

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 781 579**

51 Int. Cl.:

**C07K 14/295** (2006.01)

**A61K 39/118** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.03.2014 PCT/DK2014/000015**

87 Fecha y número de publicación internacional: **25.09.2014 WO14146663**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.03.2014 E 14721199 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.01.2020 EP 2976355**

54 Título: **Vacunas contra Chlamydia sp**

30 Prioridad:

**18.03.2013 DK 201300155**

**11.12.2013 DK 201300684**

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

**03.09.2020**

73 Titular/es:

**STATENS SERUM INSTITUT (100.0%)**

**Artillerivej 5**

**2300 Copenhagen S, DK**

72 Inventor/es:

**FOLLMANN, FRANK;**

**ROSENKRANDS, IDA;**

**OLSEN, ANJA y**

**ANDERSEN, PETER, LAWÆTZ**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

**Observaciones:**

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

ES 2 781 579 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

Vacunas contra *Chlamydia sp*

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a polipéptidos de unidades repetitivas de fragmentos inmunogénicos de regiones expuestas en la superficie de proteínas de membrana externa de *Chlamydia sp.*, para su uso como producto farmacéutico, y composiciones farmacéuticas y vacunas que comprenden estas proteínas de fusión o ácidos nucleicos que las codifican.

15 **Antecedentes generales**

Las clamidias son patógenos bacterianos intracelulares responsables de diversas infecciones. *Chlamydia pneumoniae* es responsable de la infección respiratoria aguda humana y se cree que desempeña una función en la enfermedad coronaria. *Chlamydia trachomatis* es el agente causante de enfermedades de transmisión sexual humanas e infecciones oculares (tracoma). También en animales, se conocen varias infecciones con *Chlamydia sp.*, por ejemplo, *Chlamydia Suis* que infecta cerdos y *Chlamydia abortus* que provoca el aborto en rumiantes pequeños (ovejas y cabras).

A nivel mundial, se estima que 92 millones de personas se infectan sexualmente con *Chlamydia trachomatis* (Ct)<sup>1</sup>. Las infecciones urogenitales con Ct son un problema de salud pública debido a su alta prevalencia y al hecho de que es un factor de riesgo para el embarazo ectópico y la infertilidad<sup>2</sup>. Además de esto, se ha demostrado que las infecciones por Ct facilitan la transmisión del VIH<sup>3</sup> y actúan como cofactor en el carcinoma del cuello del útero inducido por el VPH<sup>4</sup>. La duración de la infección genital por Ct sin tratar puede prolongarse y, con frecuencia, no se alcanza la eliminación completa en los primeros 12 meses<sup>5</sup>. A partir de los estudios en seres humanos se sabe que se desarrolla cierto grado de inmunidad protectora contra la reinfección genital, aunque en el mejor de los casos parece ser parcial<sup>6</sup>. La infección se controla eficazmente con terapia antibiótica; sin embargo, la alta prevalencia de casos asintomáticos sugiere que el control sostenible de la enfermedad solo puede preverse si se desarrolla una vacuna eficaz contra *Chlamydia*.

Es necesario que una vacuna contra Ct provoque inmunidad protectora de linfocitos T y células B en la mucosa del aparato genital<sup>7</sup>. Se han descrito mecanismos inmunitarios de eliminación de la infección y resistencia a la reinfección en numerosos estudios. Se han utilizado diversos modelos en animales y especies de clamidia en intentos de identificar respuestas inmunitarias protectoras y dañinas. Ha surgido un consenso general de que, en ratones, las respuestas inmunitarias mediadas por linfocitos Th1 CD4+ desempeñan un papel importante en la resolución de la infección por Ct<sup>8,9,10</sup>, mientras que el papel de la inmunidad humoral en la protección sigue estando no tan bien definido. En cobayas, la inmunidad a la infección por clamidia está mediada, al menos en parte, por la secreción de IgA en la superficie de la mucosa<sup>11,12</sup> y además en el modelo en ratón existen cada vez más pruebas para apoyar el papel de los anticuerpos en la inmunidad protectora<sup>9</sup>. Los datos de modelos en animales que han surgido en los últimos años demuestran claramente que si se forman anticuerpos después de que se ha establecido la infección, desempeñan un papel mínimo, mientras que su presencia en el momento de la infección (por ejemplo, en una respuesta secundaria) promueve niveles significativos de protección, un efecto que, sin embargo, se amplifica claramente en presencia de células CD4+ específicas de *Chlamydia*<sup>9,13,14</sup>. Por otro lado, una respuesta inmunitaria mediada por células (IMC) fuerte sin anticuerpos puede controlar la replicación bacteriana, pero en el peor de los casos puede exacerbar la patología asociada a la infección por *Chlamydia*<sup>15,16</sup>. La importancia de esta interacción entre la inmunidad mediada por células y los anticuerpos también apoya de forma cada vez más clara el papel preferencial de los anticuerpos neutralizantes en la fase inicial de la infección, mientras que las células CD4+ son los efectores principales en el resto de la infección<sup>17,18,19</sup>. En resumen, el equilibrio de los mecanismos efectores inmunitarios entre los anticuerpos y los linfocitos T parece ser crucial para el desenlace de la enfermedad.

Los presentes inventores y otros han identificado una gama de antígenos de clamidia reconocidos durante una infección natural en modelos en seres humanos o animales<sup>20,21,22,23,24,25,26,27</sup>. Especialmente la publicación de la secuencia genómica en 1998 y las técnicas modernas de alto rendimiento han conducido a ensayos de casi todo el genoma de 875 marcos de lectura abiertos<sup>28</sup>. Es importante destacar que la identificación de proteínas como antigénicas durante una infección no significa necesariamente que sean protectoras como vacunas<sup>29</sup> y, a pesar de la caracterización de una cantidad de antígenos tan grande, solo se ha demostrado que muy pocos de ellos median protección como vacunas en modelos en animales<sup>30,31,32</sup>. Además, para la mayor parte de las vacunas publicadas recientemente, la protección parcial observada está mediada por linfocitos T sin anticuerpos neutralizantes. Por tanto, faltan candidatos a vacunas que generen anticuerpos neutralizantes que puedan hacer frente a la infección en la fase inicial y que generen una respuesta inmunitaria equilibrada.

Hasta ahora solo ha habido datos convincentes sobre anticuerpos neutralizantes con tres antígenos expuestos en la superficie; PorB, que se localiza en la membrana externa de la clamidia y actúa como una porina<sup>33</sup>. Se ha demostrado que los anticuerpos contra éste neutralizan la infecciosidad de la clamidia<sup>34</sup>, ref de patente: US 7.105.171. Otro antígeno más reciente es PmpD. Se ha demostrado que esta proteína genera anticuerpos

neutralizantes *in vitro*, sin embargo, la relevancia *in vivo* de estos anticuerpos aún no se ha demostrado<sup>35</sup>.

MOMP es el antígeno diana clásico para neutralizar anticuerpos y es una de las primeras moléculas antigénicas descritas. Es una proteína transmembrana expuesta en la superficie que tiene propiedades estructurales (de porina)<sup>36,37,38</sup>. MOMP es una proteína de 40 kDa que constituye aproximadamente el 60 % de la proteína en la membrana de *Ct* y es una diana para neutralizar anticuerpos con eficacia comprobada tanto *in vitro* como *in vivo*. MOMP consiste en cuatro dominios variables expuestos en la superficie (VD-1 a VD-4) separados por cinco segmentos constantes<sup>36, 39</sup> y es la base molecular de la agrupación de serovares (~15) de *Chlamydia* (Fig. 1). Se han cartografiado los epítomos de anticuerpos neutralizantes *in vitro* e *in vivo* de estos VD<sup>40 41 42 43 44</sup>. El perfil de distribución de los serovares urogenitales de *Ct* se ha descrito para regiones de todo el mundo, proporcionando datos epidemiológicos para la cobertura de serovares que se necesita de una vacuna a base de MOMP. El serovar más común detectado en todo el mundo es el E (el 22-49 % de los casos) seguido de los serovares F y D (el 17-22 % y el 9-19 %, respectivamente)<sup>45 46 47 48 49 50</sup>, lo que significa que una vacuna dirigida a los serovares E, D y F tendría un impacto significativo y cubriría más del 70 % de la población humana.

MOMP es altamente inmunogénica en seres humanos y animales y, por tanto, se ha estudiado con gran detalle como candidato a vacuna, tanto como proteína purificada de forma nativa, de forma recombinante y como vacuna de ADN. Estos intentos de vacunación dieron resultados variables<sup>17,51,52,53,54,55,56,57</sup>. La razón de la irregularidad relativa de MOMP como vacuna no se comprende totalmente, pero el hecho de que los inmunógenos de MOMP sintéticos no imiten la estructura nativa de la proteína ha sido la principal preocupación<sup>54</sup>. En este sentido, la estructura de esta molécula rica en cisteína unida a la membrana y el replegamiento de diversos productos para conseguir la estructura de la proteína nativa han sido extremadamente difíciles y no son adecuados para la producción de vacunas a gran escala<sup>58</sup>. Por tanto, aunque claramente tiene potencial como vacuna, la MOMP de tamaño completo hasta ahora no ha sido una candidata a vacuna viable y, por tanto, se han hecho varios intentos para construir una vacuna a base de epítomos seleccionados (tales como el TTLNPTIAG altamente conservado en VD<sup>43,59</sup>) o a base de regiones seleccionadas ricas en epítomos diana neutralizantes (tales como los VD) de MOMP (documento WO9406827, documento US6384206)<sup>60,61 62,63 64 51,65 66</sup>.

Se ha prestado especial atención a VD1, VD2 y VD4 porque se ha demostrado que los anticuerpos monoclonales neutralizantes utilizados para el serotipado se cartografían en estas regiones. Estas regiones de VD son dianas de los anticuerpos durante la infección natural y, en línea con esto, estas regiones han sido naturalmente el foco de los intentos de desarrollar inmuno-diagnósticos. Por ejemplo, Mygind et al. construyeron diferentes poliantígenos que contenían regiones de VD de diferentes serovariantes en la búsqueda de una herramienta de diagnóstico basada en ELISA<sup>67</sup>. Este análisis reveló que mediante el aumento del número de serovariantes y la inclusión de TTLNPTIAG específico de especie en un poliantígeno recombinante, era posible aumentar la especificidad y la sensibilidad del ensayo en comparación con un ensayo basado en un solo antígeno de serovariante.

Principalmente VD4 ha atraído interés como inmunógeno porque se demostró que esta región contenía el epítomo específico de especie TTLNPTIAG altamente conservado incluido en la región variable. Es importante destacar que este epítomo conservado en la región de VD4 puede provocar una respuesta inmunitaria ampliamente reactiva cruzada, que es capaz de neutralizar múltiples serovares, entre ellos los más prevalentes D, E y F (Fig. 2). Los péptidos que representan la región de VD4 o el epítomo conservado derivado de esta región se han utilizado para la inmunización ya sea solos, como péptidos quiméricos fusionados con otras regiones tales como VD1 o mezclados con epítomos de linfocitos T para potenciar la respuesta de anticuerpos<sup>60,68 51 65 64 69</sup>. Todas estas construcciones generaron anticuerpos con algunas capacidades funcionales de neutralización de la infección *in vitro* pero, en general, estas estrategias adolecen de una baja inmunogenicidad y los títulos no se tradujeron en una eficacia protectora *in vivo* contra la exposición a la clamidia genital.

Las razones para la falta de protección cuando se usan estas construcciones a base de péptidos pueden ser numerosas; incluyendo la vía de administración, el tipo de respuesta inmunitaria obtenido, la dosis de exposición, pero lo más probable es que refleje que la molécula de vacuna no es suficientemente inmunogénica para su uso como vacuna. La estrategia basada en VD4 adolece además de la limitación de que, con la excepción del epítomo TTLNPTIAG, estos fragmentos como se mencionó anteriormente son altamente específicos para una o dos serovariantes y, en consecuencia, una vacuna tendría que estar compuesta por varios componentes para cubrir las serovariantes más frecuentes que provocan enfermedad humana.

En el documento WO2012172042 se ha desvelado anteriormente que epítomos de células B dentro de las regiones de VD, combinados con epítomos de linfocitos T (Th1 y Th2) definidos de dominios no variables de MOMP, podrían actuar como vacuna de poli-epítomos contra *Chlamydia psittaci* serovar D en pollos; en los ejemplos describen la combinación de hasta tres epítomos de células B, cada uno derivado de una región VD de diferentes dominios variables de la misma serovariante junto con varios epítomos de linfocitos T. No se sugiere el uso de repeticiones de un dominio variable de una región expuesta en la superficie de MOMP ni el uso de diferentes serovariantes y, por tanto, no se obtienen títulos altos ni una respuesta amplia contra diferentes serovariantes.

Wen Xu et al. (2010), *Vaccine* 29 (15), páginas 2672-2678 y el documento WO 2012/172042, desvelan ambas construcciones de múltiples epítomos de MOMP, que no incluyen ninguna repetición de fragmentos expuestos en la

superficie.

Mygin P et al. (2000), *J Med Microbiol* 49 (5), páginas 457-465 desvela construcciones multi-epítopo de MOMP que comprenden repeticiones de un patrón de fragmentos de MOMP expuestos en la superficie, que se aplican *in vitro*.

5 El objetivo de la presente invención es preparar moléculas de fusión recombinantes que sean capaces de generar una respuesta de anticuerpos neutralizantes de alto título que sea protectora contra diversos serovares de *Ct in vivo*. La invención de los presentes inventores describe además la combinación de estos fragmentos promotores de anticuerpos con antígenos de *Ct* que son dianas para los linfocitos T con el objetivo de proporcionar una vacuna que  
10 active ambas ramas del sistema inmunitario.

### Sumario de la invención

15 La presente invención desvela una vacuna eficaz contra un patógeno, por ejemplo, *Chlamydia trachomatis* (*Ct*), que incorpora repeticiones de fragmentos de antígenos expuestos en la superficie de *Ct* (inmuno-repeticiones homólogas) para respuestas de anticuerpos máximas. En una realización de la invención, estos fragmentos expuestos en la superficie se extienden para cubrir la región flanqueante de los fragmentos expuestos en la superficie que pueden contener epítomos de linfocitos T. Un ejemplo es un fragmento grande definido que representa una versión extendida de la región VD1 o VD4 del antígeno MOMP de *Ct* y en el formato de inmuno-repetición  
20 proporciona altos niveles anticuerpos de unión en la superficie y neutralizantes contra *Ct*. En otra realización importante, la tecnología de inmuno-repetición se usa para obtener títulos altos y una respuesta amplia contra diferentes serovariantes mediante la fusión de fragmentos que contienen epítomos de linfocitos T y B variables de diferentes serovariantes (inmuno-repeticiones heterólogas). En otra realización más de la invención de los presentes inventores, estas repeticiones expuestas en la superficie se fusionan de manera recombinante con fragmentos de  
25 otros antígenos expuestos en la superficie, tales como PMP u OMP. Finalmente, la invención de los presentes inventores desvela combinaciones de estas construcciones de inmuno-repetición con antígenos de linfocitos T fuertes, tales como MOMP (CT681), CT043 o CT004 de *Ct* que juntos forman una vacuna muy eficiente contra las diferentes etapas infecciosas de la infección por *Ct*.

### 30 Divulgación detallada de la invención

La invención desvela un polipéptido, para su uso como producto farmacéutico, que comprende

35 a) una secuencia de aminoácidos que comprende uno o más fragmentos expuestos en la superficie de la misma proteína de membrana externa expresada en un serotipo de *Chlamydia sp.*; y  
b) dos o más secuencias de aminoácidos adicionales que son ya sea la misma secuencia que se define en a) o son los fragmentos expuestos en la superficie correspondientes a una variante de dicha proteína de membrana externa expresada en un serotipo de *Chlamydia sp.*, que es diferente del serotipo en a) en donde la proteína de membrana externa es MOMP de cualquier serotipo y en donde el polipéptido comprende uno o más de los  
40 dominios variables 1, 2, 3, 4 de MOMP.

Por tanto, la invención desvela polipéptidos que comprenden inmuno-repeticiones, que son 3 o más, tales como 4 o más repeticiones, de una secuencia de aminoácidos que comprende una porción inmunogénica de una región expuesta en la superficie de una proteína de membrana externa de *Chlamydia sp.* Por tanto, la invención puede  
45 describirse como un polipéptido para su uso como producto farmacéutico que comprende una secuencia de aminoácidos que comprende uno o más fragmentos expuestos en la superficie de la misma proteína de membrana externa expresada en un serotipo de *Chlamydia sp.* y dos o más, tales como tres o más, secuencias de aminoácidos adicionales que son la misma secuencia que se define en a) o son los fragmentos expuestos en la superficie correspondientes a una variante de dicha proteína de membrana externa expresada en un serotipo de *Chlamydia sp.*, que es diferente del serotipo en a) para su uso como producto farmacéutico.  
50

En una realización preferida, el polipéptido comprende 3 o más secuencias de aminoácidos diferentes, donde dichas secuencias de aminoácidos comprenden cada una uno o más fragmentos expuestos en la superficie de diferentes variantes o isotipos de la misma proteína de membrana externa que varía en diferentes serotipos de *Chlamydia sp.*,  
55 dichas secuencias de aminoácidos derivadas de diferentes serotipos de *Chlamydia sp.* (inmuno-repeticiones heterólogas en la presente terminología), pero la invención también desvela un polipéptido que comprende 3 o más repeticiones de una secuencia de aminoácidos, donde dicha secuencia de aminoácidos comprende uno o más fragmentos expuestos en la superficie de la misma proteína de membrana externa que varía en diferentes serotipos de *Chlamydia sp.*, dichas secuencias de aminoácidos derivadas del mismo serotipo de *Chlamydia sp.* (inmuno-repeticiones homólogas en la presente terminología).  
60

La proteína de membrana externa es la proteína de membrana externa principal (MOMP, por sus siglas en inglés) de cualquier serotipo de *Chlamydia sp.* y el fragmento expuesto en la superficie se elige entre el dominio variable 1 (VD1), el dominio variable 2 (VD2), el dominio variable 3 (VD3) o el dominio variable 4 (VD4) de MOMP. El  
65 fragmento expuesto en la superficie puede linealizarse opcionalmente mediante sustitución de cisteína en la secuencia de aminoácidos para evitar enlaces disulfuro.

