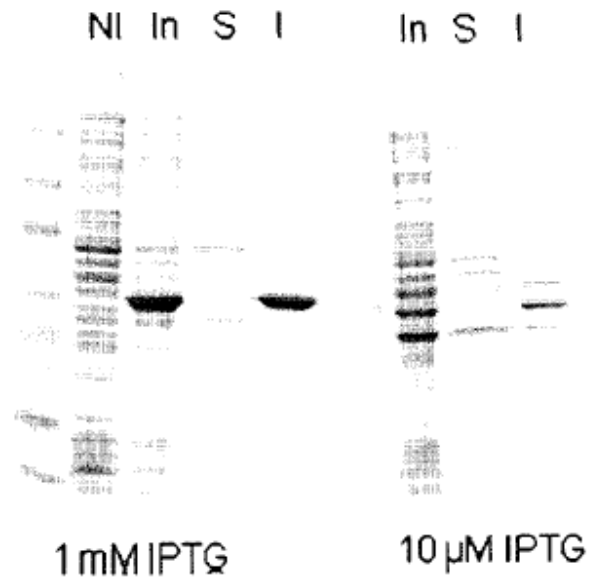


Figura 6

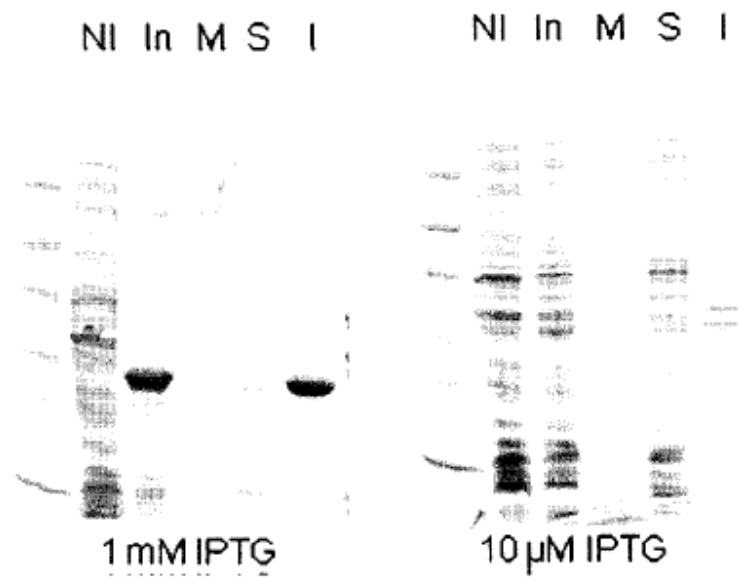


Figura 7

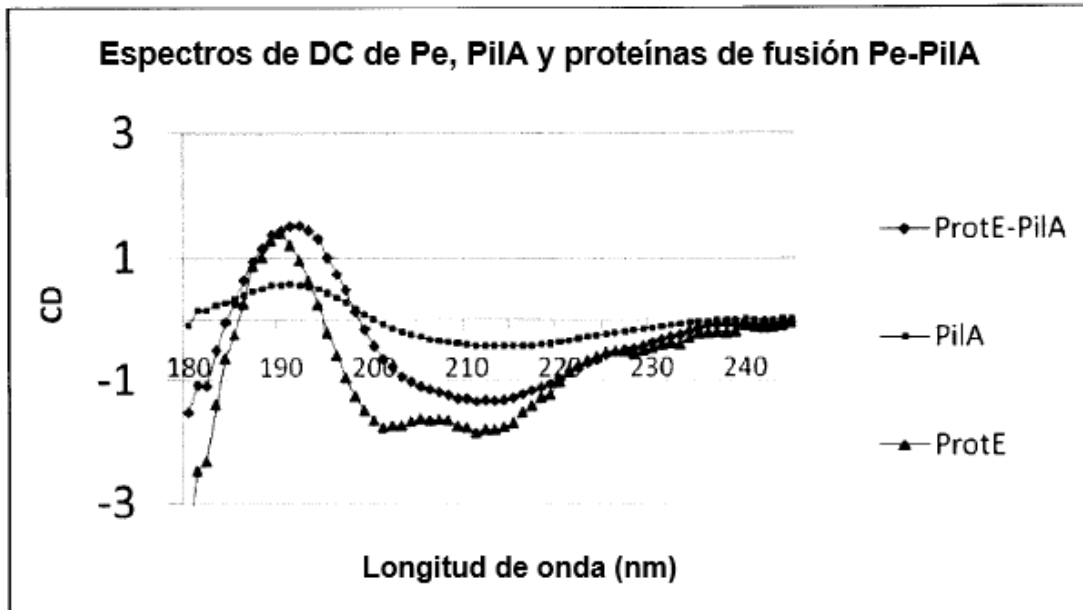


Figura 8

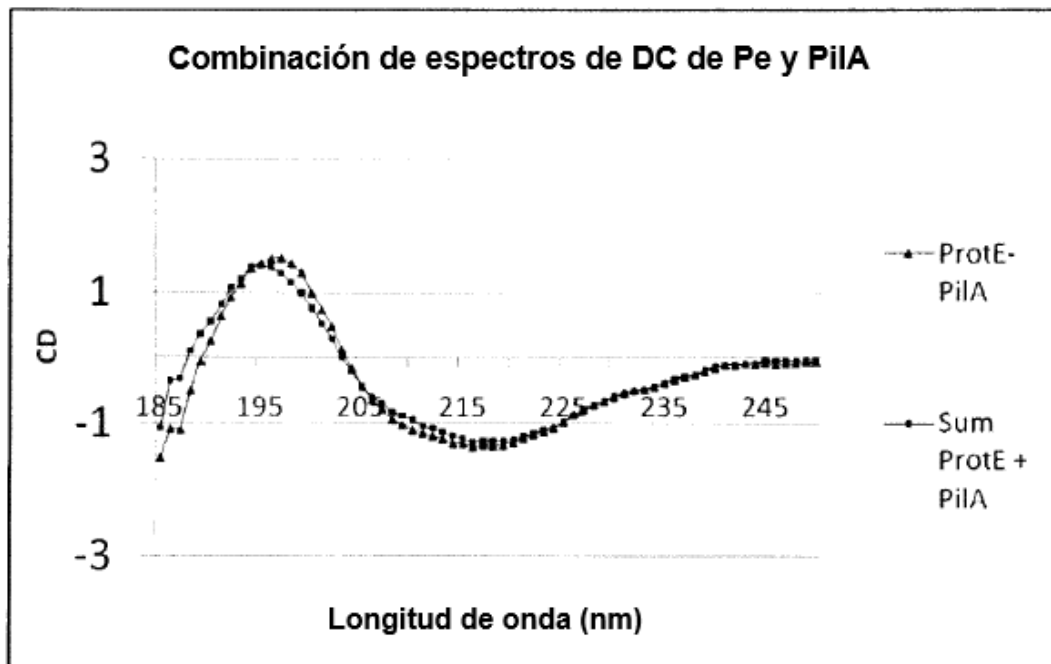