Una realización preferida de la invención son polipéptidos, para su uso como producto farmacéutico, que comprenden inmuno-repeticiones con 3 o más repeticiones del dominio variable 4 (VD4) de MOMP de cualquiera de los serovares D, E, F, G, la y J de *Chlamydia trachomatis*, donde cada dominio variable consiste en una secuencia de aminoácidos, que corresponde a la posición de los restos de aminoácidos N.º 309-338 en la secuencia de aminoácidos de MOMP de *Chlamydia trachomatis* serovar D (SvD) (SEQ ID NO.: 68) y donde los dominios variables en la inmuno-repetición se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en el VD4 del serovar D, el VD4 del serovar E, el VD4 del serovar F, el VD4 del serovar G, el VD4 del serovar la y el VD4 del serovar J de *Chlamydia trachomatis* o tiene una identidad de secuencia del 80 % con los mismos.

10 La secuencia de aminoácidos de VD4 del serovar D, E, F, G, la y J corresponde a la SEQ ID NO 15-20, respectivamente. Cada dominio variable puede estar flanqueado/extendido adicionalmente en el lado N-terminal ya sea por

- 15 i) La secuencia de aminoácidos EWQASLALSRYRLNMFTPYIGVKWSRASFDADTIRIAQPK (SEQ ID NO 21) o
- ii) Una subsecuencia de la secuencia de aminoácidos en i) comprendiendo dicha subsecuencia 1 o más restos de aminoácidos, En el lado C-terminal, el dominio variable puede estar flanqueado/extendido adicionalmente por
- iii) La secuencia de aminoácidos DTMQIVSLQLNKMKSRSKSCGIAVGTIVDA (SEQ ID NO 22)
- iv) Una subsecuencia de la secuencia de aminoácidos en iv) comprendiendo dicha subsecuencia 1 o más restos de aminoácidos,

20 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencia de al menos el 80 % con la misma.

Por tanto, la realización preferida puede describirse como polipéptidos que comprenden 2-8 secuencias de aminoácidos diferentes, cada una derivada de MOMP de *Chlamydia trachomatis* que comprende una secuencia de aminoácidos definida en la fórmula I:

$$xx_1\text{-VD4-}xx_2 \quad (\text{Fórmula I})$$

en donde

30 VD4 se selecciona independientemente entre las SEQ ID NO. 15-20 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencia de al menos el 80 % con las mismas, y

35  $xx_1$  consiste en

- 40 i) La secuencia de aminoácidos EWQASLALSRYRLNMFTPYIGVKWSRASFDADTIRIAQPK (SEQ ID NO 21) o
- ii) Una subsecuencia de la secuencia de aminoácidos en i) comprendiendo dicha subsecuencia 1-38 restos de aminoácidos, comenzando con el K C-terminal en la secuencia de aminoácidos en i) y

$xx_2$  consiste en

- 45 iii) La secuencia de aminoácidos DTMQIVSLQLNKMKSRSKSCGIAVGTIVDA (SEQ ID NO 22)
- v) Una subsecuencia de la secuencia de aminoácidos en iii) comprendiendo dicha subsecuencia 1-29 restos de aminoácidos, comenzando con el D N-terminal en la secuencia de aminoácidos en iii).

50 Los ejemplos de proteínas de fusión que comprenden inmuno-repeticiones de VD4 de MOMP se indican por la SEQ ID NO 49-59.

En otra realización de la invención, el polipéptido para su uso como producto farmacéutico comprende adicionalmente inmuno-repeticiones de 3 o más dominios variables 1 (VD1) de MOMP de cualquiera de los serovares D, E, F, G, la y J de *Chlamydia trachomatis*, consistiendo cada dominio variable en una secuencia de aminoácidos, que corresponde a la posición de los restos de aminoácidos n.º 91-105 en la secuencia de aminoácidos de MOMP de *Chlamydia trachomatis* serovar D (SvD) (SEQ ID NO.: 68) y se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en el VD1 del serovar D, el VD1 del serovar E, el VD1 del serovar F, el VD1 del serovar G, el VD1 del serovar la y el VD1 del serovar J de *Chlamydia trachomatis* o tiene una identidad de secuencia del 80 % con los mismos.

60 La secuencia de aminoácidos de VD1 del serovar D, E, F, G, la y J corresponde a la SEQ ID NO 1-6, respectivamente. Cada dominio variable puede estar flanqueado/extendido adicionalmente en el lado N-terminal ya sea por

- 65 vi) La secuencia de aminoácidos SMRVGYGDFVDFRVLKTDVNKEFQMG (SEQ ID NO 7)
- vii) Una subsecuencia de la secuencia de aminoácidos en v) comprendiendo dicha subsecuencia 1 o más restos

de aminoácidos.

En el lado C-terminal, el dominio variable puede estar flanqueado/extendido adicionalmente por

- 5       viii) La secuencia de aminoácidos NPAYGRHMQDAEMFTNAACMALNIWD (SEQ ID NO 8)  
       ix) Una subsecuencia de la secuencia de aminoácidos en x) comprendiendo dicha subsecuencia 1 o más restos de aminoácidos;

O una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencia de al menos el 80 % con la misma.

10       Por tanto, otra realización preferida puede describirse como polipéptidos, para su uso como producto farmacéutico, que comprenden 2-8 secuencias de aminoácidos diferentes cada una derivada de MOMP de *Chlamydia trachomatis* que comprende una secuencia de aminoácidos definida en la fórmula I y que comprende adicionalmente una secuencia de aminoácidos definida en la fórmula II:

15       yy<sub>1</sub>-VD1-yy<sub>2</sub>                               (Fórmula II)

en donde

20       VD1 se selecciona independientemente entre las SEQ ID NO. 1-6 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencia de al menos el 80 % con las mismas,  
       y

25       yy<sub>1</sub> consiste en

- v) La secuencia de aminoácidos DAISMRVGYGDFVDFRVLKTDVNKEFQMG (SEQ ID NO 7) o  
       vi) Una subsecuencia de la secuencia de aminoácidos en v) comprendiendo dicha subsecuencia 1-30 restos de aminoácidos, comenzando con el G C-terminal en la secuencia de aminoácidos en v) e

30       yy<sub>2</sub> consiste en

- vii) La secuencia de aminoácidos NPAYGRHMQDAEMFTNAA (SEQ ID NO 8) o  
       viii) Una subsecuencia de la secuencia de aminoácidos en vii) comprendiendo dicha subsecuencia 1-18 restos de aminoácidos, comenzando con el N N-terminal en la secuencia de aminoácidos en vii).

35       Los ejemplos de polipéptidos que comprenden inmuno-repeticiones de VD1 se indican mediante las SEQ ID NO 9-14 y 45-48.

40       Realizaciones adicionales de la invención comprenden adicionalmente un fragmento que comprende los dominios variables 2 (VD2) y/o los dominios variables 3 (VD3) de MOMP que comprenden respectivamente una secuencia de aminoácidos definida en la fórmula III y/o fórmula IV:

      zz<sub>1</sub>-VD2-zz<sub>2</sub>                               (Fórmula III)

45       qq<sub>1</sub>-VD3-qq<sub>2</sub>                               (Fórmula IV)

en donde

50       VD2 se selecciona independientemente entre las SEQ ID NO. 29-34 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencia de al menos el 80 % con las mismas,  
       y

      zz<sub>1</sub> consiste en

- 55       ix) La secuencia de aminoácidos TLGATSGYLKGNASFNLVGLFG (SEQ ID NO 35) o  
       x) Una subsecuencia de la secuencia de aminoácidos en ix) comprendiendo dicha subsecuencia 1-23 restos de aminoácidos, comenzando con el G C-terminal en la secuencia de aminoácidos en ix) y

      zz<sub>2</sub> consiste en

- 60       xi) La secuencia de aminoácidos TLGATSGYLKGNASFNLVGLFG (SEQ ID NO 36) o  
       xii) Una subsecuencia de la secuencia de aminoácidos en xi) comprendiendo dicha subsecuencia 1-22 restos de aminoácidos, comenzando con el V N-terminal en la secuencia de aminoácidos en xi).

65       Y en donde

VD3 se selecciona independientemente entre las SEQ ID NO. 37-42 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencia de al menos el 80 % con las mismas,

y

5 qq<sub>1</sub> consiste en

xiii) La secuencia de aminoácidos  
ATLGASFQYAQSKPKVEELNVLCNAAEFTINKPKGYVG (SEQ ID NO 43) o

10 xiv) Una subsecuencia de la secuencia de aminoácidos en xiii) comprendiendo dicha subsecuencia 1-22 restos de aminoácidos, comenzando con el G C-terminal en la secuencia de aminoácidos en xiii)

y

qq<sub>2</sub> consiste en

15 xv) La secuencia de aminoácidos TGTKDASIDYHEWQASLALSRYRLNMFTPYIGVKWS (SEQ ID NO 44) o

xvi) Una subsecuencia de la secuencia de aminoácidos en xv) comprendiendo dicha subsecuencia 1-35 restos de aminoácidos, comenzando con el T N-terminal en la secuencia de aminoácidos en xv).

20 Las inmuno-repeticiones pueden ser heterólogas, es decir, donde el dominio variable deriva de diferentes serotipos o pueden ser homólogos, es decir, donde el dominio variable deriva de un solo serotipo. El número preferido de repeticiones es 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 repeticiones.

25 Además, las inmuno-repeticiones en los polipéptidos pueden linealizarse, es decir, los restos de cisteína se reemplazan con serina.

30 Los polipéptidos que comprenden inmuno-repeticiones pueden comprender adicionalmente un resto que facilita la exportación del polipéptido cuando se produce de forma recombinante (por ejemplo, péptidos de señal eléctrica), un resto que facilita la purificación del polipéptido (por ejemplo, etiquetas his) y/o un resto que potencia la inmunogenicidad (por ejemplo, un antígeno de linfocito T). La diana del linfocito T puede elegirse entre un antígeno de *Ct* tal como CT043, CT004, CT414, CT681 o parte de los mismos. Los ejemplos de dichas proteínas de fusión se indican mediante las SEQ ID NO 60-67.

35 Un polipéptido para su uso como producto farmacéutico de acuerdo con la invención puede tener las siguientes capacidades funcionales:

a) neutralizar *C. trachomatis* serovar D *in vitro* con un título de neutralización del 50 % de 10<sup>-3</sup> o menos, cuando se somete a ensayo en una configuración experimental que comprende la administración de inmuno-repeticiones heterólogas;

40 b) neutralizar *C. trachomatis* serovar D *in vivo* en al menos el 50 % de los ratones el día 7 después de la infección cuando se somete a ensayo en un modelo en ratón que comprende administrar inmuno-repeticiones heterólogas

c) ampliar la respuesta inmunitaria a múltiples serovares de *C. trachomatis in vitro* cuando se administran inmuno-repeticiones heterólogas.

45

La presente solicitud también desvela ácidos nucleicos que codifican los polipéptidos descritos anteriormente.

50 Los polipéptidos o ácidos nucleicos que se desvelan se usan para la preparación de una composición farmacéutica tal como una vacuna. La vacuna puede comprender adicionalmente un vehículo (partículas similares a virus), excipiente, adyuvante (por ejemplo, DDA/TDB o alumbre) o inmunomodulador farmacológicamente aceptable. La composición farmacéutica puede usarse para su uso profiláctico o terapéutico contra infecciones por *Chlamydia sp.*, incluyendo infecciones con *Chlamydia trachomatis* o *C. pneumoniae*.

55 También se desvela un método para prevenir, tratar y/o reducir la incidencia de infecciones por *Chlamydia sp.*, incluyendo infecciones con *Chlamydia trachomatis* o *C. pneumoniae*, mediante la administración de la presente composición farmacéutica.

A continuación, la invención se describirá con más detalle y se ejemplificará.

60 La inmuno-repetición de una región expuesta en la superficie puede ser del mismo serotipo (inmuno-repeticiones homólogas) o representar fragmentos que contengan epítopos variables y deriven de diferentes serotipos (inmuno-repeticiones heterólogas). En una realización preferida, las inmuno-repeticiones contienen un fragmento extendido que contiene una región tanto variable como conservada que se sabe que es rica en epítopos de linfocitos T.

65 Una región expuesta en la superficie preferida de una proteína de membrana externa se elige entre VD1, VD2, VD3 y VD4 de MOMP.

Las secuencias de aminoácidos utilizadas para construir las inmuno-repeticiones que se describen en los ejemplos se eligen entre las tablas 1, 2 y 3.

5 El dominio variable de VD4 de MOMP puede describirse como secuencias de aminoácidos definidas como: La1-Aa2-Aa1-Aa3-La2 en donde Aa1 consiste en la secuencia de aminoácidos TTLNPTIAG (que se conserva para todos los serovares); Aa2 se selecciona entre el grupo que consiste en: SATAIFDT (del serovar D y E), LVTPVVDI (del serovar F), LAKPVVDI (del serovar G) y LAEALDV (del serovar la y J).

10 Cuando Aa2 es la secuencia del serovar D o E, entonces Aa3 se selecciona entre las secuencias establecidas en AGD-VKTGAEGQLG (del serovar D) y AGDVKASAEGQLG (serovar E).

Cuando Aa2 es la secuencia del serovar F, entonces Aa3 es la secuencia CGSVAGANTEGQIS (del serovar F).

15 Cuando Aa2 es la secuencia del serovar G, entonces Aa3 es la secuencia CGSWAANSEGQIS (del serovar G).

Cuando Aa2 es la secuencia del serovar la o J), entonces Aa3 se selecciona entre KGTVVSSAENELA (del serovar la) y KGTVVASGSENDLA (del serovar J)

20 El dominio variable VD4 de MOMP se representa en la figura 2. Las inmuno-repeticiones preferentemente comprenden adicionalmente extensiones en cualquiera de los lados que también se representan en la figura 2.

25 El lado N-terminal de un dominio VD4 puede estar flanqueado o extendido por uno o más aminoácidos del La1 más conservado y rico en epítomos de linfocitos T, donde La1 es la parte del VD4 de MOMP que está incluido en la membrana y tiene la secuencia de aminoácidos EWQASLALSRYRLNMFPTYIGVKWSRASFDADTIRIAQPK o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencia del 80 % con la misma.

30 El lado C-terminal de un dominio VD4 puede estar correspondientemente flanqueado o extendido por uno o más aminoácidos del La2 más conservado y rico en epítomos de linfocitos T, donde La2 es la parte del VD4 de MOMP que está incluido en la membrana en el lado C-terminal y tiene la secuencia de aminoácidos DTMQIVSLQLNKMKSRCGIAVGTTIVDA o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencia del 80 % con la misma.

35 Una ilustración similar (véase la figura 1) puede describir inmuno-repeticiones que comprenden el dominio variable 1 (VD1) de MOMP con los dominios variables (Aa2-Aa1-Aa3) de los diversos serovares que se proporcionan en las SEQ ID NO 1-6 en la tabla 1. Las correspondientes extensiones N-terminales y C-terminales (La1 y La2) tienen las secuencias de aminoácidos respectivas SMRVGYGDFVDFRVLKTDVNKEFQMG (La1) y NPAYGRHMQDAEMFTNAACMALNIWD (La2) que se proporcionan en la tabla 2 mediante las SEQ ID NO 7-8.

40 Las inmuno-repeticiones que comprenden VD2 y VD3 pueden deducirse de manera similar de la figura 1 y la tabla 1.

45 Por tanto, el ejemplo anterior La1-Aa2-Aa1-Aa3-La2 define una de las unidades de inmuno-repetición. Si, adicionalmente, por ejemplo, se añade VD1 a una unidad VD4, esto puede describirse como la adición de una secuencia más para constituir una unidad de inmuno-repetición más grande. Por tanto, el polipéptido para el uso de la invención comprende 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 repeticiones de unidades de inmuno-repetición.

## Definiciones

### *Proteínas de membrana externa*

50 La membrana externa de *Chlamydia sp.* puede aislarse mediante el tratamiento de cuerpos elementales purificados intactos con detergente tal como Sarkosyl al 2 % seguido de ultracentrifugación (100.000 g durante una hora) que conducirá a un sobrenadante con componentes citosólicos y un sedimento que contiene la membrana externa como se describió anteriormente<sup>70</sup>. Después, las proteínas de membrana externa pueden identificarse mediante técnicas de proteínas convencionales, por ejemplo, mediante espectrometría de masas después de SDS-PAGE.

### *Fragmentos o regiones expuestas en la superficie*

60 Las proteínas bacterianas de superficie o de membrana comprenden proteínas transmembrana, secretoras y lipoproteínas, y proteínas de superficie sin anclaje. Las regiones expuestas en la superficie de bacterias intactas son accesibles para los anticuerpos. Los métodos para identificar regiones expuestas en la superficie de proteínas (el 'superficioma') comprenden, por ejemplo, la biotilación de las proteínas de membrana en bacterias intactas, seguida del aislamiento de la fracción marcada con biotina usando estreptavidina. Las proteínas aisladas pueden identificarse mediante espectrometría de masas. Otro enfoque es tratar bacterias intactas con una proteasa, por ejemplo, tripsina ("afeitado") para escindir péptidos expuestos en la superficie, seguido de recogida de los péptidos liberados para la identificación mediante espectrometría de masas.



*Variantes*

5 Las variantes de proteínas de membrana externa proporcionadas en el presente documento describen proteínas codificadas por el mismo gen de diferentes serotipos de *Chlamydia sp.* Una proteína variante comparte una homología significativa con un polipéptido de referencia.

*Una isoforma de proteína*

10 En el contexto de la presente solicitud, una "isoforma" de proteína se entiende como cualquiera de varias formas diferentes de la misma proteína, por ejemplo, una proteína que tiene la misma función pero que está codificada por un gen diferente y puede tener diferencias pequeñas en su secuencia o surge de polimorfismos de un único nucleótido, corte y empalme diferencial de ARNm o modificaciones postraduccionales. Los diferentes serotipos de bacterias pueden tener diferentes isoformas de determinadas proteínas.

15

*Especies de Chlamydia*

20 Por la expresión "especie de *Chlamydia*" se entiende una bacteria capaz de provocar la infección por *Chlamydia* en un animal o en un ser humano. Son ejemplos *C. trachomatis*, *C. pneumoniae* y *C. muridarum*. También en animales, se conocen varias infecciones con *Chlamydia sp.*, por ejemplo, *Chlamydia Suis* que infecta cerdos y *Chlamydia abortus* que provoca el aborto en rumiantes pequeños (ovejas y cabras).

*Serovariantes, serovares o serotipos*

25 Basándose en la reactividad de anticuerpos monoclonales específicos contra y el análisis de secuencia detallado de las regiones variables de MOMP, *Ct* puede dividirse en 15 serovariantes diferentes y de estas serovariantes A, B, Ba y C provocan Tracoma, D - K provocan enfermedad de transmisión sexual (ETS), L1 - L3 provoca Linfogranuloma venéreo y MoPn (*C. muridarum*) infecta ratones. Las serovariantes en ocasiones se mencionan como serovares o serotipos con el mismo significado.

30

*Inmuno-repeticiones*

35 Por inmuno-repeticiones se entiende: unidades repetitivas de una o más secuencias de aminoácidos que comprenden una porción inmunogénica o fragmento de un antígeno. Las unidades que se repiten pueden describirse como una o más regiones de VD, que opcionalmente pueden extenderse como se ha descrito anteriormente, que se repiten, por ejemplo, 4 ejemplos con tres repeticiones VD4-VD4-VD4, VD4-VD1-VD4-VD1-VD4-VD1, VD4<sub>D</sub>-VD4<sub>D</sub> - VD4<sub>D</sub> - VD4<sub>F</sub> - VD4<sub>G</sub>, VD4<sub>d</sub> - VD3<sub>E</sub> - VD4<sub>D</sub> - VD3<sub>E</sub> - VD4<sub>D</sub> - VD3<sub>E</sub>.

*Inmuno-repeticiones homólogas*

40

Unidades repetitivas de una o más secuencias de aminoácidos que comprenden una porción o un fragmento inmunogénicos de un antígeno de una serovariante solamente (Fig. 4)

*Inmuno-repeticiones heterólogas*

45

Unidades repetitivas de una o más secuencias de aminoácidos que comprenden una porción o un fragmento inmunogénicos que codifican el mismo antígeno derivado de diferentes serovariantes (Fig. 4).

*Exposición heteróloga*

50

Se refiere a la situación en la que la proteína utilizada para la vacunación deriva de una serovariante bacteriana diferente de la serovariante utilizada para la exposición.

*Exposición homóloga*

55

Se refiere a la situación en la que la proteína utilizada para la vacunación deriva de la misma serovariante bacteriana que la serovariante utilizada para la exposición.

*MOMP*

60

La Proteína de Membrana Externa Principal (MOMP) de *Ct*, se expresa durante todas las fases del ciclo de vida de desarrollo de *Ct* y constituye aproximadamente el 60 % del contenido total de proteína de la membrana externa de las clamidias. MOMP puede dividirse en dominios conservados interrumpidos por cuatro dominios altamente variables (VD1-4 o VS1-4)<sup>59</sup> (FIG. 1)

65

*VD1*

5 Dominio variable 1 (VD1) de MOMP como definieron Baehr et al (1988)<sup>36</sup> que corresponde a los aminoácidos 91-105 y constituye una región altamente variable en MOMP de *Ct* (Seq no 1-6 VD1 de SvD, E, F, G, la y J respectivamente). La región de VD1 extendido (VD1<sup>ext</sup>) corresponde a los aminoácidos 57-115 y constituye dicha región altamente variable flanqueada por regiones altamente conservadas en MOMP de *Ct* (Seq no 9-14 VD1<sup>ext</sup> de SvD, E, F, G, la y J respectivamente) (Fig. 3).

#### VD4

10 Dominio variable 4 de MOMP como definieron Baehr et al (1988)<sup>36</sup> que corresponde a los aminoácidos 309-338 y constituye una región altamente variable en MOMP de *Ct* (Seq no 15-20 VD4 de SvD, E, F, G, la y J respectivamente). La región de VD4 extendido (VD4<sup>ext</sup>) corresponde a los aminoácidos 282-349 y constituye dicha región altamente variable flanqueada por regiones altamente conservadas en MOMP de *Ct* (Seq no 23-28 VD4<sup>ext</sup> de SvD, E F, G, la y J respectivamente).

#### 15 *Linealizado*

La palabra "linealizado" en la presente invención se refiere a una cadena de aminoácidos de cualquier longitud, incluyendo una proteína de longitud completa, oligopéptidos, péptidos cortos y fragmentos de los mismos, en donde el aminoácido cisteína se ha sustituido por serina con el fin de impedir a los restos de cisteína formar enlaces disulfuro.

#### *Epítipo neutralizante*

25 Un epítipo neutralizante como se usa en el presente documento supone una secuencia de aminoácidos que define un determinante antigénico al que se une un anticuerpo y, en el contexto de infección, reduce la infecciosidad de una carga de *Chamydia*, por ejemplo, mediante bloqueo de la interacción bacteriana con células hospedadoras, lo que es importante para establecer infecciones y enfermedades bacterianas, facilitando la eliminación bacteriana.

#### *Neutralización*

30 La neutralización ha de abarcar cualquier actividad biológica de la bacteria, incluyendo la reducción en la eficiencia o la capacidad de la bacteria para establecer infección o provocar enfermedad o síntomas de enfermedad y la inhibición de la formación de EB de clamidias.

#### 35 *Anticuerpos neutralizantes*

Anticuerpos que se unen a un epítipo neutralizante como se ha descrito anteriormente.

#### *Polipéptidos*

40 La palabra "polipéptido" en la presente invención debería tener su significado habitual. Esa decir, una cadena de aminoácidos de cualquier longitud, incluyendo una proteína de longitud completa, oligopéptidos, péptidos cortos y fragmentos de los mismos, en donde los restos de aminoácidos están unidos por enlaces peptídicos covalentes.

#### 45 *IFN-γ*

Por el término "*IFN-γ*" se entiende interferón-gamma. La medición de *IFN-γ* se usa como una indicación de una respuesta inmunitaria de linfocitos T.

#### 50 *Comprende*

En toda la presente memoria descriptiva, a menos que el contexto requiera lo contrario, se entenderá que la palabra "comprende" o variaciones de la misma, tales como "comprenden" o "que comprende", implican la inclusión de un elemento o número entero o grupo de elementos o números enteros establecidos, pero no la exclusión de ningún otro elemento o número entero o grupo de elementos o números enteros.

#### *Porción o fragmento inmunogénicos*

60 En una realización preferida de la invención, el polipéptido comprende una porción o un fragmento inmunogénicos del polipéptido, tal como un epítipo para una célula B o un linfocito T.

La porción o el fragmento inmunogénicos de un polipéptido es una parte del polipéptido, que desencadena una respuesta inmunitaria en un animal o un ser humano, y/o en una muestra biológica determinada mediante cualquiera de los ensayos biológicos que se describen en el presente documento. La porción o el fragmento inmunogénicos de un polipéptido pueden ser un epítipo de linfocito T o un epítipo de célula B. Las porciones o fragmentos inmunogénicos pueden relacionarse con una o unas pocas partes relativamente pequeñas del polipéptido, pueden

estar dispersos por toda la secuencia polipeptídica o ubicarse en partes específicas del polipéptido. Para algunos polipéptidos, incluso se ha demostrado que los epítomos están dispersos por todo el polipéptido cubriendo la secuencia completa<sup>71</sup>.

- 5 Con el fin de identificar epítomos de linfocitos T relevantes que son reconocidos durante una respuesta inmunitaria, es posible usar un método de "fuerza bruta": Puesto que los epítomos de linfocitos T son lineales, los mutantes por supresión del polipéptido, si se construyen sistemáticamente, revelarán qué las regiones del polipéptido son esenciales en el reconocimiento inmunitario, por ejemplo, sometiendo estos mutantes de supresión, por ejemplo, al ensayo de IFN- $\gamma$  que se describe en el presente documento. Otro método utiliza oligopéptidos superpuestos para la
- 10 detección de epítomos de CMH de clase II, preferentemente sintéticos, que tienen una longitud de, por ejemplo, 20 restos de aminoácidos derivados del polipéptido. Estos péptidos pueden someterse a ensayo en ensayos biológicos (por ejemplo, el ensayo de IFN- $\gamma$  como se describe en el presente documento) y algunos de éstos proporcionarán una respuesta positiva (y, por tanto, serán inmunogénicos) como evidencia de la presencia de un epítomo de linfocito T en el péptido. Para la detección de epítomos del CMH de clase I, es posible predecir péptidos que se unirán<sup>72</sup> y en adelante producirán estos péptidos sintéticos, y someterlos a ensayo en ensayos biológicos relevantes, por ejemplo, el ensayo IFN- $\gamma$  como se describe en el presente documento. Los péptidos tienen preferentemente una longitud de,
- 15 por ejemplo, 8 a 11 restos de aminoácidos derivados del polipéptido. Pueden determinarse epítomos de células B analizando el reconocimiento por células B de péptidos superpuestos que cubren el polipéptido de interés como se describe, por ejemplo, en Harboe et al<sup>73</sup>.

#### 20 *Inmunogénico*

Un polipéptido inmunogénico se define como un polipéptido que induce una respuesta inmunitaria en una muestra biológica o en un individuo actualmente o anteriormente infectado con *Chlamydia*.

#### 25 *Proteínas de fusión*

- Por una proteína de fusión se entienden dos o más polipéptidos unidos covalentemente. Las proteínas de fusión pueden producirse con características superiores del polipéptido. Por ejemplo, compañeros de fusión que facilitan la exportación de la proteína de fusión cuando se produce de forma recombinante (por ejemplo, péptidos señal),
- 30 compañeros de fusión que facilitan la purificación de la proteína de fusión (por ejemplo, marcadores his) y compañeros de fusión que potencian la inmunogenicidad de la proteína de fusión son todas posibilidades interesantes. El compañero de fusión, con el fin de potenciar la inmunogenicidad, puede ser otro polipéptido derivado de *C. trachomatis*, tal como un polipéptido, un fragmento de polipéptido o al menos un epítomo de linfocito T o
- 35 epítomo de célula B.

#### *Composición farmacéutica*

- Una composición farmacéutica se define como cualquier vacuna (tanto terapéutica como profiláctica) o cualquier reactivo de diagnóstico.

#### *Vacuna, proteína*

- Otra parte de la invención se refiere a una composición de vacuna que comprende una proteína de fusión o un ácido nucleico que codifica dicha proteína de fusión que se desvela en la invención. Con el fin de garantizar un rendimiento óptimo de dicha composición de vacuna, se prefiere que comprenda un excipiente, vehículo o adyuvante inmunitaria y farmacéuticamente aceptable.

- Una vacuna eficaz, en donde un mamífero, incluyendo un ser humano, reconoce una proteína de fusión para el uso de la invención, disminuirá la carga bacteriana en los órganos diana, prolongará los tiempos de supervivencia y/o disminuirá la pérdida de peso después de la exposición con bacterias de clamidia virulentas, en comparación con individuos no vacunados.

- Los vehículos adecuados se seleccionan entre el grupo que consiste en un polímero al que se une el polipéptido o polipéptidos mediante interacción hidrófoba no covalente, tal como un plástico, por ejemplo, poliestireno, o un polímero al que se une covalentemente el polipéptido o polipéptidos, tal como un polisacárido, o un polipéptido, por ejemplo, albúmina sérica bovina, ovoalbúmina o hemocianina de lapa californiana. Los vehículos adecuados se seleccionan entre el grupo que consiste en un diluyente y un agente de suspensión. El adyuvante se selecciona preferentemente entre el grupo que consiste en bromuro de dimetildioctadecilamonio (DDA), Quil A, poli I:C, hidróxido de aluminio, adyuvante incompleto de Freund, IFN $\gamma$ , IL-2, IL-12, monofosforil lípido A (MPL), dimicolato de trehalosa (TDM), dibifenato de trehalosa (TDB) y muramil dipéptido (MDP), monomicolilglicerol (MMG) o una combinación de los mismos. Una combinación preferida es un liposoma catiónico tal como DDA combinado con TDB y/o poli I:C.

- 65 La preparación de vacunas que contienen secuencias peptídicas como principios activos en general se entiende bien en la técnica, como se ejemplifica en las Patentes de los EE.UU. 4.608.251; 4.601.903; 4.599.231 y 4.599.230, todas

incorporadas en el presente documento por referencia.

#### Vacuna terapéutica.

5 La invención también se refiere a un polipéptido o ácido nucleico de la invención para su uso como vacunas terapéuticas como se ha descrito en la bibliografía ejemplificada por D. Lowry (Lowry et al 1999). Los antígenos con propiedades terapéuticas pueden identificarse en función de su capacidad para disminuir la gravedad de la infección por *Ct* en animales de experimentación o prevenir la reactivación de infecciones previas, cuando se administran como vacuna. La composición utilizada para vacunas terapéuticas puede prepararse como se ha descrito  
10 anteriormente para vacunas.

La presente invención describe antígenos de vacuna altamente inmunogénicos novedosos con una amplia capacidad neutralizante basada en anticuerpos que protege contra diferentes serovariantes de *Chlamydia trachomatis*. Los presentes inventores demuestran que unidades repetitivas de fragmentos definidos del antígeno MOMP proporcionan moléculas altamente inmunogénicas a las que los presentes inventores se refieren como inmuno-repeticiones. La vacunación con inmuno-repeticiones homólogas que contienen fragmentos extendidos de VD4 (cubre el dominio variable VD4 de MOMP y las regiones flanqueantes conservadas adyacentes) en diferentes adyuvantes proporciona títulos de anticuerpos muy altos y los presentes inventores demuestran que estas construcciones son mucho más eficientes que la inmunización con unidades individuales del fragmento extendido de VD4. El efecto aumentado puede observarse como un título notablemente aumentado, direccionamiento de anticuerpos aumentado de la superficie de la bacteria, capacidad neutralizante aumentada, respuesta de linfocitos T aumentada y ampliada y protección aumentada contra una exposición con la cepa homóloga. Además, los presentes inventores demuestran que la tecnología de inmuno-repetición puede utilizarse también para mejorar la protección contra y la neutralización de otras serovariantes mediante la construcción de inmuno-repeticiones heterólogas a  
25 base de fragmentos extendidos de VD4 de serovariantes diferentes tales como serovar D, E, F y G (Fig. 3).