Figura 9

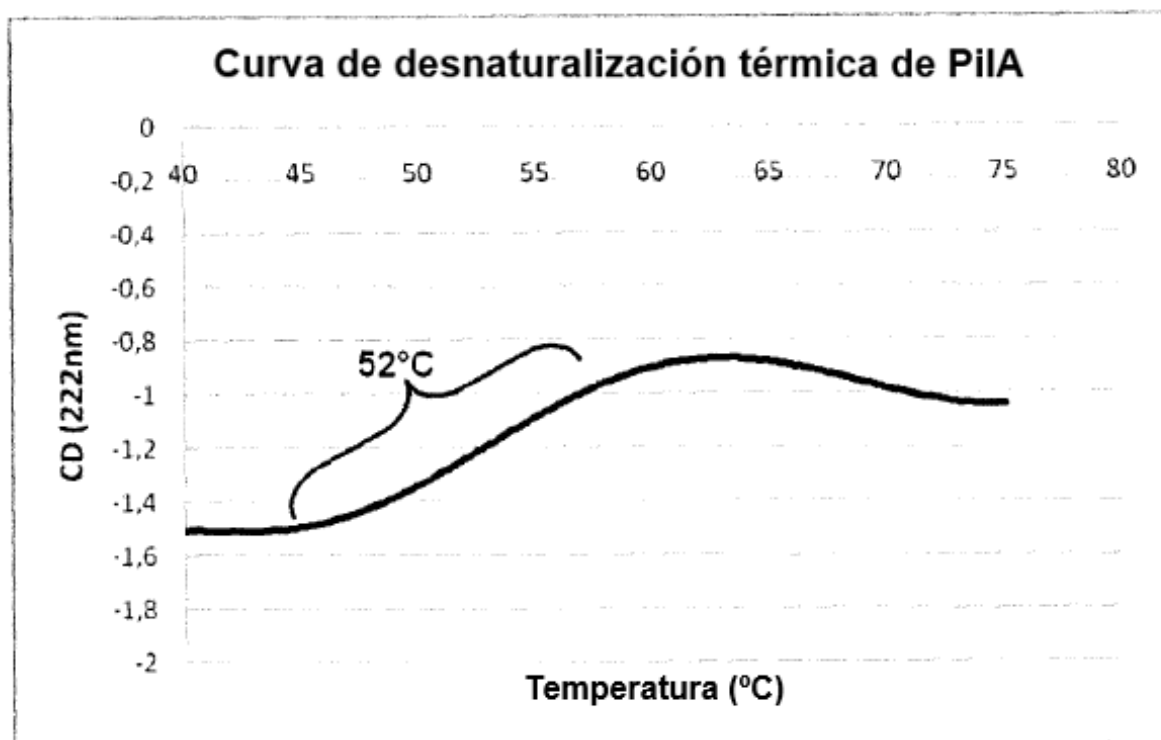


Figura 10

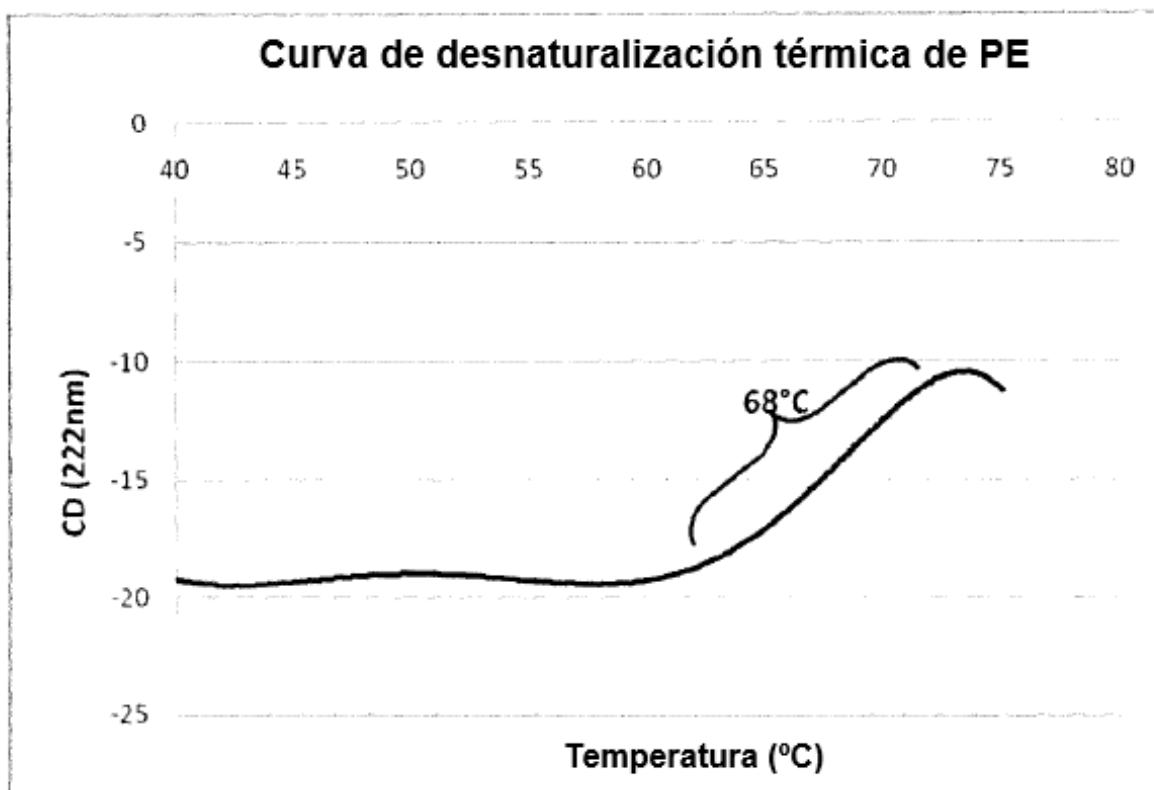
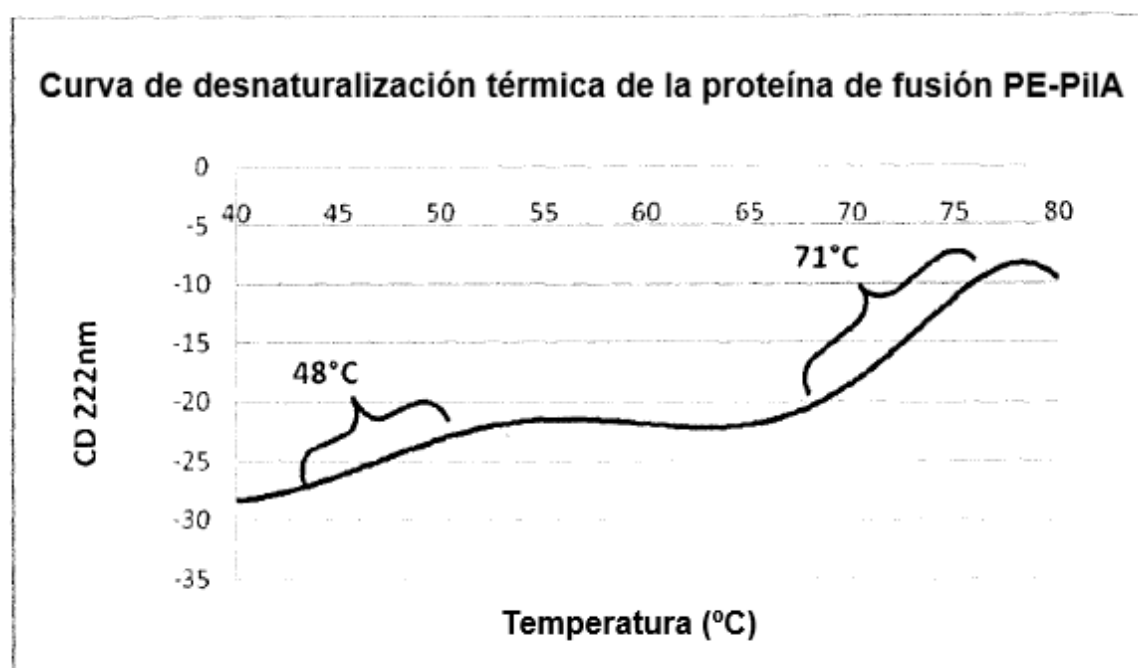
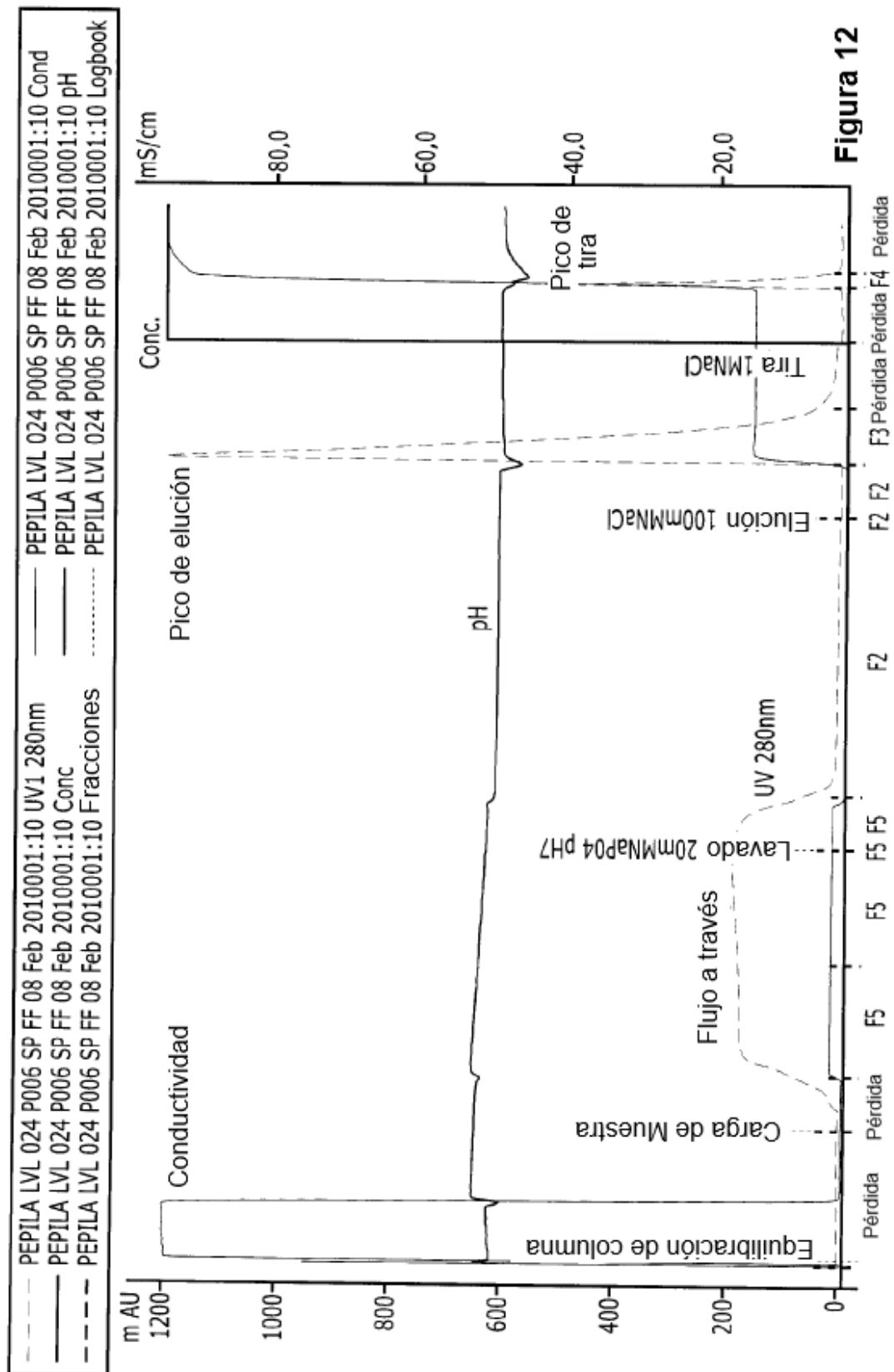