Tabla 1. Descripción de secuencias utilizadas en la construcción de inmuno-repeticiones

SEQ ID NO	Dominios variables	Descripción
1	VD1_SvD	Dominio variable 1 de serovar D de MOMP
2	VD1_SvE	Dominio variable 1 de serovar E de MOMP
3	VD1_SvF	Dominio variable 1 de serovar F de MOMP
4	VD1_SvG	Dominio variable 1 de serovar G de MOMP
5	VD1_Svla	Dominio variable 1 de serovar la de MOMP
6	VD1_SvJ	Dominio variable 1 de serovar J de MOMP
7	Extremo N de VD1	Extensión N-terminal de VD1
8	Extremo C de VD1	Extensión C-terminal de VD1
9	VD1ext_SvD	VD1 extendido de serovar D de MOMP
10	VD1ext_SvE	VD1 extendido de serovar E de MOMP
11	VD1ext_SvF	VD1 extendido de serovar F de MOMP
12	VD1ext_SvG	VD1 extendido de serovar G de MOMP
13	VD1ext_Svla	VD1 extendido de serovar la de MOMP
14	VD1ext_SvJ	VD1 extendido de serovar J de MOMP
15	VD4_SvD	Dominio variable 4 de serovar D de MOMP
16	VD4_SvE	Dominio variable 4 de serovar E de MOMP
17	VD4_SvF	Dominio variable 4 de serovar F de MOMP
18	VD4_SvG	Dominio variable 4 de serovar G de MOMP
19	VD4_Svla	Dominio variable 4 de serovar la de MOMP
20	VD4_SvJ	Dominio variable 4 de serovar J de MOMP
21	Extremo N de VD4	Extensión N-terminal de VD4
22	Extremo C de VD4	Extensión C-terminal de VD4

23	VD4ext_ SvD	VD4 extendido de serovar D de MOMP
24	VD4ext_ SvE	VD4 extendido de serovar E de MOMP
25	VD4ext_ SvF	VD4 extendido de serovar F de MOMP
26	VD4ext_ SvG	VD4 extendido de serovar G de MOMP
27	VD4ext_ SvIa	VD4 extendido de serovar Ia de MOMP
28	VD4ext_ SvJ	VD4 extendido de serovar J de MOMP
29	VD2_ SvD	Dominio variable 2 de serovar D de MOMP
30	VD2_ SvE	Dominio variable 2 de serovar E de MOMP
31	VD2_ SvF	Dominio variable 2 de serovar F de MOMP
32	VD2_ SvG	Dominio variable 2 de serovar G de MOMP
33	VD2_ SvIa	Dominio variable 2 de serovar Ia de MOMP
34	VD2_ SvJ	Dominio variable 2 de serovar J de MOMP
35	Extremo N de VD2	Extensión N-terminal de VD2
36	Extremo C de VD2	Extensión C-terminal de VD2
37	VD3_ SvD	Dominio variable 3 de serovar D de MOMP
38	VD3_ SvE	Dominio variable 3 de serovar E de MOMP
39	VD3_ SvF	Dominio variable 3 de serovar F de MOMP
40	VD3_ SvG	Dominio variable 3 de serovar G de MOMP
41	VD3_ SvIa	Dominio variable 3 de serovar Ia de MOMP
42	VD3_ SvJ	Dominio variable 3 de serovar J de MOMP
43	Extremo N de VD3	Extensión N-terminal de VD3
44	Extremo C de VD3	Extensión C-terminal de VD3

5 Las inmuno-repeticiones heterólogas fueron altamente inmunogénicas pero además aumentaron la amplitud de las respuestas de anticuerpos que se asoció a una especificidad fina más amplia de la respuesta de anticuerpos (medida mediante exploraciones de péptidos) que se dirige a un repertorio más diverso de epítomos lineales dentro de la región de VD4 que las inmuno-repeticiones homólogas. Los presentes inventores también demuestran que las inmuno-repeticiones heterólogas altamente inmunogénicas pueden basarse en fragmentos aún más grandes que incorporan fusiones de fragmentos extendidos de VD1 y VD4 y los presentes inventores confirman que en modelos en animales la protección promovida por estas inmuno-repeticiones heterólogas está mediada predominantemente por anticuerpos. Como existe la necesidad generalmente reconocida de un componente de IMC fuerte (por ejemplo, un epítomo de linfocito T) en una respuesta inmunitaria protectora eficiente contra *Ct*, los presentes inventores también han demostrado que extendiendo totalmente la región de VD4 N-terminalmente para incluir una región rica en linfocitos T, pueden generarse inmuno-repeticiones que combinan la capacidad de generar anticuerpos neutralizantes altamente titulados con una respuesta de linfocitos T fuerte que elimina la infección residual en una construcción. Los presentes inventores también han demostrado que las inmuno-repeticiones pueden fusionarse o mezclarse con antígenos de linfocitos T con potencial de vacuna y que esta combinación proporciona una protección mediada por anticuerpos tempranos contra *Ct*, así como una eliminación eficiente mediada por IMC de organismos residuales.

20 MOMP es un antígeno protector importante con un potencial generalmente reconocido en las vacunas de *Ct*. Sin embargo, es muy complicado que el antígeno MOMP sea un antígeno diana de vacunas porque tiene una estructura compleja con numerosos enlaces disulfuro internos y donde importantes epítomos neutralizantes han sido extremadamente difíciles de exponer en moléculas recombinantes. Además de esto, el antígeno MOMP es muy variable y es la base de la mayor parte de la serovarianza encontrada en diferentes cepas que provocan enfermedades humanas. Por tanto, cualquier vacuna a base de MOMP intacto tendría que incorporar una serie de versiones diferentes de la molécula (al menos 4-5) para cubrir las principales cepas que dan lugar a la enfermedad en seres humanos. Como se ha descrito anteriormente, el antígeno MOMP contiene 4 regiones variables (VD1-4) de las cuales en particular el VD1 y el VD4 contienen epítomos neutralizantes importantes, pero las vacunas a base de fragmentos que representan estas regiones no han logrado inducir títulos suficientemente altos de anticuerpos funcionales para que tengan efecto *in vivo* en estudios de exposición en animales<sup>51 74</sup>.

La tecnología de inmuno-repetición de la presente invención resuelve este problema: Mediante la repetición de las regiones variables VD1 y/o VD4 importantes flanqueadas por secuencias conservadas del antígeno MOMP, los presentes inventores han obtenido inmunógenos que promueven niveles extraordinarios de anticuerpos funcionales. Sorprendentemente, los presentes inventores también demuestran que la inmunogenicidad mejorada incluso puede conseguirse en construcciones de inmuno-repetición heteróloga que emplean regiones variables de diferentes serovares intercaladas entre fragmentos conservados y que esta estrategia produce una respuesta de anticuerpos ampliamente neutralizante que protege contra diferentes serovariantes. Además, la tecnología de inmuno-repetición proporciona un gran número de epítopos de linfocitos T relevantes que promueven linfocitos T con función efectora directa, así como la capacidad de promover respuestas de recuerdo aceleradas a los epítopos de células B adyacentes.

Por tanto, la invención de los presentes inventores representa un avance en el desarrollo de vacunas de *Ct* eficientes con una respuesta amplia y la capacidad de neutralizar diferentes serovares.

Es bien sabido que los antígenos con un gran número de repeticiones y estructura organizada son óptimos para la activación del receptor de células B (BCR), lo que conduce a una respuesta humoral aumentada y una dependencia reducida de la ayuda de los linfocitos T. Esto se publicó originariamente con antígenos a base de polisacáridos naturales de diversos patógenos (polisacárido neumocócico y flagelina polimerizada de *Salmonella*) donde se supone que la naturaleza repetitiva del antígeno desencadena varios BCR simultáneamente, lo que reduce el umbral de activación global que desencadena la producción de anticuerpos a partir de células B plasmáticas sin la necesidad de ayuda previa de linfocitos T. Dichos antígenos se denominan antígenos de células B independientes de linfocitos T de tipo 2 y en sistemas artificiales se ha demostrado que dependen de un gran número de repeticiones (normalmente un mínimo de 12-16<sup>75</sup>), que constituyen el epítipo mínimo y se localizan cerca. Esto es claramente diferente de la tecnología de repetición de los presentes inventores donde se repiten fragmentos grandes (69 aminoácidos, Pm > 7 kDa) y estos fragmentos contienen epítopos tanto de células B como de linfocitos T<sup>76</sup>.

A diferencia de observaciones anteriores<sup>75</sup>, los presentes inventores observan un aumento de solo 4 repeticiones que no mejora adicionalmente por 8 repeticiones. Es importante destacar que la repetición de una secuencia conservada con dominios hipervariables insertados, amplifica las respuestas no solo al elemento conservado repetido sino también a las inserciones variables de forma destacable. El mecanismo molecular detrás de esta amplificación sorprendente no está totalmente claro, pero lo más probable es que se relacione con el hecho de que muchos de los epítopos importantes se encuentran en la superposición entre regiones variables y conservadas que, por tanto, pueden permitir el desencadenamiento simultáneo de diferentes BCR que comparten cierto reconocimiento de la parte conservada del epítipo. Aunque el mecanismo no está totalmente claro, la consecuencia práctica es que la tecnología de inmuno-repetición heteróloga permite la síntesis de inmunógenos multivalentes que promueven la generación de una respuesta diversa a anticuerpos dirigida a serovariantes diferentes.

Nuestras construcciones de inmuno-repetición proporcionan antígenos de una inmunogenicidad extraordinaria en comparación con los intentos anteriores para usar los dominios variables de MOMP de *Ct*. Ninguna de las vacunas anteriores a base de VD de MOMP consiguió generar títulos que se tradujeran en protección *in vivo* contra la exposición a clamidia genital a pesar de generar anticuerpos con algunas capacidades funcionales<sup>51, 65 64</sup>. En particular, la estrategia de inmuno-repetición heteróloga resuelve un problema muy fundamental observado para muchos patógenos y es cómo promover respuestas de anticuerpos diversas a antígenos diversos y variables.

Tabla 2. Inmuno-repeticiones

SEQ NO	ID	Nombres de polipéptidos	Descripción
45	CTH87	(CT681_VD1ext_VD4ext_SvD)	Fusión de VD1-VD4 del serovar D
46	CTH88	(CT681_lin_VD1ext_VD4ext_SvD_E_F)	Inmuno-repetición heteróloga de VD1-VD4
47	CTH88ext=CTH69	(CT681_lin_VD1ext_VD4ext_SvD_E_F_ext)	Igual que la SEQ ID NO 46 con región flanqueante más larga.
48	CTH72	(CT681_lin_VD1ext_VD4ext_SvD_E_F_G_I a_J_ext)	Igual que la SEQ ID NO 47 adicionalmente con VD1ext y VD4ext de SVG, SvIa y SvJ
49	CTH89	(CT681_lin_VD4ext_SvD_E_F)	Inmuno-repetición heteróloga de VD4
50	CTH181	(CT681_VD4ext_SvE)	Igual que la SEQ ID NO 24

(continuación)

SEQ ID NO	Nombres de polipéptidos	Descripción
51	CTH182 (CT681_lin_VD4ext_F)	Igual que la SEQ ID NO 25 linealizada
52	CTH183 (CT681_VD4ext_F)	Igual que la SEQ ID NO 25
53	CTH518 (CT681_Lin_VD4ext_D_E_F_G)	Inmuno-repetición heteróloga de VD4
54	CTH518ext=CTH70 (CT681_lin_VD4ext_SvD_E_F_G_ext)	Igual que la SEQ ID NO 53 con regiones flanqueantes más largas
55	CTH71 (CT681_lin_VD4ext_SvD_E_F_G_la_J_ext)	Igual que la SEQ ID NO 54 adicionalmente con VD1ext y VD4ext de SvIa y SvJ
56	CTH524 (CT681_lin_4_VD4ext_F)	Igual que la SEQ ID NO 59 linealizada
57	CTH526 (CT681_8_VD4ext_SvE)	Inmuno-repetición homóloga de VD4 (8x)
58	CTH527 (CT681_4_VD4ext_SvE)	Inmuno-repetición homóloga de VD4 (4x)
59	CTH529 (CT681_4_VD4ext_F)	Inmuno-repetición homóloga de VD4 (4x)

Tabla 3. Ejemplos de inmuno-repeticiones fusionadas con antígenos de linfocitos T

SEQ ID NO	Fusiones de inmuno-repeticiones con antígenos de linfocitos T (todas marcadas con his)
60	CTH91 (CT043-CT414p-CT681_lin_VD1 ext_VD4ext_SvD_E_F)
61	CTH93 (CT043_CT414p_CT681_Lin_56-281_VD4ext_D)
62	CTH520 (CT681_56-281_VD4ext_D)
63	CTH521 (CT681_Lin_56-281_VD4ext_D)
64	CTH522 (CT681_lin_56-281_VD4ext_D_E_F_G)
65	CTH531 (CT414_CT043_CT043_681_lin_56-281_VD4ext_SvD_E_F_G)
66	CTH533 (CT043_CT043_CT681_lin_VD4ext_SvD_E_F_G)
67	CTH534 (CT043_CT043_CT004_CT681_lin_VD4ext_SvD_E_F_G)
68	CT681 SvD
69	CTH285 (VD4_lin_SvD,E,F,G)
70	CTH286 (VD4 clásico+7_lin_SvD,E,F,G)

Tabla 4. Péptidos superpuestos de VD4 del serovar E

Péptidos de VD4 del serovar E (20meros)	Secuencia de aminoácidos
CT681_25_SvE	DASIDYHEWQASLALSRYRLN
CT681_26_SvE	ASLALSRYRLNMFTPYIGVKW
CT681_27_SvE	MFTPYIGVKWSRASFDADTI
CT681_28_SvE	SRASFDADTIRIAQPKSATA
CT681_29_SvE	RIAQPKSATAIFDTTTTLNPT
CT681_30_SvE	IFDTTTTLNPTIAGAGDVKAS
CT681_31_SvE	IAGAGDVKASAEGQLGDTMQ
CT681_32_SvE	AEGQLGDTMQIVSLQLNKKMK

ES 2 781 579 T3

Tabla 5. Péptidos superpuestos de VD4 del serovar F

Péptidos del serovar F (20meros)	Secuencia de aminoácidos
CT681_25_SvF	DASIDYHEWQASLSLSYRLN
CT681_26_SvF	ASLSLSYRLNMFTPYIGVKW
CT681_27_SvF	MFTPYIGVKWSRASFDSDTI
CT681_28_SvF	SRASFDSDTIRIAQPRLVTP
CT681_29_SvF	RIAQPRLVTPVVDITTLNPT
CT681_30_SvF	VVDITTLNPTIAGCGSVAGA
CT681_31_SvF	IAGCGSVAGANTEGQISDTMQ
CT681_32_SvF	TEGQISDTMQIVSLQLNKMK

Tabla 6. Péptidos superpuestos de VD4 del serovar D

Péptidos de VD4 del serovar D (9meros)	Secuencia de aminoácidos	Péptidos de VD4 del serovar D (9meros)	Secuencia de aminoácidos
VD4_P1_SvD	SRASFDADT	VD4_P24_SvD	TTTLNPTIA
VD4_P2_SvD	RASFDADTI	VD4_P25_SvD	TTLNPTIAG
VD4_P3_SvD	ASFDADTIR	VD4_P26_SvD	TLNPTIAGA
VD4_P4_SvD	SFDADTIRI	VD4_P27_SvD	LNPTIAGAG
VD4_P5_SvD	FDADTIRIA	VD4_P28_SvD	NPTIAGAGD
VD4_P6_SvD	DADTIRIAQ	VD4_P29_SvD	PTIAGAGDV
VD4_P7_SvD	ADTIRIAQP	VD4_P30_SvD	TIAGAGDVK
VD4_P8_SvD	DTIRIAQPK	VD4_P31_SvD	IAGAGDVKT
VD4_P9_SvD	TIRIAQPKS	VD4_P32_SvD	AGAGDVKTG
VD4_P10_SvD	IRIAQPKSA	VD4_P33_SvD	GAGDVKTGA
VD4_P11_SvD	RIAQPKSAT	VD4_P34_SvD	AGDVKTGAE
VD4_P12_SvD	IAQPKSATA	VD4_P35_SvD	GDVKTGAEG
VD4_P13_SvD	AQPKSATAI	VD4_P36_SvD	DVKTGAEGQ
VD4_P14_SvD	QPKSATAIF	VD4_P37_SvD	VKTGAEGQL
VD4_P15_SvD	PKSATAIFD	VD4_P38_SvD	KTGAEGQLG
VD4_P16_SvD	KSATAIFDT	VD4_P39_SvD	TGAEGQLGD
VD4_P17_SvD	SATAIFDTT	VD4_P40_SvD	GAEGQLGDT
VD4_P18_SvD	ATAIFDTTT	VD4_P41_SvD	AEGQLGDTM
VD4_P19_SvD	TAIFDTTTL	VD4_P42_SvD	EGQLGDTMQ
VD4_P20_SvD	AIFDTTTLN	VD4_P43_SvD	GQLGDTMQI
VD4_P21_SvD	IFDTTTLNP	VD4_P44_SvD	QLGDTMQIV
VD4_P22_SvD	FDTTTLNPT	VD4_P45_SvD	LGDTMQIVS
VD4_P23_SvD	DTTTLNPTI		



Tabla 7. Péptidos superpuestos de VD4 del serovar F

Péptidos de VD4 del serovar F (9meros)	Secuencia de aminoácidos	Péptidos de VD4 del serovar F (9meros)	Secuencia de aminoácidos
VD4_P1_SvF	SRASFSDT	VD4_P24_SvF	ITTLNPTIA
VD4_P2_SvF	RASFSDTI	VD4_P25_SvF	TTLNPTIAG
VD4_P3_SvF	ASFSDTIR	VD4_P26_SvF	TLNPTIAGC
VD4_P4_SvF	SFSDTIRI	VD4_P27_SvF	LNPTIAGCG
VD4_P5_SvF	FSDTIRIA	VD4_P28_SvF	NPTIAGCGS
VD4_P6_SvF	DSDTIRIAQ	VD4_P29_SvF	PTIAGCGSV
VD4_P7_SvF	SdTIRIAQP	VD4_P30_SvF	TIAGCGSVA
VD4_P8_SvF	DTIRIAQPR	VD4_P31_SvF	IAGCGSVAG
VD4_P9_SvF	TIRIAQPR	VD4_P32_SvF	AGCGSVAGA
VD4_P10_SvF	IRIAQPRLV	VD4_P33_SvF	GCGSVAGAN
VD4_P11_SvF	RIAQPRLV	VD4_P34_SvF	CGSVAGANT
VD4_P12_SvF	IAQPRLVTP	VD4_P35_SvF	GSVAGANTE
VD4_P13_SvF	AQPRLVTPV	VD4_P36_SvF	SVAGANTEG
VD4_P14_SvF	QPRLVTPVV	VD4_P37_SvF	VAGANTEGQ
VD4_P15_SvF	PRLVTPVVD	VD4_P38_SvF	AGANTEGQI
VD4_P16_SvF	RLVTPVVDI	VD4_P39_SvF	GANTEGQIS
VD4_P17_SvF	LVTVPVVDIT	VD4_P40_SvF	ANTEGQISD
VD4_P18_SvF	VTPVVDITT	VD4_P41_SvF	NTEGQISDT
VD4_P19_SvF	TPVVDITTL	VD4_P42_SvF	TEGQISDTM
VD4_P20_SvF	PVVDITTLN	VD4_P43_SvF	EGQISDTMQ
VD4_P21_SvF	VVDITTLNP	VD4_P44_SvF	GQISDTMQI
VD4_P22_SvF	VDITTLNPT	VD4_P45_SvF	QISDTMQIV
VD4_P23_SvF	DITTLNPTI	VD4_P46_SvF	ISDTMQIVS

Tabla 8. Secuencias de aminoácidos CT681

SEQ ID NO	Secuencias de aminoácidos de MOMP (CT681) de diferentes serovares
68	CT681_SvD
71	CT681_SvE
72	CT681_SvF
73	CT681_SvG
74	CT681_SvIa
75	CT681_SvJ

5 Un ácido nucleico que codifica las proteínas de fusión mencionadas anteriormente, puede usarse para efectuar la expresión *in vivo* de polipéptidos inmunogénicos, es decir, el ácido nucleico puede usarse en las denominadas vacunas de ADN como se revisó en Ulmer et al 1993, que se incluye por referencia.

10 En la construcción y preparación de ADN plasmídico que codifica un polipéptido de fusión que ha de usarse definido para la vacunación con ADN, puede usarse una cepa hospedadora tal como *E. coli*. Entonces, puede prepararse ADN plasmídico a partir de cultivos durante la noche de la cepa hospedadora que porta el plásmido de interés y puede purificarse usando, por ejemplo, el kit de columna Qiagen Giga-Plasmid (Qiagen, Santa Clarita, CA, EE.UU.) incluyendo una etapa de retirada de endotoxinas. Es esencial que el ADN plasmídico utilizado para la vacunación

con ADN esté libre de endotoxinas.

Por tanto, la invención también se refiere a una vacuna que comprende un ácido nucleico que codifica un polipéptido utilizado en la invención, efectuando la vacuna la expresión *in vivo* del polipéptido inmunogénico por un animal, incluyendo un ser humano, a quien se le ha administrado la vacuna, siendo la cantidad de polipéptido expresado eficaz para conferir una resistencia sustancialmente aumentada a las infecciones provocadas por bacterias virulentas en un animal, incluyendo un ser humano.

La eficacia de una vacuna de ADN de este tipo posiblemente puede potenciarse administrando el gen que codifica el producto de expresión junto con un fragmento de ADN que codifica un polipéptido que tiene la capacidad de modular una respuesta inmunitaria.

Puede conseguirse una posibilidad para activar eficazmente una respuesta inmunitaria celular expresando el polipéptido inmunogénico relevante en un microorganismo o virus no patógeno. Son ejemplos bien conocidos de dichos microorganismos *Mycobacterium bovis* BCG, *Salmonella* y *Pseudomona* y son ejemplos de virus el virus de la variolovacuna y el adenovirus.

Por tanto, también se desvela una mejora de la vacuna BCG viva disponible actualmente, en donde una o más copias de una secuencia de ADN que codifica uno o más polipéptidos de fusión como se ha definido anteriormente se ha incorporado en el genoma del microorganismo de una manera que permite que el microorganismo exprese y secrete el polipéptido de fusión. Se contempla la incorporación de más de una copia de una secuencia de ácido nucleico para potenciar la respuesta inmunitaria.

Otra posibilidad es integrar el ADN que codifica el polipéptido de fusión utilizado en la invención en un virus atenuado tal como el virus de la variolovacuna o el adenovirus (Rolph et al 1997). El virus de la variolovacuna recombinante puede entrar dentro del citoplasma o el núcleo de la célula hospedadora infectada y, por tanto, el polipéptido de fusión de interés puede inducir una respuesta inmunitaria, que se prevé que induce protección contra la tuberculosis.

Aunque las vacunas de ADN se desarrollaron hace más de 16 años, los ensayos clínicos que preceden a las etapas I y II en seres humanos son raros. Sin embargo, se han autorizado dos vacunas de ADN veterinarias; una para el Virus del Nilo Occidental (en caballo) y una segunda para el Virus de la Necrosis Hematopoyética Infecciosa en salmón. Esto demuestra que las vacunas de ADN pueden tener buenos efectos protectores y que las nuevas vacunas de ADN no se ven limitadas por el tamaño del animal o la especie. Sin embargo, el gran éxito observado con las vacunas de ADN para el modelo murino para las vacunas de ADN de primera generación no se tradujo bien en los seres humanos; los investigadores han demostrado recientemente los niveles de anticuerpos protectores mediante una dosis única de vacuna de ADN de HA administrada con cañón de genes a seres humanos.

La "inmunización con ácido nucleico" o el nombre habitualmente preferido de "vacunas de ADN" son la inoculación de ADN o ARN que codifica antígeno como casetes de expresión o vectores de expresión o incorporados en vectores víricos con el fin de inducir inmunidad al producto génico. Por tanto, en la definición de los presentes inventores de vacunas de ADN los presentes inventores incluyen todo tipo de sistemas de entrega para el ADN o ARN que codifica antígeno. El gen de la vacuna puede estar en forma de plásmido circular o un casete de expresión lineal con solo las características clave necesarias para la expresión (promotor, el gen de la vacuna y la señal de poliadenilación). Los sistemas de entrega pueden ser muy frecuentemente ADN desnudo en tampón con o sin adyuvante, ADN acoplado a nanopartículas y/o formulado en compuestos que contienen adyuvante o pueden estar insertados en vectores víricos o bacterianos vivos tales como adenovirus, virus adenoasociado, alfavirus, poxvirus, herpesvirus, etc. Las vacunas de ADN son muy prometedoras, puesto que evocan tanto inmunidad humoral como inmunidad mediada por células, sin los mismos peligros asociados a las vacunas de virus vivos. A diferencia de las vacunas de virus vivos atenuados, las vacunas de ADN pueden administrarse a tejidos o células iguales o diferentes que el virus vivo que tiene que unirse a receptores específicos. La producción de antígenos en sus formas nativas mejora la presentación de los antígenos al sistema inmunitario del hospedador. A diferencia de las vacunas vivas atenuadas, las vacunas de ADN no son infecciosas y no pueden volver a la virulencia.

Las vacunas de ADN ofrecen muchas ventajas sobre las vacunas convencionales. Pueden producirse en grandes cantidades en poco tiempo, eliminando la necesidad de propagación en huevos, es rentable, reproducible y el producto final no requiere condiciones de almacenamiento en frío, ya que el ADN es estable y resistente a los extremos de temperatura. Todas las vacunas inactivadas actualmente autorizadas son eficientes en la inducción de respuestas de anticuerpos humorales, pero solo las vacunas de virus vivos atenuados inducen eficazmente además una respuesta celular citotóxica. Las vacunas de ADN también tienen esta capacidad y, por tanto, la respuesta inducida puede imitar mejor la respuesta natural a la infección vírica que las vacunas inactivadas con respecto a la especificidad y los isotipos de anticuerpos.

Las vacunas de ADN inducen una respuesta inmunitaria que es comparable a la respuesta adquirida por una infección vírica natural mediante la activación de la inmunidad humoral y de la mediada por células. La amplia respuesta a las vacunas de ADN es resultado de que los genes codificados que se expresan por la célula

hospedadora transfectada, induciendo una respuesta inmunitaria Th1 y Th2. La producción de antígenos en su forma nativa mejora la presentación de los antígenos al sistema inmunitario del hospedador.

5 Los dos tipos más comunes de administración de vacunas de ADN son la inyección en solución salina de ADN desnudo y las inoculaciones de ADN con cañón de genes (ADN aplicado como recubrimiento sobre perlas de oro sólido administradas con helio a presión). Las inyecciones intramusculares en solución salina de ADN generan preferentemente una respuesta IgG2a de Th1, mientras que la administración del cañón de genes tiende a iniciar una respuesta más IgG1 de Th2. Los plásmidos inyectados por vía intramuscular corren el riesgo de ser degradados por desoxirribonucleasas extracelulares, sin embargo, las respuestas inducidas suelen ser más duraderas que las 10 inducidas mediante el método del cañón de genes. La vacunación mediante la entrega de ADN por cañón de genes a la epidermis, ha demostrado ser el método más eficaz de inmunización, probablemente porque la piel contiene todos los tipos de células necesarias, incluyendo las células presentadoras de antígeno (APC, por sus siglas en inglés) profesionales, para desencadenar respuestas inmunitarias celulares humorales y citotóxicas (Langerhans y células dendríticas). Se ha obtenido protección completa contra una dosis letal del virus de la gripe con tan solo 1 µg de ADN en ratones. El vector de vacuna de ADN convencional consiste en el gen de interés clonado en un plásmido bacteriano modificado por ingeniería genética para una expresión óptima en células eucariotas. Las características 15 esenciales incluyen; un origen de replicación que permite la producción en bacterias, un gen de resistencia a antibióticos bacteriano que permite la selección de plásmidos en cultivo bacteriano, un promotor constitutivo fuerte para la expresión óptima en células de mamíferos (los promotores derivados del citomegalovirus (CMV) o del virus de simio proporcionan la mayor expresión génica), una secuencia de poliadenilación para estabilizar los transcritos de ARNm, tal como la poliadenilación de la hormona de crecimiento bovina (BHG) o del virus de simio, y un sitio de clonación múltiple para la inserción de un gen antigénico. Una secuencia intrónica A mejora notablemente la expresión de genes. Muchos vectores bacterianos de vacunas de ADN contienen motivos de dinucleótidos de citidinafosfato-guanosina (CpG) no metilados que pueden desencadenar respuestas inmunitarias innatas fuertes en el 20 hospedador. En los últimos años ha habido varios enfoques para potenciar y personalizar la respuesta inmunitaria a las construcciones de vacunas de ADN (vacunas de ADN de segunda generación). Por ejemplo, se han utilizado vectores dicistrónicos o plásmidos que expresan múltiples genes para expresar dos genes simultáneamente. Se han modificado por ingeniería genética promotores específicos que restringen la expresión génica a determinados tejidos y se han construido genes de fusión de citocina/antígeno para potenciar la respuesta inmunitaria. Además, los genes 25 pueden optimizarse con codones para una expresión génica óptima en el hospedador y las secuencias líderes vírgenes pueden sustituirse con líderes optimizados que aumentan la eficiencia de la traducción.

La administración de la vacuna de ADN puede ser mediante solución salina o inyección en solución salina tamponada de ADN o ARN desnudo, o inyección de plásmido de ADN o fragmentos de ADN que expresan genes 35 lineales acoplados a partículas, o puede inocularse mediante un cañón de genes o entregarse por un vector vírico (partículas similares a virus) tal como adenovirus, virus de la variolovacuna modificado Ankara (MVA), variolovacuna, virus adenoasociados (AAV), alfavirus, etc.

#### 40 Leyendas de las figuras:

Figura 1. Modelo de topología de membrana de MOMP (Serovar D, cepa: D/B-120) adaptado de Findlay et al<sup>77</sup>. VD1, VD2, VD3 y VD4 están marcados con líneas de color negro en la secuencia de AA y en el MOMP de modelo lineal representado intercalado con 5 segmentos constantes (CS).

45 Figura 2. Alineación de la secuencia de aminoácidos de VD4<sup>ext</sup> de MOMP de Ct para los serovares D, E, F, G, la y J. La secuencia del serovar D se usa como prototipo y los aminoácidos conservados en otros serovares se muestran como ".". El dominio variable VD4 de acuerdo con Baehr et al (*PNAS*, 1988)<sup>36</sup> está sombreado en gris y el epítipo conservado TTLNPTIAG está en un recuadro.

50 Figura 3. Modelo de topología de membrana de MOMP (Serovar D, cepa: D/B-120) adaptado de Findlay et al. El VD1ext y el VD4ext que se describen en la presente invención se muestran sombreados en la figura.

Figura 4. Ilustración del diseño de inmuno-repeticiones homólogas y heterólogas. Las inmuno-repeticiones son proteínas de fusión de, por ejemplo, cuatro regiones VD4<sup>ext</sup>, ya sea del mismo serovar, inmuno-repeticiones 55 homólogas, o de diferentes serovares, inmuno-repeticiones heterólogas. La región de VD4 variable dentro de cada región de VD4<sup>ext</sup> se ilustra como sombreada.

Figura 5. Respuestas inmunitarias mejoradas y ampliadas después de la inmunización con inmuno-repeticiones homólogas de VD4<sup>ext</sup> en comparación con una unidad monomérica de VD4<sup>ext</sup>.

60 Figura 6. Una construcción compuesta por inmuno-repeticiones heterólogas de SvD, E, F y G indujo una respuesta más fuerte a múltiples serovares en comparación con las inmuno-repeticiones homólogas de SvF.

Figura 7. Especificidad fina de las respuestas de anticuerpos después de la inmunización con una inmuno-repetición heteróloga de las unidades de VD4 extendido del SvD, E y F (CTH89) en comparación con construcciones compuestas por una inmuno-repetición homóloga de (SvE<sup>ext</sup>VD4)\*4 y de (SvF<sup>ext</sup>VD4)\*4.

Figura 8. La inmunización con inmuno-repeticiones heterólogas de VD4 extendidos del SvD, SvE y SvF (CTH89) genera protección temprana independiente de linfocitos T después de una exposición con SvD.

5 Figura 9. Neutralización *in vivo* con suero específico de CTH89.

Figura 10. Acoplamiento de inmuno-repeticiones heterólogas a MOMP recombinante.

10 Figura 11. Vacunación con inmuno-repeticiones heterólogas de regiones VD1-VD4 del SvD, SvE y SvF (CTH88) en comparación con la vacunación con una sola unidad VD1-VD4 del SvD (CTH87)

Figura 12. Acoplamiento de antígenos de linfocitos T a inmuno-repeticiones de VD4

15 Figura 13. Inmunización con un cóctel de una inmuno-repetición heteróloga de VD4 y una molécula de fusión de antígeno de linfocito T

Figura 14. Comparación de CAF01 y alumbre como sistema de entrega adyuvante.

20 Figura 15. Vacunación con inmuno-repeticiones heterólogas compuestas por una longitud reducida de las regiones VD4<sup>ext</sup> del SvD, SvE, SvF y SvG

Figura 16 Vacunación con inmuno-repeticiones heterólogas compuestas por regiones VD4<sup>ext</sup> extendidas del SvD, SvE, SvF, SvG, SvIa y SvJ

## 25 **Material y métodos**

### Cultivo de *C. trachomatis*

30 Se propagó serovar D, E y F de *Ct* en células Hela 229 (ATCC, Rockville, MD, EE.UU.). Las células se cultivaron en medio RPMI 1640 (Gibco BRL, Grand Island, NY, EE.UU.) que contenía suero de ternera fetal al 5 % (Gibco BRL; inactivado por calor), Hepes al 1 % v/v, L-glutamina al 1 % v/v, pirovato al 1 % v/v y gentamicina 10 µg/ml. Se infectaron monocapas semiconfluentes de células Hela 229 en placas de 6 pocillos con 1,5 unidades formadoras de inclusión por célula de serovar E o F de *Ct* en 0,3 ml de tampón SPG/pocillo. Las placas se centrifugaron 1 hora en un Heraeus Multifuge 3S a 750 g y se incubaron en un agitador de placas durante 2 h a 35 °C. Después de 2 h, se añadieron 2 ml de medio de cultivo complementado con glucosa al 5 % y cicloheximida 1 µg/ml por pocillo y las células se incubaron adicionalmente durante 72 h a 37 °C en una atmósfera de CO<sub>2</sub> al 5 % en aire humidificado.

### Recogida de *Ct*

40 Se recogieron las clamidias 72 h después de la infección. Las células se desalojaron de los pocillos con un raspador de células y se centrifugaron 30 minutos a 35.000 g y 4 °C. Los sedimentos se resuspendieron en HBSS, se sometieron a ultrasonidos en hielo y se centrifugaron a 500 g y 4 °C durante 15 minutos. El sobrenadante se recogió y se guardó en hielo y el sedimento se resuspendió al mismo volumen que antes y se repitieron el tratamiento con ultrasonidos y la centrifugación. Los dos sobrenadantes se agruparon y centrifugaron 30 minutos a 30000 g y 4 °C y el sedimento se resuspendió con una aguja y una jeringa en un tampón SPG (3 ml/placa). Después de un tratamiento con ultrasonidos breve, la suspensión se colocó suavemente en forma de capa sobre una solución de diatrizoato al 30 % (50 g de diatrizoato de meglumina, 7,7 g de diatrizoato de sodio en 76 ml de H<sub>2</sub>O) y se centrifugó a 40.000 g durante 30 min. Después de la centrifugación, el sedimento se resuspendió en tampón SPG y se almacenó a -70 °C. La UFI de los lotes se cuantificó mediante titulación en células McCoy y la concentración de los lotes se determinó mediante BCA.