Figura 11





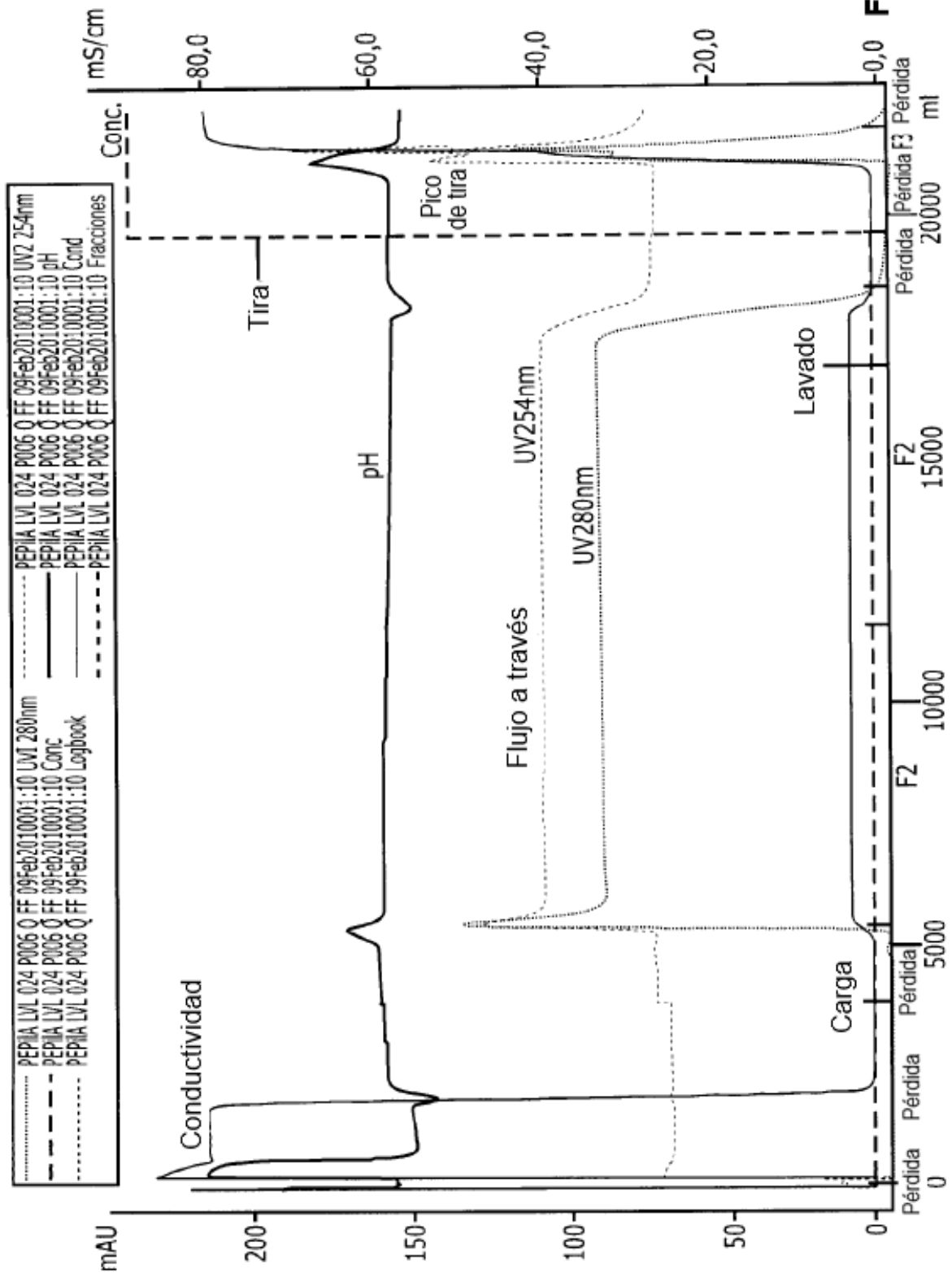
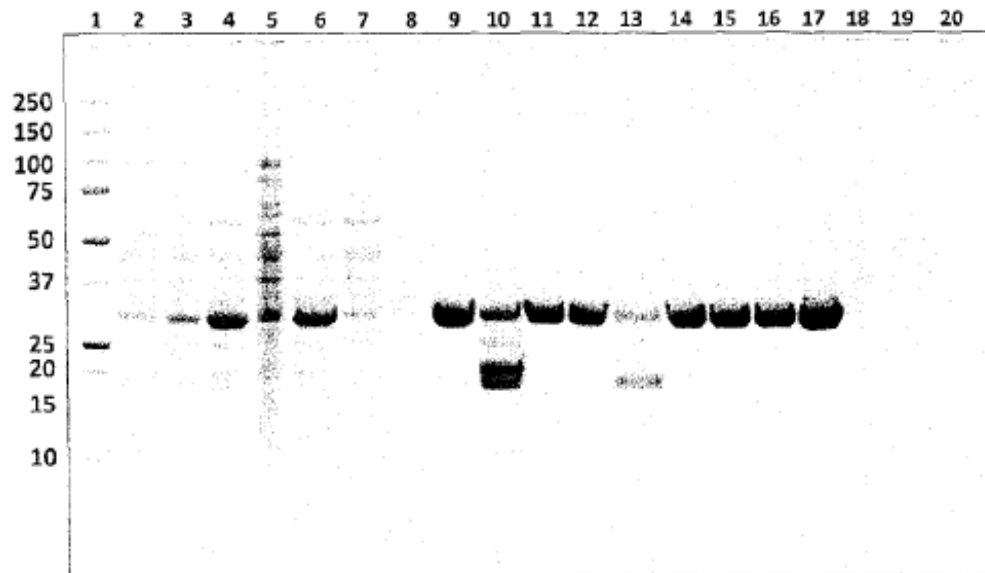