### Métodos de preparación de antígenos y fusión

55 El genoma de *C. trachomatis* serovar D, E, F y G está a disposición del público (NCBI -GenBank). Los genes que codifican los antígenos y fusiones de *C. trachomatis* se obtuvieron todos mediante síntesis para la clonación en el sistema de expresión de la proteína bacteriana de *E. coli* (ADN2.0). El vector pET411 se usó para la expresión de la proteína recombinante de *C. trachomatis* en *E. coli* con un marcador de afinidad de histidina. El hospedador bacteriano fue BL21-STAR™. Se cultivó *E. coli* a 37 °C para alcanzar la fase logarítmica DO600 ~ 0,5 y se indujo la expresión de proteínas durante 4 horas, y las células se recogieron mediante centrifugación (6.000 g durante 15 min). *E. coli* se lisó usando Bugbuster (Novagen) que contenía Benzonasa, rLisozima y Cóctel I de inhibidores de proteasas (Calbiochem). Los cuerpos de inclusión se aislaron mediante centrifugación (10.000 g durante 10 min). El sedimento se disolvió en NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 50 mM, NaCl 0,4 M, urea 8 M, Imidazol 10 mM pH 7,5 y la mezcla se cargó en la columna HisTrap HP (Amersham Biosciences) y se eluyeron las proteínas unidas mediante la aplicación de un gradiente de imidazol de 50 a 500 mM. Dependiendo del punto isoelectrico del antígeno y de las fusiones, se purificaron adicionalmente mediante cromatografía de intercambio iónico. Las concentraciones de proteínas se determinaron mediante el ensayo de proteínas BCA (Pierce).

Animales

5 Se obtuvieron ratones hembra B6C3F1, de 8-12 semanas de edad, en Harlan Laboratories. Los animales se alojaron en condiciones ambientales convencionales y se les proporcionó alimento convencional y agua a voluntad. El uso de ratones se rige por las normas establecidas por el Ministerio de Justicia de Dinamarca (Lov om dyreforsøg, jvf lovbekeendelser nr. 726 af 9. september de 1993) y los comités de protección de los animales. Se presentó una descripción detallada de los experimentos y fue aprobada por la junta regional de revisión ética (2012-15-2934-00100) mantenida por el solicitante.

10

Inmunización

15 Se inmunizaron ratones 3 veces con 14 días entre inmunizaciones. Los polipéptidos se emulsionaron en CAF01 y se administraron simultáneamente por vía subcutánea (sc) e intranasal (i.n.). Las vacunas administradas por ambas vías consistían en 5 ug de péptido (véase anteriormente) emulsionado en 250 ug de DDA y 100 ug de TDB. Como control negativo, se inyectó DDA/TDB solo, sin péptido.

Respuestas celulares específicas de Chlamydia

20 Se purificaron linfocitos sanguíneos o esplenocitos. Se agruparon linfocitos sanguíneos de 8 ratones en cada grupo y se cultivaron esplenocitos individualmente (n = 4) y se cultivaron por triplicado en placas de microtitulación de fondo redondo (Nunc, Dinamarca) que contenían  $2 \times 10^5$  células/pocillo en un volumen de 200  $\mu$ l de RPMI-1640 complementado con 2-mercaptoetanol  $5 \times 10^{-5}$ M, glutamina 1 mM, piruvato al 1 %, penicilina/estreptomicina al 1 %, HEPES al 1 % y suero de ternera fetal (FCS) al 10 % (Invitrogen, Dinamarca). Las células se volvieron a estimular con antígenos individuales en 1-10  $\mu$ g/ml o conjuntos de péptidos VD1 y VD4 (2  $\mu$ g/ml de cada péptido). Estimulación con Concanavalina A (5  $\mu$ g/ml) o medio como control positivo para la viabilidad celular y control negativo, respectivamente. Después de 72 h de incubación a 37 °C en CO<sub>2</sub> al 5 %, los sobrenadantes se recogieron y se almacenaron a -20 °C antes de su uso. Las cantidades de IFN- $\gamma$  secretado se determinaron mediante ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA).

30

Anticuerpos séricos

35 En diferentes puntos temporales después de la última vacunación, a los ratones se les extrajo sangre y se aisló el suero mediante centrifugación. El suero se sometió a ensayo mediante ELISA para determinar la reactividad contra la superficie de Ct (SvD, SvE y SvF), contra el monómero de VD4 del SvE y contra péptidos (Tablas 4 y 5) que abarcan la región de VD4 del SvD, SvE y SvF. Brevemente, las placas se recubrieron con antígeno (de 1 a 10 ug/ml) a 4 °C en tampón de carbonato durante la noche, se bloquearon con BSA y se lavaron. Después, las placas se incubaron con muestras diluidas previamente a 4 °C durante la noche, se lavaron y se incubaron con un anticuerpo secundario conjugado con peroxidasa durante 1 hora. Las reacciones se visualizaron mediante incubación con sustrato TMB y la reacción se detuvo con ácido sulfúrico y se leyó a 450 nm. Cuando se investigó la reactividad en ELISA contra un panel de péptidos superpuestos 9méricos que abarcaban la región de VD4 del SvD (SvE) (Tabla 6) y SvF (Tabla 7), se realizaron cambios menores. Brevemente, las placas se trataron con estreptavidina y se recubrieron con péptidos biotinilados, se bloquearon durante 2 h a temperatura ambiente con leche desnatada en polvo y se lavaron. Después, las placas se incubaron con muestras de suero diluidas previamente (1:100) durante 2 h a temperatura ambiente, se lavaron y se incubaron con un anticuerpo secundario conjugado con peroxidasa durante 1 hora. Las reacciones se visualizaron mediante incubación con sustrato TMB y la reacción se detuvo con ácido sulfúrico y se leyó a 450 nm.

45

Ensayo de neutralización

50 Se cultivaron células HaK hasta confluencia en placas de microtitulación de fondo plano de 96 pocillos en medio RPMI 1640 complementado con suero de ternera fetal al 5 % (Gibco BRL; inactivado por calor), Hepes al 1 % v/v, L-glutamina al 1 % v/v, pirovato al 1 % v/v y gentamicina 10  $\mu$ g/ml.

55 Las soluciones madre de *Chlamydia* se titularon previamente y se diluyeron a  $3 \times 10^6$  UFI/ml para SvE,  $2 \times 10^6$  UFI/ml para SvD y  $5 \times 10^6$  UFI/ml para SvF. El suero (agrupado) aislado de ratones vacunados se inactivó por calor a 56 °C durante © h, se diluyó 2-4 veces y se tituló 4-5 veces. Se mezclaron 80  $\mu$ l de la suspensión de bacterias con 80  $\mu$ l de suero (+/- péptido 20  $\mu$ g/ml) y se incubaron durante 30 min a 37 °C en una plataforma de agitación lenta y después se inocularon 50  $\mu$ l de la suspensión sobre las células HaK preparadas anteriormente por duplicado. Para hacer esto, se retiró el medio de las monocapas de HaK y se añadieron 100  $\mu$ l del medio anterior complementado con glucosa al 0,5 % y cicloheximida 10  $\mu$ g/ml seguido de 50  $\mu$ l de la suspensión de suero/bacteria. Las placas se incubaron a 35 °C en una plataforma de agitación lenta, después se retiró el inóculo y se añadieron 100  $\mu$ l del medio anterior complementado con glucosa al 0,5 % y cicloheximida 10  $\mu$ g/ml. Las placas se incubaron durante 24 h a 37 °C en una atmósfera de CO<sub>2</sub> al 5 % en aire humidificado. Después de la incubación, el medio se retiró y las monocapas se fijaron con etanol al 96 % durante 10 min. Las inclusiones se visualizaron mediante tinción con suero policlonal anti-CT755 de conejo fabricado en el laboratorio de los presentes inventores, seguida de

65

anticuerpo porcino anti-inmunoglobulina de conejo conjugado con FITC (Dako). La tinción de fondo se realizó con yoduro de propidio (Invitrogen)

#### Exposición vaginal y carga de clamidia vaginal

5 Diez y 3 días antes de la exposición a *Ct* serovar D, el ciclo reproductivo se sincronizó mediante inyección de 2,5 mg de acetato de medroxiprogesterona (Depo-Provera; Pfizer). Seis semanas después de la vacunación final, los ratones se expusieron por vía intravaginal con 4-8 x 10<sup>5</sup> UFI de *Ct* serovar D en 10 µl de tampón SPG. Se obtuvieron torundas vaginales 3, 7, 10 y 14 días después de la infección. Las torundas se sometieron a vórtice con perlas de vidrio en 0,6 ml de tampón SPG y se almacenaron a -80 °C hasta el análisis. La carga infecciosa se determinó como se describe en <sup>17</sup>. Brevemente, las monocapas de células McCoy se infectaron con un volumen titulado de la suspensión de torunda por duplicado. Las placas se centrifugaron a 750 x g durante 1 h a TA seguido de incubación a 35 °C durante 2 h. Después, el medio de infección se reemplazó con medio fresco y las células se incubaron a 37 °C durante 30 h. Las inclusiones se visualizaron mediante tinción con suero policlonal anti-CT681 de conejo fabricado en el laboratorio de los presentes inventores, seguido de un anticuerpo porcino anti Ig de conejo conjugado con FITC (DAKO, Glostrup, Dinamarca). La tinción de fondo se realizó con yoduro de propidio (Invitrogen, Taastrup, Dinamarca). Las inclusiones se enumeraron mediante microscopía de fluorescencia observando al menos 20 campos de visión individuales para cada pocillo.

#### Agotamiento de linfocitos T CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup>

20 Se purificó CD4 anti-ratón monoclonal (clon GK1.5) y CD8 anti-ratón (clon YTS156 y YTS169, un regalo de Stephen Cobbold)<sup>78,79</sup> a partir de sobrenadantes de hibridoma fabricados en el laboratorio de los presentes inventores, usando columnas HP de proteína G HiTrap (GE-Healthcare Life Sciences, Dinamarca). La IgG purificada se dializó contra PBS, se filtró a través de un filtro de 0,22 µm y se determinó la concentración de proteína mediante DO 25 280 nm. Los ratones se agotaron de linfocitos T CD4<sup>+</sup> o CD8<sup>+</sup> mediante 4 inyecciones de 250-300 µg de anti-CD4 purificado o una mezcla de anticuerpos anti-CD8 en el día -7, -4, -1 y +2 y +6 con respecto al día de infección. El agotamiento de linfocitos T CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup> se verificó mediante análisis por FACS en CMSP el día 1 después de la infección usando un anticuerpo anti-CD4 conjugado con FITC (clon RM4-4) y un anticuerpo anti-CD8 conjugado con PE (clon 53-6) (BD Biosciences, Dinamarca).

#### Agotamiento *in vivo*

35 La solución madre de *Chlamydia* serovar D se tituló previamente y se diluyó a 8 x 10<sup>4</sup> UFI/µl, se mezcló 1:1 con suero aislado de ratones inmunizados con una inmuno-repetición heteróloga de VD4 SvD-SvE-SvF (CTH89). Diez y 3 días antes de la exposición a *Ct* serovar D, el ciclo reproductivo se sincronizó mediante inyección de 2,5 mg de acetato de medroxiprogesterona (Depo-Provera; Pfizer). Los ratones se expusieron por vía intravaginal a 10 µl de la mezcla anterior (4 x 10<sup>5</sup> UFI de *Ct* serovar D). Se obtuvieron torundas vaginales 3, 7 y 10 días después de la infección.

#### Análisis estadístico

45 El análisis estadístico se realizó con GraphPad Prism 4. Las medianas de la carga vaginal de *Chlamydia* se analizaron usando Kruskal-Wallis seguido del ensayo posterior de Dunn o Mann-Whitney.

**Ejemplo 1:** Respuestas inmunitarias potenciadas después de la inmunización con inmuno-repeticiones homólogas de VD4<sup>ext</sup> en comparación con una unidad monomérica de VD4<sup>ext</sup>.

#### Introducción

50 En este caso los presentes inventores seleccionaron unidades de polipéptidos que contenían fragmentos de VD4 extendidos del serovar E (para la secuencia, véase la Fig. 2) (SvE VD4<sup>ext</sup>). Con el fin de potenciar la respuesta inmunitaria contra estos dominios, los presentes inventores diseñaron polipéptidos recombinantes donde la unidad SvEVD4<sup>ext</sup> se presentaba de manera repetitiva. Con el fin de investigar si una forma repetitiva de la construcción podría potenciar la respuesta de anticuerpos en comparación con una forma monomérica, los presentes inventores diseñaron polipéptidos recombinantes donde las unidades se presentaban como una sola unidad o de manera repetitiva. Para el serovar E (SvE), se construyó un monómero (SvE VD4<sup>ext</sup>)\*1 (CTH181), cuatro inmuno-repeticiones (SvE VD4<sup>ext</sup>)\*4 (CTH527) y ocho inmuno-repeticiones (SvE VD4<sup>ext</sup>)\*8 (CTH526) de la unidad de VD4 extendido. Estas construcciones de inmuno-repeticiones homólogas se formularon en el adyuvante CAF01 y se usaron para vacunar ratones; cada ratón fue vacunado con 2x5 µg de péptido, por lo que la cantidad de VD4 fue la misma. La inmunogenicidad de las construcciones se estudió mediante ELISA contra SvE VD4<sup>ext</sup>, los péptidos que cubrían SvE VD4<sup>ext</sup> y la superficie bacteriana de la clamidia.

#### Resultados

65 Se inmunizaron seis ratones/grupo 2 veces con 14 días entre inmunizaciones. Las vacunas (2x5 µg) se

emulsionaron en CAF01 y se administraron simultáneamente mediante las vías s.c. e i.n. En determinados momentos después de la última vacunación, se recogió sangre y se midieron los niveles de anticuerpos contra las unidades de VD4 extendido del SvE y contra la superficie bacteriana de SvE mediante ELISA. La vacunación con una sola unidad de VD4<sup>ext</sup> (VD4<sup>ext</sup> monomérico, CTH181) indujo niveles más bajos de anticuerpos específicos de VD4<sup>ext</sup> en comparación con el nivel inducido después de la inmunización con inmuno-repeticiones homólogas compuestas por 4 repeticiones de VD4<sup>ext</sup> (SvE VD4<sup>ext</sup>)\*4 (Fig.5A). La respuesta de anticuerpos más alta observada después de la inmunización con (SvE VD4<sup>ext</sup>)\*4 dio como resultado un reconocimiento más fuerte de la superficie bacteriana en comparación con el suero aislado de ratones inmunizados con (VD4<sup>ext</sup>)\*1 (Fig. 5B). La respuesta a los péptidos 20méricos con superposición de 10aa que abarca la región de VD4 extendido (Tabla 4) también se potenció, dando como resultado un patrón de reconocimiento de epítomos más amplio en los grupos de inmuno-repeticiones homólogas (VD4<sup>ext</sup>)\*4 en comparación con el grupo de ratones inmunizados con una unidad monomérica de VD4<sup>ext</sup> cuando se sometió a ensayo en una dilución de suero 1:500 (Fig. 5C). En el grupo inmunizado con la construcción monomérica, la respuesta se dirigió exclusivamente a la región central que contenía el epítomo TTLNPTIAG, mientras que la inmunización con la inmuno-repetición homóloga expuso varios epítomos de células B, tanto corriente arriba como corriente abajo de ese epítomo, dando como resultado un patrón diverso de reconocimiento de epítomos de diversos epítomos. Los presentes inventores continuaron investigando si las inmuno-repeticiones de 8 (SvE VD4<sup>ext</sup>)\*8 (CTH526, seq no 30) eran más inmunogénicas que las inmuno-repeticiones de 4 (SvE VD4<sup>ext</sup>)\*4. Las dos construcciones indujeron niveles similares de anticuerpos contra la unidad de VD4 extendido y contra la superficie bacteriana de SvE.

#### Conclusión

Los presentes inventores demostraron que mediante la inmunización con inmuno-repeticiones de unidades de VD4 extendido del Serovar E se puede potenciar en gran medida la respuesta de anticuerpos medida como el título (Fig. 5A y B) y la amplitud de la respuesta (Fig. 5C) dirigida contra la unidad de VD4 extendido dando como resultado una fuerte reactividad hacia la superficie bacteriana. Los presentes inventores no encontraron títulos de anticuerpos potenciados ni títulos de neutralización mediante el aumento del número de repeticiones de 4 a 8.

**Ejemplo 2:** Una construcción compuesta por inmuno-repeticiones heterólogas de SvD, E, F y G (CTH518) indujo una respuesta más fuerte a múltiples serovares en comparación con inmuno-repeticiones homólogas de SvF

#### Introducción

Los presentes inventores investigaron si la inmunización con una inmuno-repetición heteróloga compuesta por unidades de VD4 extendido del SvD, SvE, SvF y SvG (CTH518) mantenía la inmunogenicidad fuerte y era capaz de inducir una respuesta de anticuerpos más amplia reconociendo la superficie de múltiples serovares en comparación con la inmunización con una inmuno-repetición homóloga compuesta por unidades de VD4 extendido del SvF (SvF VD4<sup>ext</sup>)\*4, (CTH529). Estas construcciones de inmuno-repeticiones se formularon en el adyuvante CAF01 y se usaron para vacunar ratones. La inmunogenicidad de las construcciones se estudió mediante ELISA contra la superficie bacteriana del Serovar D, E y F.