Figura 13

Figura 14



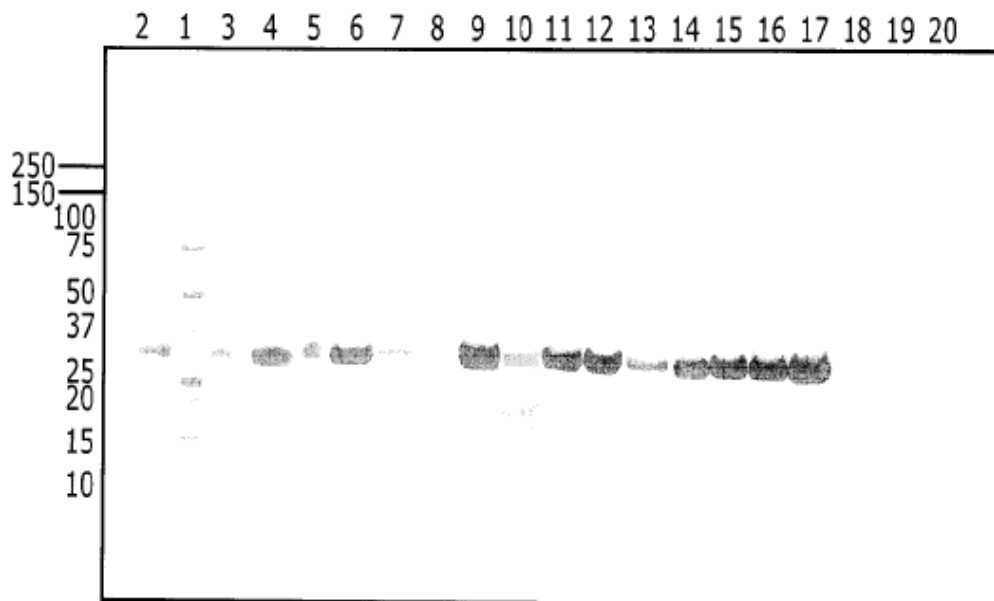


Figura 15

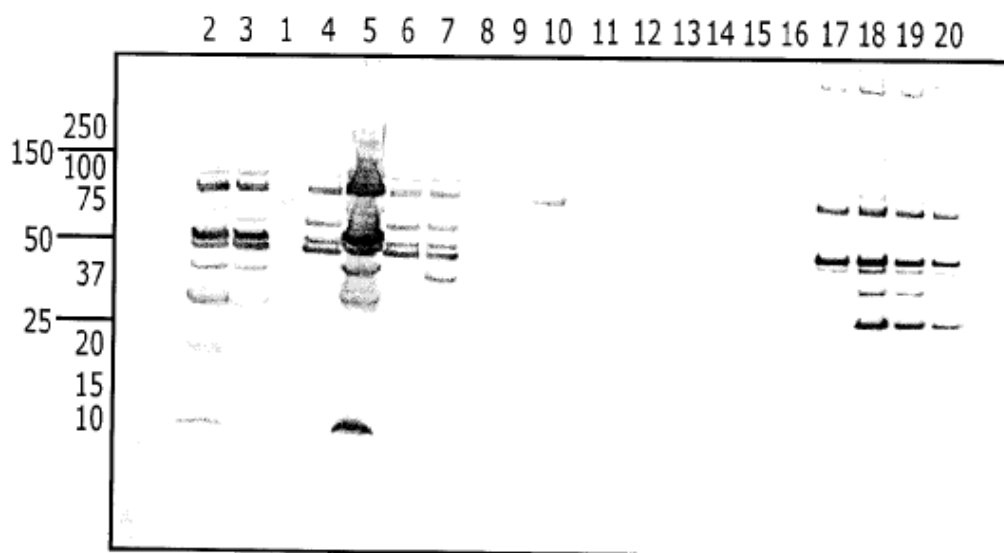


Figura 16

Figura 17

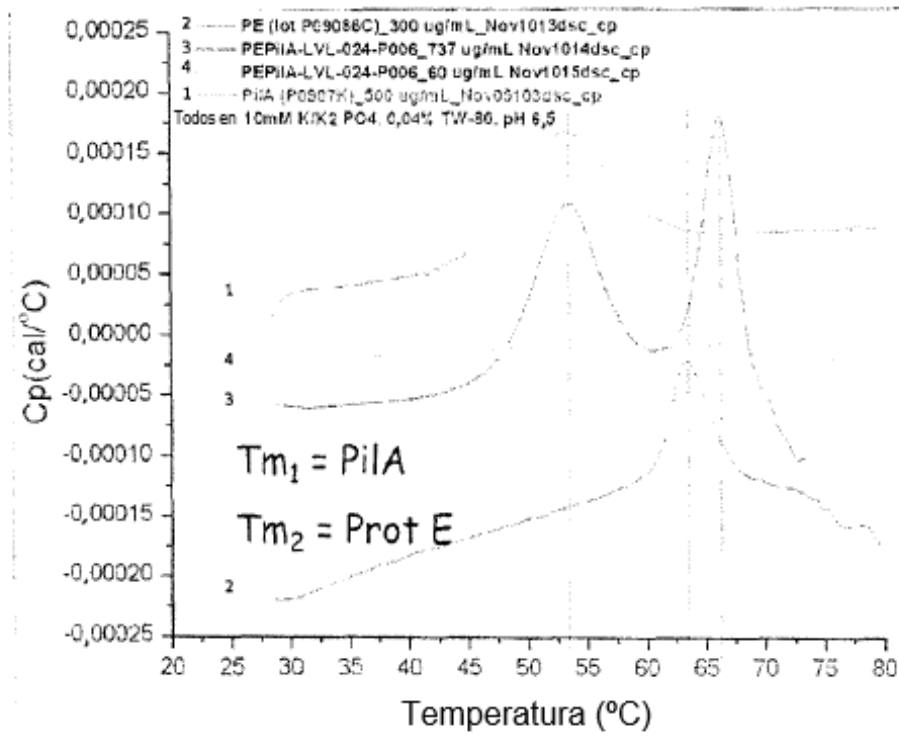


Figura 18

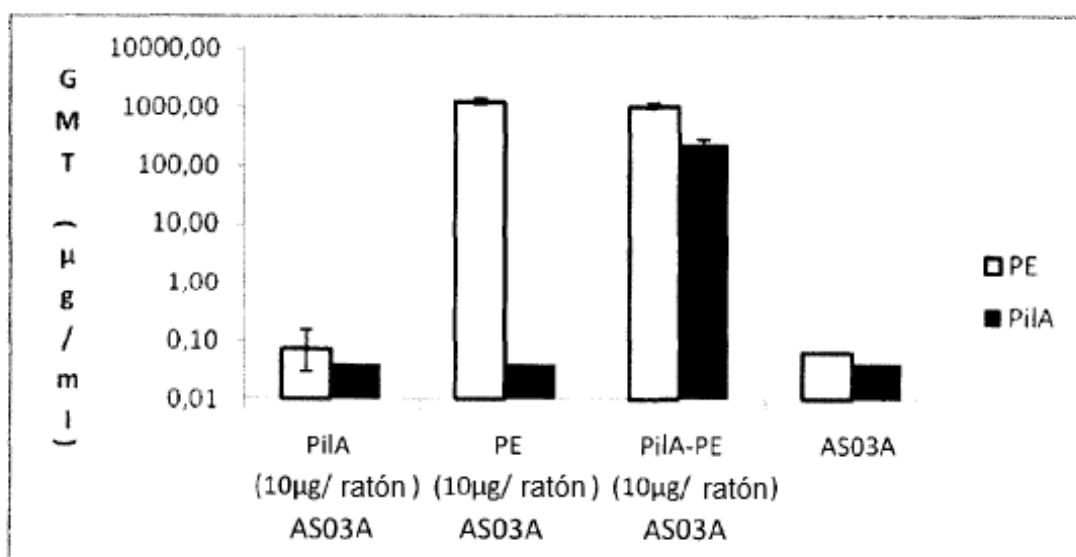


Figura 19

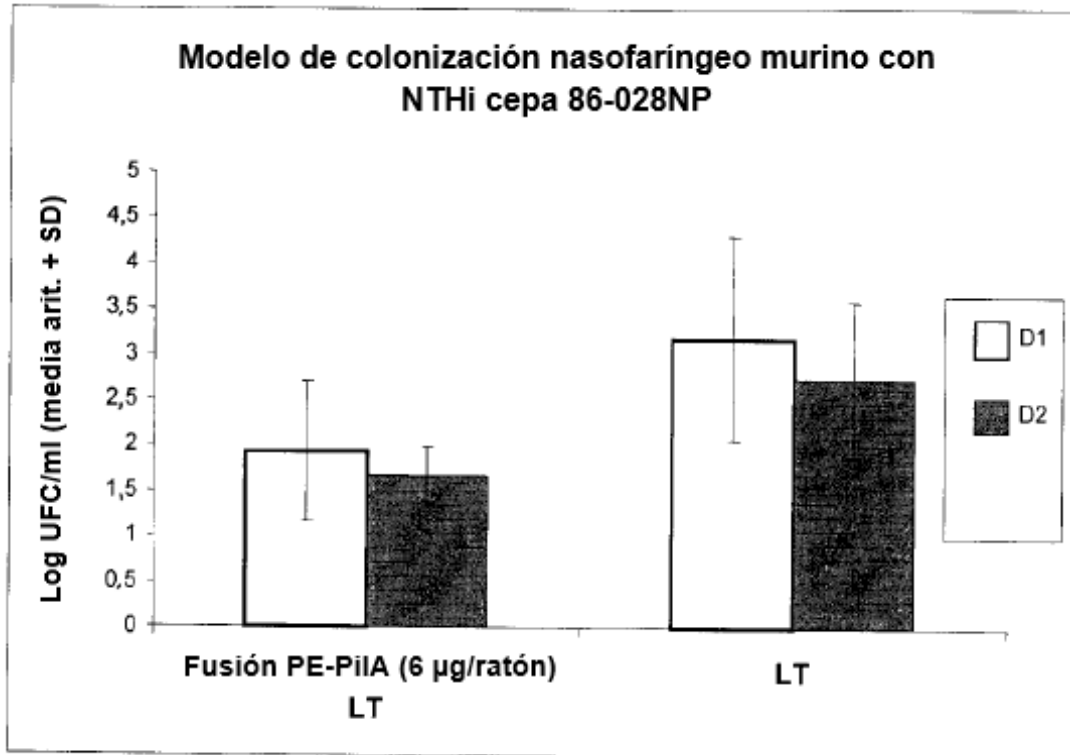


Figura 20

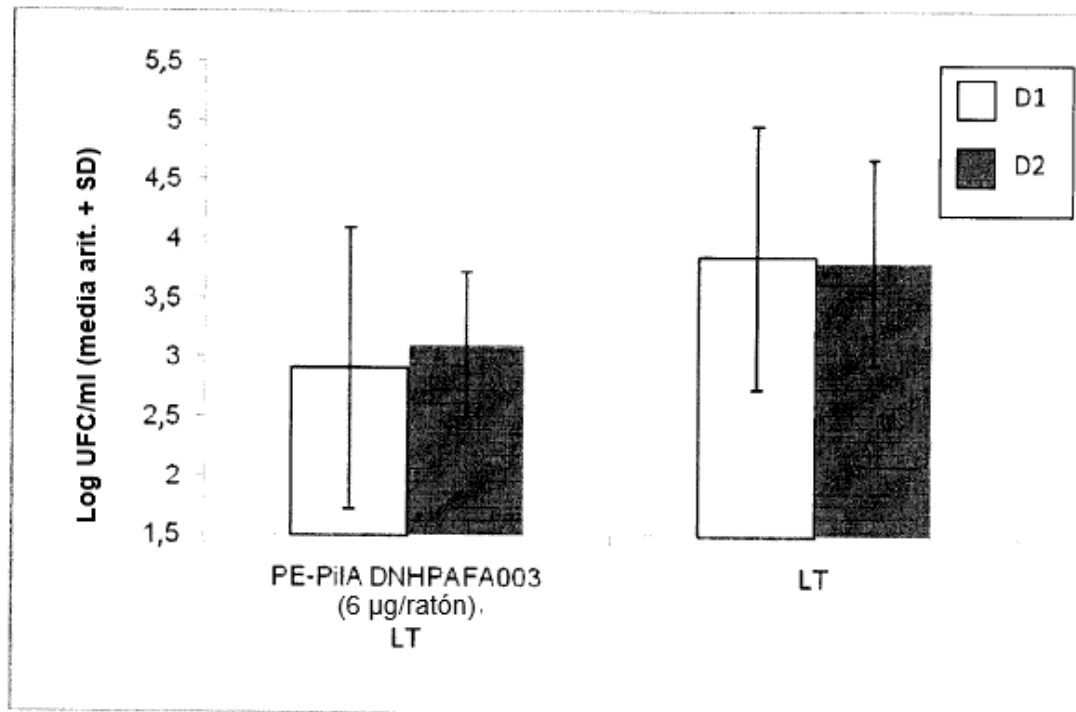