#### Resultados

Las inmuno-repeticiones heterólogas promovieron una respuesta de anticuerpos que reconocía la superficie de la cepa del serovar F al mismo nivel alto que la respuesta observada con una inmuno-repetición homóloga del SvF. Sin embargo, mediante la inmunización con la inmuno-repetición heteróloga que contenía regiones de VD4 extendido de los cuatro serotipos (SvD, SvE, SvF, SvG) los presentes inventores observaron un título aumentado notablemente para las serovariantes D y E en comparación con la inmuno-repetición homóloga del serovar F (Fig. 6).

#### Conclusión

La inmunización con la construcción compuesta por inmuno-repeticiones de VD4 extendido heterólogas indujo una respuesta más amplia que reconoce la superficie de múltiples serovares (D, E y F) mientras se mantiene la inmunogenicidad pronunciada de la inmuno-repetición homóloga.

**Ejemplo 3:** La especificidad de las respuestas de anticuerpos después de la inmunización con una inmuno-repetición heteróloga de las unidades de VD4 extendido del serovar D, E y F (CTH89) en comparación con construcciones compuestas por una inmuno-repetición homóloga de (SvE<sup>ext</sup> VD4)\*4, (SvF<sup>ext</sup>VD4)\*4 y un péptido A8-VD4 publicado anteriormente<sup>65</sup>.

#### Introducción

Los presentes inventores investigaron la especificidad de la respuesta inmunitaria después de la inmunización con una repetición heteróloga de dominios VD4 extendidos del SvD, SvE, SvF (CTH89) en comparación con la inmunización con inmuno-repeticiones homólogas compuestas por repeticiones de VD4 extendido del Serovar E (SvE<sup>ext</sup>VD4)\*4 (CTH527), repeticiones del SvF (SvF<sup>ext</sup>VD4)\*4 (CTH524) y péptido A8-VD4. Estas construcciones se

formularon en el adyuvante CAF01 y se usaron para vacunar ratones. La inmunogenicidad de las construcciones se estudió mediante ELISA contra un panel de péptidos (de 9 y 20 AA de longitud) que abarcaba la región de VD4 de D, E y F (Tablas 4-7). Se sometió a ensayo el suero (de 6 a 8 ratones) y una respuesta por encima del fondo pero por debajo de OD = 1,0 se indica mediante un recuadro abierto, las respuestas por encima de 1,0 se marcan con un recuadro lleno. La longitud del recuadro indica el área reconocida por los anticuerpos.

#### Resultados

Todas las construcciones indujeron respuestas de anticuerpos altas a la parte TTLNPTIAG conservada del VD4<sup>ext</sup>, ubicada en el dominio variable (VD). En general, los anticuerpos generados por inmuno-repeticiones homólogas fueron superiores en el reconocimiento de su región de VD4<sup>ext</sup> homóloga representativa, mientras que fue evidente que cuando estas construcciones se sometieron a ensayo contra péptidos que cubrían un VD4<sup>ext</sup> de un serovar diferente, su repertorio de reconocimiento de epítomos fue limitado, por ejemplo, el reconocimiento de la región de VD4 del serovar E mediante suero de animales inmunizados con la construcción (SvF<sup>ext</sup>VD4)\*4 (Fig. 7A y C) (y viceversa) (Fig. 7B y C). Los anticuerpos generados después de la inmunización con las inmuno-repeticiones heterólogas (CTH89), reconocieron un repertorio de epítomos mucho más amplio que el suero de animales inmunizados con las inmuno-repeticiones homólogas y el A8-VD4 (7A, B, C y D). Esta construcción fue capaz de cubrir un repertorio de epítomos que cubría tanto el serovar E como el F al mismo nivel (o mejor) que el conseguido inmunizando con inmuno-repeticiones homólogas.

Para demostrar si un péptido de 17 AA que representa un péptido de VD4 central FDTTTLNPTIAGAGDVK era capaz de competir con organismos de *C. trachomatis* por la unión de anticuerpos específicos de CTH89, se realizó un ensayo competitivo de neutralización. Se mezclaron diferentes concentraciones de suero específico de A8-VD4 y CTH89 con el péptido en una concentración de 20 µg/ml (Fig. 7D). Los resultados demuestran que, al contrario que el suero específico de A8-VD4, el péptido no pudo eliminar totalmente la capacidad neutralizante del suero específico de CTH89, lo que sugiere que este suero se dirige a un repertorio más amplio de epítomos neutralizantes.

#### Conclusión

La inmunización con inmuno-repeticiones heterólogas de VD4 extendidos indujo una respuesta amplia que reconocía partes conservadas y específicas de serovar de la región de VD4, traduciéndose en un repertorio más amplio de epítomos neutralizantes.

**Ejemplo 4:** La inmunización con inmuno-repeticiones heterólogas de VD4 extendidos del SvD, SvE y SvF (CTH89) genera protección temprana independiente de linfocitos T después de una exposición con SvD.

#### Introducción

Con el fin de estudiar el mecanismo efector responsable de la protección temprana observada después de la vacunación con las unidades repetitivas de VD4, se agotaron los linfocitos T en ratones vacunados con CTH89 antes de la exposición y se comparó la capacidad de inducir protección temprana en ratones agotados y no agotados.

#### Resultados

Se inmunizaron ocho ratones/grupo 3 veces con 14 días entre las inmunizaciones. La vacuna (2x5 µg) se emulsionó en CAF01 y se administró simultáneamente por las vías s.c. e i.n. En determinados puntos temporales después de la última vacunación, se extrajo sangre de los ratones y se midieron las respuestas de anticuerpos contra clamidia, el título de neutralización y la protección *in vivo* con y sin agotamiento de linfocitos T. El agotamiento del subconjunto de linfocitos T eliminó la respuesta de los linfocitos T a CTH89 (Fig. 8A). CTH89 indujo una respuesta de anticuerpos fuerte (Fig. 8B) que reconoció la superficie del serovar D (Fig. 8C) y fue capaz de neutralizar las bacterias *in vitro* con un título de neutralización del 50 % de aproximadamente 1:10<sup>3</sup> (Fig. 8D). Sin embargo, los presentes inventores encontraron una protección significativa el día 3 después de la exposición en los ratones agotados en linfocitos T (Fig. 8E), lo que sugiere un papel *in vivo* para los anticuerpos que reconocen la unidad VD4 en la protección temprana contra *Chlamydia*. Por último, los presentes inventores demostraron que el suero CTH89 también fue capaz de neutralizar una infección por SvE y SvF con títulos de neutralización muy altos del 50 % al nivel del obtenido con SvD (Fig. 8D).

#### Conclusiones

La inmuno-repetición genera protección temprana independiente de linfocitos T contra la exposición vaginal con Serovar D, lo que sugiere un papel *in vivo* de los anticuerpos específicos de VD4.

**Ejemplo 5:** Neutralización *in vivo* con suero específico de CTH89

65 Introducción



Con el fin de investigar si la neutralización *in vitro* podría traducirse en un efecto protector mediado por suero *in vivo*, a continuación, los presentes inventores investigaron si las bacterias SvD recubiertas con anticuerpos generados después de la inmunización con CTH89 podrían neutralizar/inhibir la infección *in vivo* en comparación con el suero de ratones no tratados anteriormente.

5

#### Resultados

Se mezclaron bacterias SvD con suero aislado de ratones inmunizados con CTH89 o suero aislado de ratones no tratados anteriormente. Después, se infectaron ratones tratados con Depro-provera con  $4 \times 10^5$  bacterias\_Ratones infectados con SvD recubierto con suero CTH89 controlaron eficazmente la replicación bacteriana en comparación con ratones expuestos a SvD recubierto con suero no tratado anteriormente. Se retiraron seis de 8 ratones el día 7 y 10 en comparación con 2 y 3 respectivamente, en el grupo de control (Fig. 9).

15

#### Conclusión

El suero generado después de la inmunización con inmuno-repetición heteróloga de VD4 bloquea eficazmente la infección de ratones con SvD en comparación con el suero aislado de ratones no tratados anteriormente

20

#### **Ejemplo 6.** Fusión de MOMP recombinante con inmuno-repeticiones heterólogas de VD4 extendidos

##### Introducción

MOMP es la diana de ambas respuestas inmunitarias humoral y celular, pero a pesar del éxito relativo de las vacunas de MOMP nativas replegadas en la generación de anticuerpos neutralizantes y la protección contra la infección<sup>54,56</sup>, las vacunas experimentales a base de MOMP recombinante (rMOMP) han fallado. Los presentes inventores diseñaron un MOMP recombinante que va desde el aminoácido 56 al 349, que incluye todos los dominios variables (CTH521). Los presentes inventores también seleccionaron unidades polipeptídicas que contenían fragmentos de VD4 extendido (que cubren el dominio variable VD4 de MOMP y las regiones flanqueantes conservadas adyacentes) del serovar D, E, F y G (CT518). Por último, se construyó un híbrido donde CTH521 se fusionó con CTH518 (CT522) (Fig. 10).

30

##### Resultados

Se inmunizaron ocho ratones/grupo 3 veces con 14 días entre las inmunizaciones. Las vacunas se emulsionaron en CAF01 y se administraron simultáneamente mediante las vías s.c. (5 µg) e i.n. (5 µg). Se recogieron muestras de sangre después de la vacunación y se midieron los anticuerpos contra la unidad VD4<sup>ext</sup>, MOMP recombinante y contra la superficie bacteriana. Los anticuerpos generados después de la inmunización con CT522 y CT518 reconocieron la región de VD4 (Fig. 10A) y la superficie bacteriana (Fig. 10C) a un nivel mucho más alto en comparación con el suero aislado después de la inmunización CT521. Además, los anticuerpos de CTH518 y CTH522 fueron capaces de neutralizar una infección por SvD al mismo nivel y mucho más que CTH521 (Fig. 10D).

40

##### Conclusión

La fusión de MOMP recombinante con inmuno-repeticiones de VD4 extendidos heterólogos da como resultado una molécula que desencadena la misma respuesta funcional de anticuerpos que la inmuno-repetición sola.

45

#### **Ejemplo 7:** Vacunación con inmuno-repeticiones heterólogas de regiones de VD1<sup>ext</sup>-VD4<sup>ext</sup> del SvD, SvE y SvF (CTH88) en comparación con la vacunación con una sola unidad VD1-VD4 del SvD (CTH87).

50

##### Introducción

A continuación, los presentes inventores investigaron si era posible fusionar otra región de VD a la región de VD4 extendido y aun así mantener la capacidad de inducir anticuerpos neutralizantes. Por tanto, se diseñaron construcciones donde una versión extendida de la región de VD1 se acopló a la región de VD4 extendido. Los presentes inventores produjeron una unidad homóloga compuesta por una unidad extendida de VD1 y VD4 del SvD (CTH87) y una inmuno-repetición heteróloga compuesta por unidades extendidas de VD1 y VD4 de diferentes serovares (D, E y F; CTH88).

55

##### Resultados

Se inmunizaron 12 ratones/grupo 3 veces con 14 días entre inmunizaciones. Las vacunas se emulsionaron en CAF01 y se administraron simultáneamente mediante las vías s.c. (5 µg) e i.n. (5 µg). Los anticuerpos de ratones inmunizados con CTH87 reconocieron la superficie bacteriana de SvD, SvE y SvF (Fig. 11A); con los títulos más altos observados contra la cepa SvD homóloga y los títulos más bajos contra el SvF más distante. La inmunización con inmuno-repeticiones de unidades heterólogas de VD1<sup>ext</sup>-VD4<sup>ext</sup> dio como resultado niveles significativamente más altos de anticuerpos contra la superficie de las bacterias en comparación con la construcción monomérica y

65

amplió la respuesta, dando como resultado títulos que aumentaron 6-12 veces contra SvD y SvE y casi 25 veces contra SvF (Fig. 11A). La capacidad de estos anticuerpos para neutralizar la infección en un ensayo de neutralización *in vitro* mejoró aún más, ya que el suero de animales inmunizados con la construcción monomérica VD1<sup>ext</sup>-VD4<sup>ext</sup> del serovar D solo tenía una capacidad neutralizante mínima en comparación con la construcción de inmuo-repeticiones heterólogas VD1-VD4 con un título de neutralización de 1:2000 (Fig. 11B). Por último, la vacunación con la construcción de inmuo-repeticiones heterólogas VD1<sup>ext</sup>-VD4<sup>ext</sup> protegió de manera muy eficiente contra una exposición a SvD en un modelo de exposición vaginal (Fig. 11C).

#### Conclusión

Los presentes inventores demostraron que mediante la inmunización con inmuo-repeticiones de unidades heterólogas de VD1<sup>ext</sup>-VD4<sup>ext</sup> del serovar D, E y F, puede potenciarse en gran medida la respuesta de anticuerpos dirigida contra la superficie bacteriana de las tres serovariantes. Es importante destacar que los presentes inventores también demuestran que mediante la vacunación con una inmuo-repetición heteróloga, se observa un aumento selectivo más alto en el reconocimiento de la superficie del Serovar F (25 veces frente a 6-12 veces para el serovar D y E), lo que sugiere que las inmuo-repeticiones heterólogas aumentan los niveles de anticuerpos no solo contra epítomos compartidos sino también contra epítomos específicos del serovar F. Los presentes inventores demostraron que los anticuerpos inducidos con inmuo-repeticiones de VD1-VD4 (CTH88) heterólogo generaron títulos neutralizantes *in vitro* que dieron como resultado una protección temprana *in vivo* en comparación con la única unidad de VD1-VD4 del SvD (CTH87) (Fig. 11C).

#### Ejemplo 8: Acoplamiento de antígenos de linfocitos T a inmuo-repeticiones de VD4

##### Introducción

Como existe la necesidad generalmente reconocida de un componente de IMC en una respuesta inmunitaria protectora eficiente contra *Chlamydia trachomatis*, a continuación, los presentes inventores investigaron si las inmuo-repeticiones heterólogas pueden fusionarse con antígenos de linfocitos T con potencial de vacuna. El objetivo de los presentes inventores era proporcionar una protección mediada por anticuerpos tempranos contra Ct, así como una eliminación eficiente mediada por IMC de organismos residuales. Una construcción compuesta por CT043 y parte de CT414 y CT681 se fusionó con inmuo-repeticiones de VD1-VD4 heterólogo (CTH91).

##### Resultados

Se inmunizaron 12 ratones/grupo 3 veces con 14 días entre inmunizaciones. Las vacunas (2x5 µg) se emulsionaron en CAF01 y se administraron mediante las vías s.c. e i.n. En diversos momentos después de la última vacunación, se extrajo sangre de los ratones y se midieron las respuestas de anticuerpos y los títulos de neutralización. Los anticuerpos generados después de la inmunización con CTH91 y CTH88 reconocieron la región de VD4<sup>ext</sup> a niveles similares (Fig. 12A) y el suero aislado de ambos grupos fue capaz de neutralizar una infección por SvD (Fig. 12B). En comparación con ratones inmunizados con CTH88, la respuesta de los linfocitos T a CTH91 fue más fuerte con el reconocimiento tanto de CT414 como de CT043 (Fig. 12C). Esta respuesta de linfocitos T y B dio como resultado una protección significativa el día 3 después de la infección para ambos grupos, pero en los días 7 y 10 después de la infección, el grupo vacunado con una diana de linfocitos T y B fusionada (CTH91) indujo niveles más altos de protección en comparación con CTH88 (Fig. 12D).

##### Conclusión

Los presentes inventores fueron capaces de fusionar antígenos de linfocitos T con las regiones repetitivas de VD y aún así mantener la capacidad de inducir protección temprana y, además, estas construcciones indujeron una eliminación eficiente mediada por IMC de organismos residuales que conduce a niveles altos de protección el día 7 después de la infección.

#### Ejemplo 9: Inmunización con un cóctel de una inmuo-repetición heteróloga de VD4 y una molécula de fusión de antígeno de linfocito T

##### Introducción

A continuación, los presentes inventores investigaron si las inmuo-repeticiones pueden mezclarse con antígenos de linfocitos T con potencial de vacuna y aún así proporcionar una protección temprana mediada por anticuerpos contra Ct así como una eliminación eficiente mediada por IMC de organismos residuales. Por tanto, los presentes inventores investigaron si se podía mezclar un híbrido de linfocitos T fuerte compuesto por CT043, parte de CT414 y CT681 (CTH93) con CTH89 (Fig. 13A) y aún así mantener la capacidad de neutralizar la bacteria SvD *in vitro* e inducir protección temprana contra una exposición vaginal.

##### Resultados

Se inmunizaron 12 ratones/grupo 3 veces con 14 días entre inmunizaciones. La vacuna (2x5 µg) se emulsionó en CAF01 y se administró simultáneamente mediante la vía subcutánea (sc) e intranasal (i.n.) (Fig. 13). Los anticuerpos generados después de la inmunización con CTH89 o la mezcla de CTH89 y CTH93 reconocieron fuertemente las regiones de VD4 (Fig. 13B) y neutralizaron las bacterias con títulos de neutralización similares al 50 % (Fig. 13C). Se observaron niveles muy reducidos de reconocimiento y neutralización de VD4 después de la vacunación con la fusión de antígeno de linfocito T (CTH93, Fig. 13D), aunque estas moléculas también contenían MOMP (CT681) y, por tanto, potencialmente los mismos epítomos neutralizantes. Esta molécula también proporcionó niveles muy bajos de reconocimiento del epítomo TTLNPTIAG (datos no mostrados). Esto enfatiza claramente la limitación del MOMP recombinante de tamaño completo como antígeno de vacuna para la inducción de anticuerpos neutralizantes como se publicó anteriormente. Tanto el CTH89 como el cóctel de las vacunas de CTH89 y CTH93 indujeron protección el día 3 después de la infección (Fig. 13E). Esto contrastaba con los ratones vacunados con CTH93 que en los que no se indujo ninguna protección significativa el día 3 después de la infección. El día 7 después de la infección, ambas vacunas, incluyendo la diana fuerte de linfocitos T (CTH93), indujeron un nivel significativo de protección (Fig. 13D y E).