Figura 21

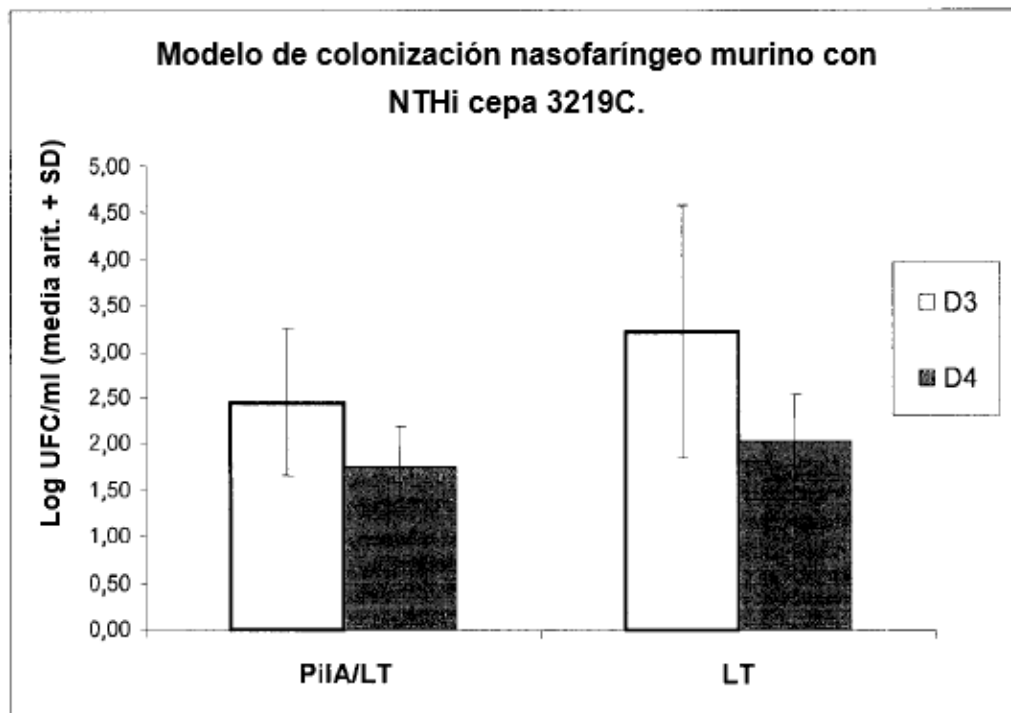


Figura 22

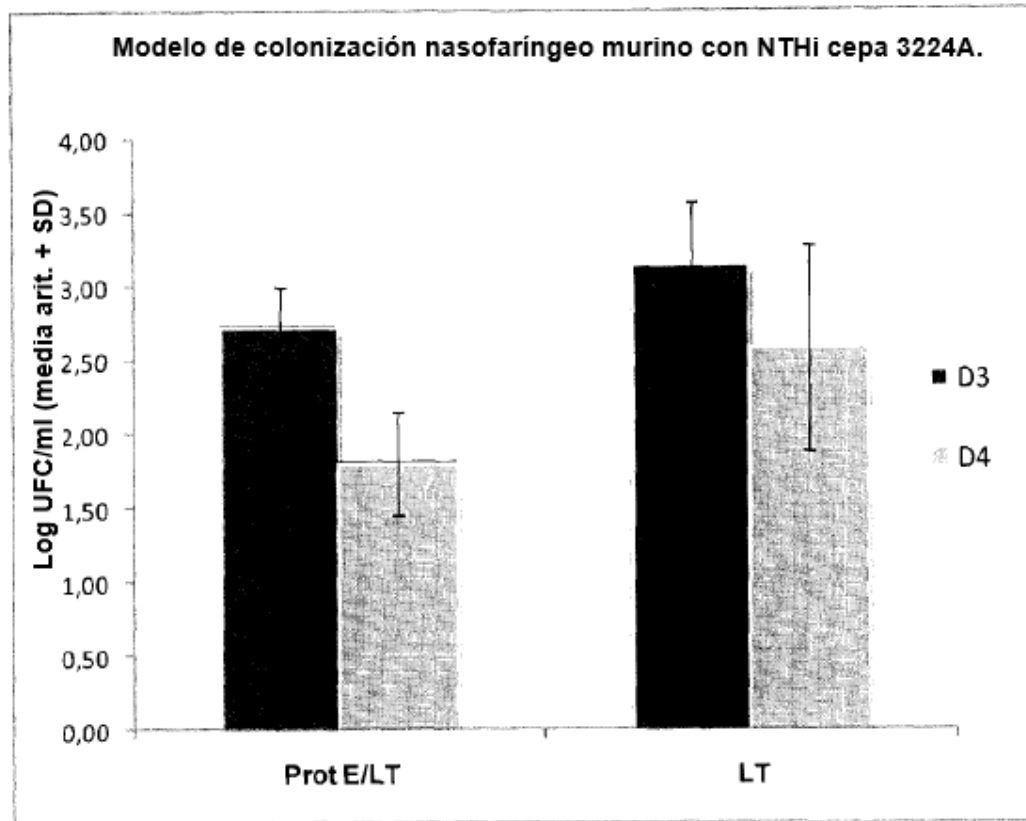
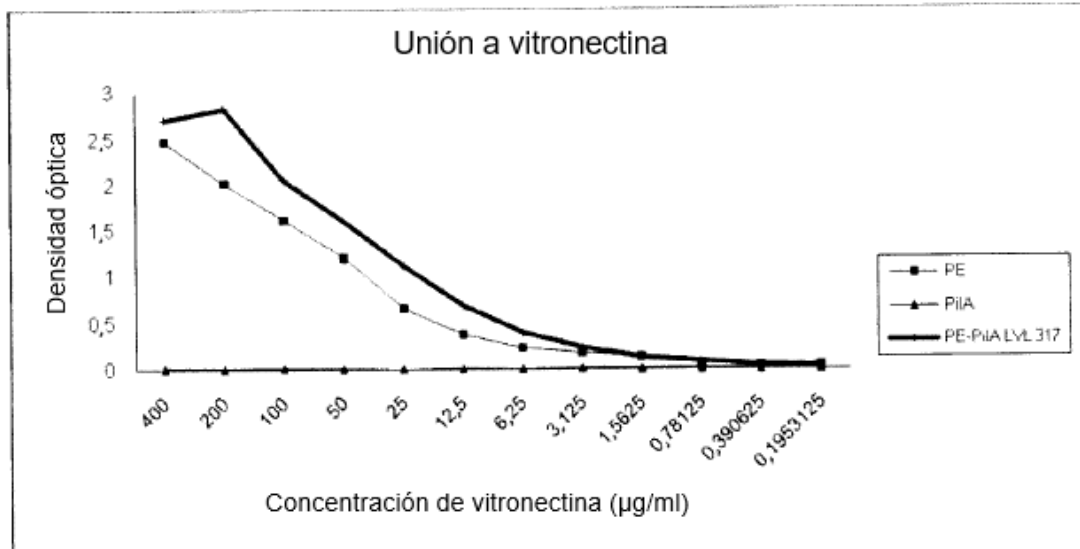


Figura 23

(a)



(b)