#### Conclusiones

Los presentes inventores fueron capaces de mezclar las repeticiones heterólogas de VD4 con antígenos de linfocitos T fuertes sin pérdida de neutralización *in vitro* y protección temprana *in vivo* contra una exposición al Serovar D. Por otra parte, la combinación de dianas de linfocitos T y B indujo una eliminación mediada por IMC eficiente de organismos residuales conduciendo a niveles altos de protección el día 7 después de la infección.

#### Ejemplo 10: Ensayo del efecto de diferentes sistemas adyuvantes

##### Introducción

Con el fin de investigar si la alta respuesta de anticuerpos contra inmuno-repeticiones heterólogas solo se observaba cuando la vacuna se administraba en CAF01, los presentes inventores compararon la respuesta de anticuerpos y el título de neutralización después de la inmunización con CTH527 (SvE VD4<sup>ext</sup>)\*4 en CAF01 o alumbre.

##### Resultados

Ambos sistemas adyuvantes indujeron una alta respuesta de anticuerpos contra la superficie de SvE cuando se administraron junto con CTH527, y los anticuerpos de ambos grupos fueron capaces de neutralizar SvE *in vitro* (Fig. 14).

#### Ejemplo 11: Vacunación con inmuno-repeticiones heterólogas compuestas por una longitud reducida de las regiones VD4<sup>ext</sup> del SvD, SvE, SvF y SvG

##### Introducción

A continuación, los presentes inventores compararon construcciones de inmuno-repeticiones heterólogas compuestas por la longitud reducida de la región de VD4 (CTH285 SEQ ID NO 69 y CTH286 SEQ ID NO 70) en comparación con la construcción CTH518 (CTH518 SEQ ID NO 53) (Fig. 15A).

##### Resultados

Se inmunizaron 4 ratones/grupo 3 veces con 14 días entre inmunizaciones. Las vacunas se emulsionaron en CAF01 y se administraron simultáneamente mediante las vías subcutánea (sc, 5 µg) e intranasal (i.n., 5 µg). Se aislaron esplenocitos de 4 ratones/grupo y los presentes inventores investigaron las respuestas de linfocitos T a péptidos superpuestos que representaban la región de VD4<sup>ext</sup> (Fig. 15B) y la capacidad del suero para neutralizar una infección por serovar D y F (Fig. 15C). Se observaron niveles muy reducidos de reconocimiento por linfocitos T de VD4 y se observó neutralización después de la vacunación con CTH285 donde las regiones de VD4<sup>ext</sup> de los diferentes serovares se redujeron en 38 aa. Por otro lado, CTH286 (cada región de VD4<sup>ext</sup> reducida en 24 aa) indujo niveles similares de respuestas de linfocitos T y tenía la misma capacidad para neutralizar una infección por serovar D que CTH518.

##### Conclusión

Los presentes inventores demostraron que mediante la reducción de la longitud de las regiones VD4<sup>ext</sup> con 38 aa, los presentes inventores redujeron tanto las respuestas de linfocitos T como la capacidad de neutralizar una infección por serovar D y F.

#### Ejemplo 12: Vacunación con inmuno-repeticiones heterólogas compuestas por regiones de VD4<sup>ext</sup> extendido del SvD, SvE, SvF, SvG, SvIa y SvJ.

## Introducción

A continuación, los presentes inventores investigaron si extendiendo la longitud de la región de VD4<sup>ext</sup> podría potenciarse la respuesta de linfocitos T a las construcciones de inmuno-repetición. Los presentes inventores diseñaron dos construcciones CTH69 (SEQ ID NO 47) y CTH72 (SEQ ID NO 48). CTH69 fue similar a CTH88, pero las regiones de VD4<sup>ext</sup> del SvD, SvE y SvF se extendieron en 12aa N-terminalmente (Fig. 16B). CTH72 también contenía regiones VD1 y VD4<sup>ext</sup> del SvG, SvIa y SvJ.

## Resultados

Se inmunizaron ratones 3 veces con 14 días entre inmunizaciones. Las vacunas se emulsionaron en CAF01 y se administraron simultáneamente mediante las vías subcutánea (sc, 5 µg) e intranasal (i.n., 5 µg). Se investigaron las respuestas de linfocitos T al antígeno utilizado para la inmunización y a grupos de péptidos que representan las regiones de VD1 y VD4 de los diferentes serovares (Fig. 16). La extensión de las regiones de VD4<sup>ext</sup> indujo una respuesta de linfocitos T significativamente mayor (> 40.000 pg/ml) en comparación con la respuesta de linfocitos T obtenida con CTH88 (< 20.000 pg/ml) (Fig. 16B). Es importante destacar que ambas construcciones extendidas aún fueron capaces de neutralizar una infección por serovar D *in vitro* (Fig. 16C). Comparando la eficacia protectora de las vacunas, CTH69 y CTH72 indujeron un nivel significativo de protección el día 7 después de la infección, lo que posiblemente podría explicarse por la respuesta de linfocitos T más fuerte inducida por estas vacunas en comparación con CTH88 (Fig. 16D).

## Conclusión

La extensión de la región de VD4<sup>ext</sup> potenció la respuesta de linfocitos T en comparación con CTH88, lo que condujo a una protección potenciada el día 7 después de la infección.

## Bibliografía:

1. OMS. *Global Prevalence and Incidence of selected Curable Sexually Transmitted Infections: Overview and Estimates*. Organización Mundial de la Salud, Ginebra, Suiza; 2001.
2. Paavonen J, Eggert-Kruse W. *Chlamydia trachomatis: impact on human reproduction*. *Hum Reprod Update* 1999, 5(5): 433-447.
3. Plummer FA, Simonsen JN, Cameron DW, Ndinya-Achola JO, Kreiss JK, Gakinya MN, et al. *Cofactors in male-female sexual transmission of human immunodeficiency virus type 1*. *J Infect Dis* 1991, 163(2): 233-239.
4. Anttila T, Saikku P, Koskela P, Bloigu A, Dillner J, Ikaheimo I, et al. *Serotypes of Chlamydia trachomatis and risk for development of cervical squamous cell carcinoma*. *Jama* 2001, 285(1): 47-51.
5. Golden MR, Schillinger JA, Markowitz L, St Louis ME. *Duration of untreated genital infections with chlamydia trachomatis: a review of the literature*. *Sex Transm Dis* 2000, 27(6): 329-337.
6. Batteiger BE, Xu F, Johnson RE, Rekart ML. *Protective immunity to Chlamydia trachomatis genital infection: evidence from human studies*. *J Infect Dis*, 201 Supl 2: S178-189.
7. Brunham RC, Rey-Ladino J. *Immunology of Chlamydia infection: implications for a Chlamydia trachomatis vaccine*. *Nat Rev Immunol* 2005, 5(2): 149-161.
8. Su H, Caldwell HD. *CD4+ T cells play a significant role in adoptive immunity to Chlamydia trachomatis infection of the mouse genital tract*. *Infect Immun* 1995, 63(9): 3302-3308.
9. Morrison SG, Su H, Caldwell HD, Morrison RP. *Immunity to murine Chlamydia trachomatis genital tract reinfection involves B cells and CD4(+) T cells but not CD8(+) T cells*. *Infect Immun* 2000, 68(12): 6979-6987.
10. Morrison RP, Caldwell HD. *Immunity to murine chlamydial genital infection*. *Infect Immun* 2002, 70(6): 2741-2751.
11. Rasmussen SJ. *Chlamydia immunology*. *Curr Opin Infect Dis* 1998, 11(1): 37-41.
12. Rank R. En: *Chlamydia Intracellular Biology, Pathogenesis and Immunity*. Washington DC. ASM Press 1999: Págs. 239-296.
13. Morrison SG, Morrison RP. *Resolution of secondary Chlamydia trachomatis genital tract infection in immune mice with depletion of both CD4+ and CD8+ T cells*. *Infect Immun* 2001, 69(4): 2643-2649.

14. Moore T, Ekworomadu CO, Eko FO, MacMillan L, Ramey K, Ananaba GA, et al. *Fc receptor-mediated antibody regulation of T cell immunity against intracellular pathogens. J Infect Dis* 2003, 188(4): 617-624.
- 5 15. Pal S, Rangel J, Peterson EM, de la Maza LM. *Immunogenic and protective ability of the two developmental forms of Chlamydiae in a mouse model of infertility. Vaccine* 1999, 18(7-8): 752-761.
16. Darville T, Hiltke TJ. *Pathogenesis of genital tract disease due to Chlamydia trachomatis. J Infect Dis* 2010, 201 Supl 2: S114-125.
- 10 17. Hansen J, Jensen KT, Follmann F, Agger EM, Theisen M, Andersen P. *Liposome Delivery of Chlamydia muridarum Major Outer Membrane Protein Primes a Th1 Response That Protects against Genital Chlamydial Infection in a Mouse Model. J Infect Dis* 2008, 198(5): 758-767.
- 15 18. Olsen AW, Theisen M, Christensen D, Follmann F, Andersen P. *Protection against Chlamydia promoted by a subunit vaccine (CTH1) compared with a primary intranasal infection in a mouse genital challenge model. PLoS One*, 5(5): e10768.
- 20 19. Li W, Murthy AK, Guentzel MN, Chambers JP, Forsthuber TG, Seshu J, et al. *Immunization with a combination of integral chlamydial antigens and a defined secreted protein induces robust immunity against genital chlamydial challenge. Infect Immun* 2010, 78(9): 3942-3949.
- 20 20. Olsen AW, Follmann F, Højrup P, Leah R, Sand C, Andersen P, et al. *Identification of human T-cell targets recognized during the Chlamydia trachomatis genital infection. J Infect Dis* 2007, 196: 1546-1552.
- 25 21. Olsen AW, Follmann F, Jensen K, Højrup P, Leah R, Sorensen H, et al. *Identification of CT521 as a frequent target of Th1 cells in patients with urogenital Chlamydia trachomatis infection. J Infect Dis* 2006, 194(9): 1258-1266.
- 30 22. Follmann F, Olsen AW, Jensen KT, Hansen PR, Andersen P, Theisen M. *Antigenic profiling of a Chlamydia trachomatis gene-expression library. J Infect Dis* 2008, 197 897-905.
- 35 23. Sharma J, Zhong Y, Dong F, Piper JM, Wang G, Zhong G. *Profiling of human antibody responses to Chlamydia trachomatis urogenital tract infection using microplates arrayed with 156 chlamydial fusion proteins. Infect Immun* 2006, 74(3): 1490-1499.
- 40 24. Coler RN, Bhatia A, Maisonneuve JF, Probst P, Barth B, Owendale P, et al. *Identification and characterization of novel recombinant vaccine antigens for immunization against genital Chlamydia trachomatis. FEMS Immunol Med Microbiol* 2009, 55(2): 258-270.
- 45 25. Karunakaran KP, Rey-Ladino J, Stoykov N, Berg K, Shen C, Jiang X, et al. *Immunoproteomic discovery of novel T cell antigens from the obligate intracellular pathogen Chlamydia. J Immunol* 2008, 180(4): 2459-2465.
26. Yu H, Jiang X, Shen C, Karunakaran KP, Brunham RC. *Novel Chlamydia muridarum T cell antigens induce protective immunity against lung and genital tract infection in murine models. J Immunol* 2009, 182(3): 1602-1608.
- 45 27. Molina DM, Pal S, Kayala MA, Teng A, Kim PJ, Baldi P, et al. *Identification of immunodominant antigens of Chlamydia trachomatis using proteome microarrays. Vaccine* 2010, 28(17): 3014-3024.
- 50 28. Stephens RS, Kalman S, Lammel C, Fan J, Marathe R, Aravind L, et al. *Genome sequence of an obligate intracellular pathogen of humans: Chlamydia trachomatis. Science* 1998, 282(5389): 754-759.
29. Sette A, Rappuoli R. *Reverse vaccinology: developing vaccines in the era of genomics. Immunity* 2010, 33(4): 530-541.
- 55 30. Igietseme JU, Eko FO, Black CM. *Chlamydia vaccines: recent developments and the role of adjuvants in future formulations. Expert Rev Vaccines* 2011, 10(11): 1585-1596.
31. Rockey DD, Wang J, Lei L, Zhong G. *Chlamydia vaccine candidates and tools for chlamydial antigen discovery. Expert Rev Vaccines* 2009, 8(10): 1365-1377.
- 60 32. Farris CM, Morrison RP. *Vaccination against Chlamydia genital infection utilizing the murine C. muridarum model. Infect Immun* 2011, 79(3): 986-996.
- 65 33. Kubo A, Stephens RS. *Characterization and functional analysis of PorB, a Chlamydia porin and neutralizing target. MolMicrobiol* 2000, 38(4): 772-780.

34. Kawa DE, Schachter J, Stephens RS. *Immune response to the Chlamydia trachomatis outer membrane protein PorB*. *Vaccine* 2004, 22(31-32): 4282-4286.
- 5 35. Crane DD, Carlson JH, Fischer ER, Bavoil P, Hsia RC, Tan C, et al. *Chlamydia trachomatis polymorphic membrane protein D is a species-common pan-neutralizing antigen*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006, 103(6): 1894-1899.
- 10 36. Baehr W, Zhang YX, Joseph T, Su H, Nano FE, Everett KD, et al. *Mapping antigenic domains expressed by Chlamydia trachomatis major outer membrane protein genes*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988, 85(11): 4000-4004.
- 15 37. Bavoil P, Ohlin A, Schachter J. *Role of disulfide bonding in outer membrane structure and permeability in Chlamydia trachomatis*. *Infect Immun* 1984, 44(2): 479-485.
38. Hatch TP, Allan I, Pearce JH. *Structural and polypeptide differences between envelopes of infective and reproductive life cycle forms of Chlamydia spp*. *J Bacteriol* 1984, 157(1): 13-20.
- 20 39. Stephens RS, Sanchez-Pescador R, Wagar EA, Inouye C, Urdea MS. *Diversity of Chlamydia trachomatis major outer membrane protein genes*. *J Bacteriol* 1987, 169(9): 3879-3885.
- 40 40. Caldwell HD, Perry LJ. *Neutralization of Chlamydia trachomatis infectivity with antibodies to the major outer membrane protein*. *Infect Immun* 1982, 38(2): 745-754.
- 25 41. Peeling R, Maclean IW, Brunham RC. *In vitro neutralization of Chlamydia trachomatis with monoclonal antibody to an epitope on the major outer membrane protein*. *Infect Immun* 1984, 46(2): 484-488.
42. Zhang YX, Stewart S, Joseph T, Taylor HR, Caldwell HD. *Protective monoclonal antibodies recognize epitopes located on the major outer membrane protein of Chlamydia trachomatis*. *J Immunol* 1987, 138(2): 575-581.
- 30 43. Zhang YX, Stewart SJ, Caldwell HD. *Protective monoclonal antibodies to Chlamydia trachomatis serovar- and serogroup-specific major outer membrane protein determinants*. *Infect Immun* 1989, 57(2): 636-638.
- 35 44. Cotter TW, Meng Q, Shen ZL, Zhang YX, Su H, Caldwell HD. *Protective efficacy of major outer membrane protein-specific immunoglobulin A (IgA) and IgG monoclonal antibodies in a murine model of Chlamydia trachomatis genital tract infection*. *Infect Immun* 1995, 63(12): 4704-4714.
- 40 45. Bandea CI, Debattista J, Joseph K, Igietseme J, Timms P, Black CM. *Chlamydia trachomatis serovars among strains isolated from members of rural indigenous communities and urban populations in Australia*. *J Clin Microbiol* 2008, 46(1): 355-356.
46. Hsu MC, Tsai PY, Chen KT, Li LH, Chiang CC, Tsai JJ, et al. *Genotyping of Chlamydia trachomatis from clinical specimens in Taiwan*. *J Med Microbiol* 2006, 55(Pt 3): 301-308.
- 45 47. Jonsdottir K, Kristjansson M, Hjaltalin Olafsson J, Steingrimsson O. *The molecular epidemiology of genital Chlamydia trachomatis in the greater Reykjavik area, Iceland*. *Sex Transm Dis* 2003, 30(3): 249-256.
- 50 48. Lysen M, Osterlund A, Rubin CJ, Persson T, Persson I, Herrmann B. *Characterization of ompA genotypes by sequence analysis of DNA from all detected cases of Chlamydia trachomatis infections during 1 year of contact tracing in a Swedish County*. *J Clin Microbiol* 2004, 42(4): 1641-1647.
- 55 49. Millman K, Black CM, Johnson RE, Stamm WE, Jones RB, Hook EW, et al. *Population-based genetic and evolutionary analysis of Chlamydia trachomatis urogenital strain variation in the United States*. *J Bacteriol* 2004, 186(8): 2457-2465.
- 60 50. Millman K, Black CM, Stamm WE, Jones RB, Hook EW, 3a, Martin DH, et al. *Population-based genetic epidemiologic analysis of