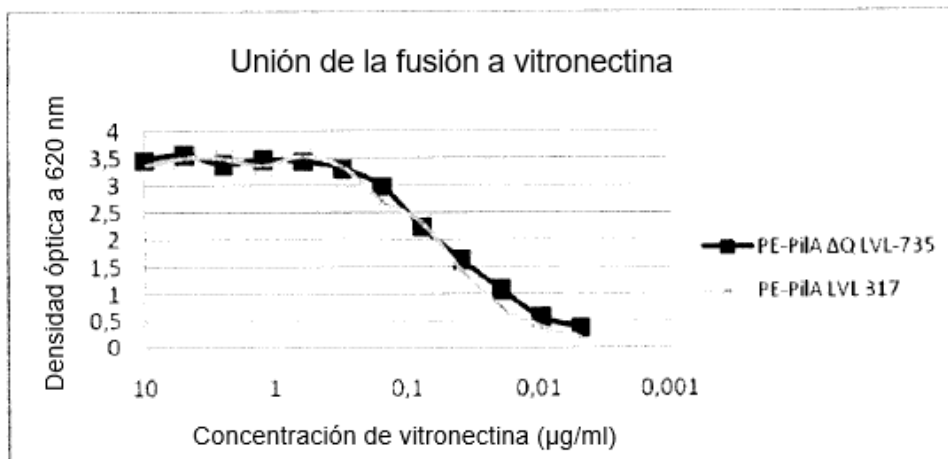


Figura 24

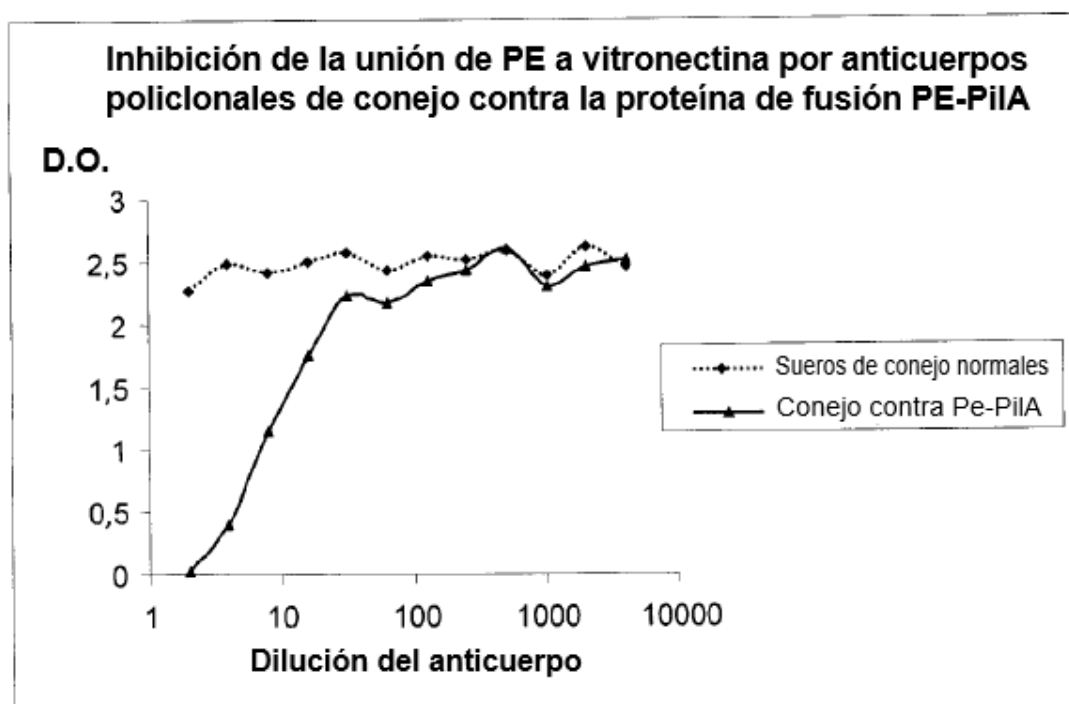


Figura 25

(a) Experimento 1

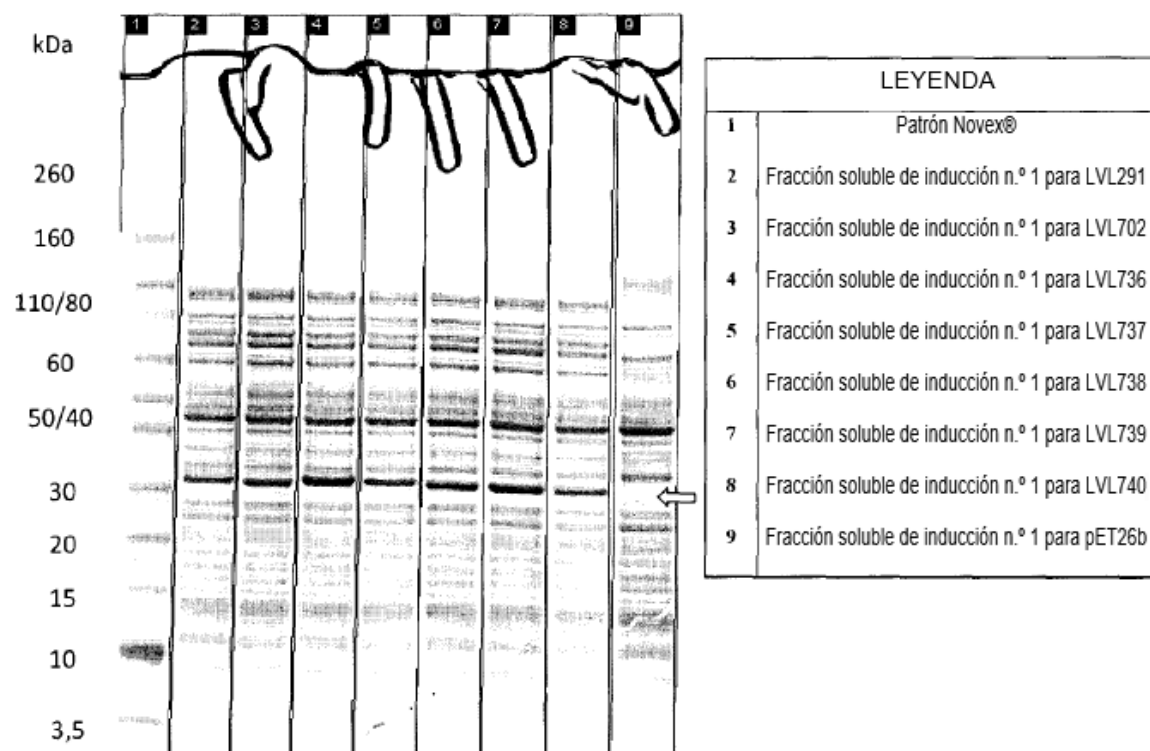


Figura 25

(b) Experimento 2

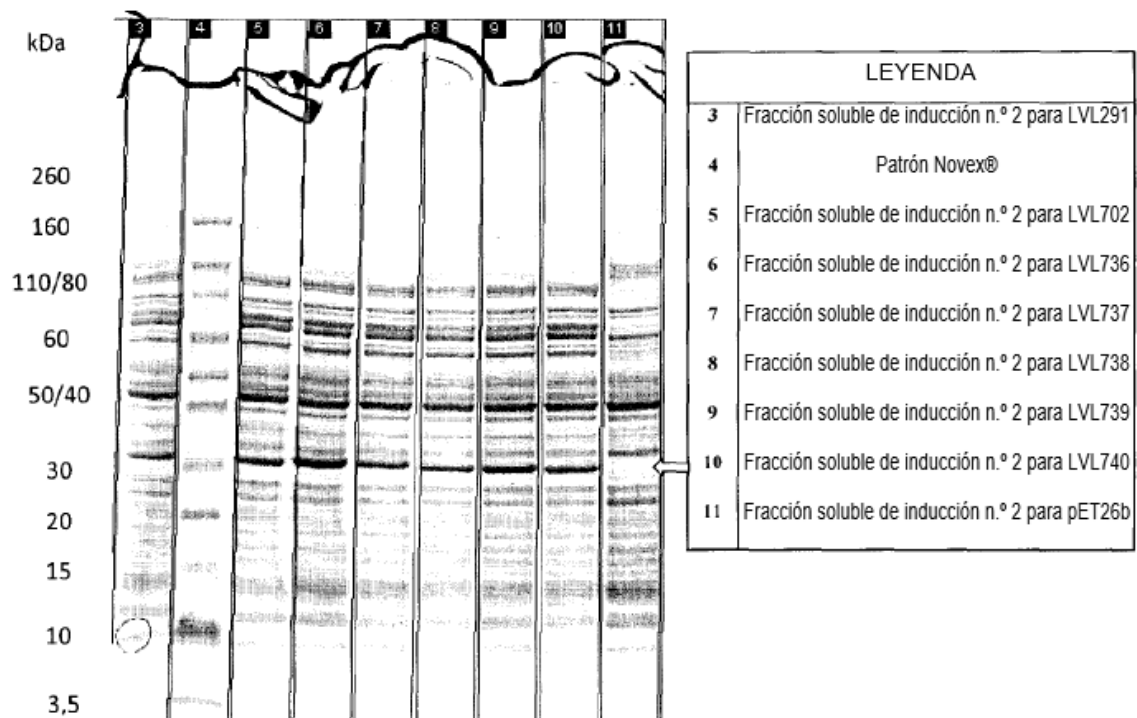


Figura 25

(c) Experimento 3

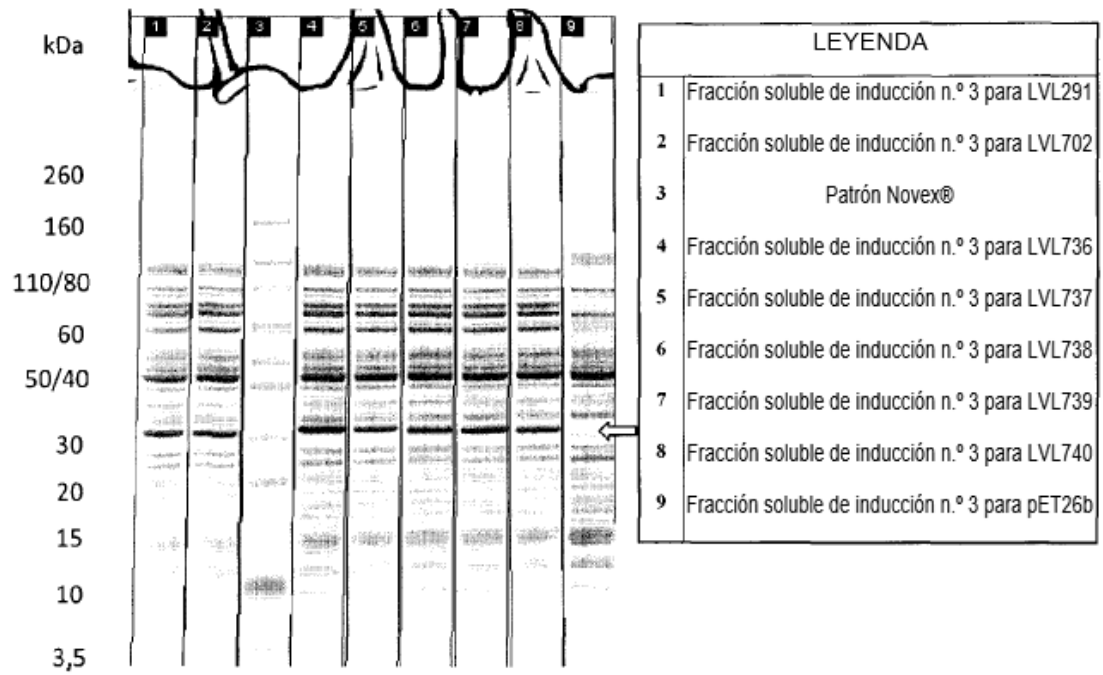
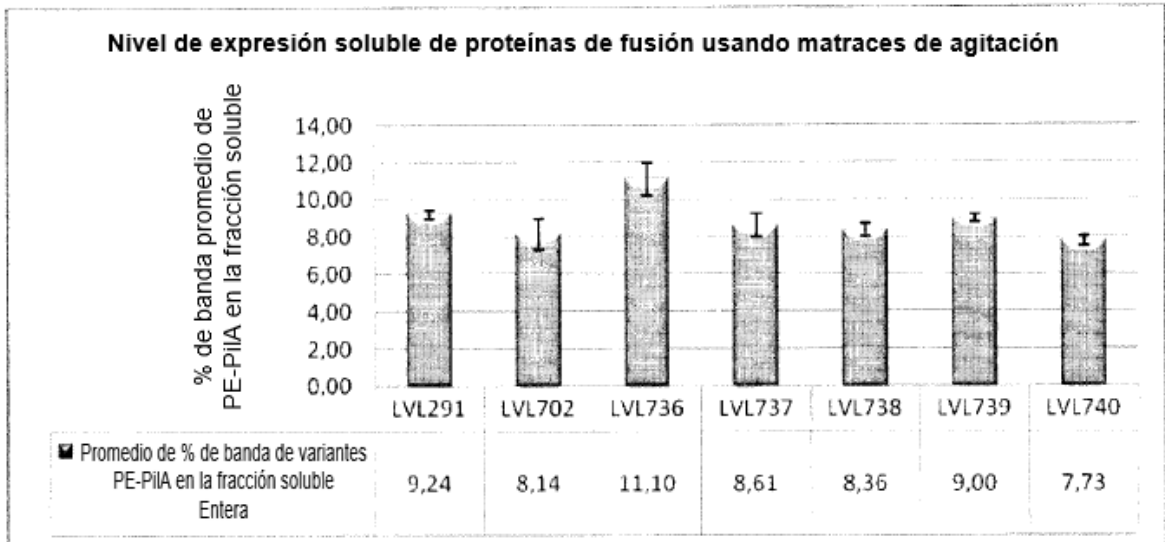


Figura 26



ID de Construcción	% de proteína de fusión Gel n.º 1	% de proteína de fusión Gel n.º 2	% de proteína de fusión Gel n.º 3	% Promedio de proteína de fusión	Desviación SD
LVL291	9,3	8,98	9,43	9,24	0,231588716
LVL702	7,2	8,85	8,37	8,14	0,848704896
LVL736	11,16	10,2	11,94	11,10	0,871550343
LVL737	8,18	8,33	9,32	8,61	0,619435227
LVL738	8,56	8,55	7,97	8,36	0,337786915
LVL739	8,91	8,88	9,21	9,00	0,182482876
LVL740	7,69	7,49	8	7,73	0,256969518

Figura 27

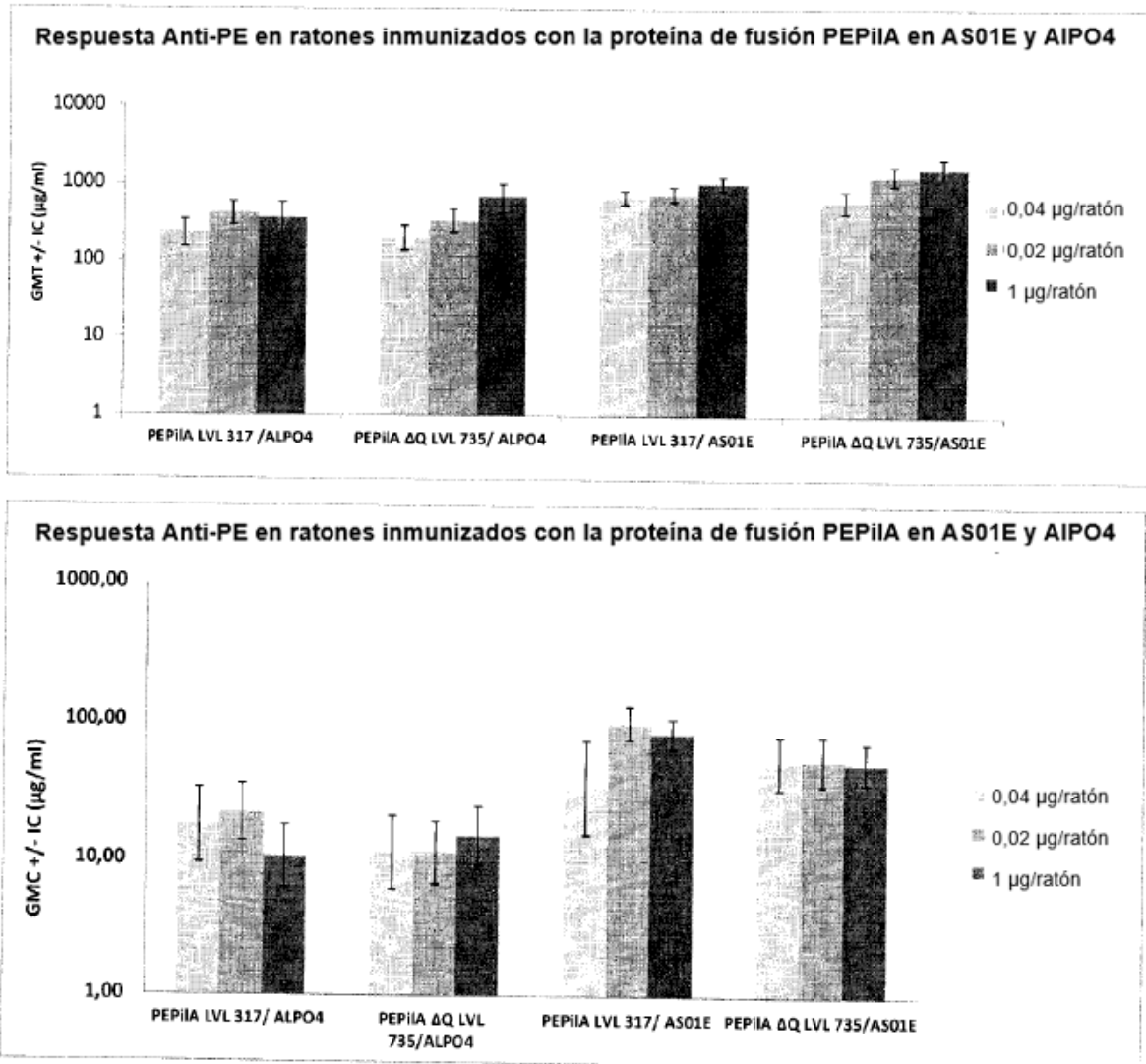


Figura 28

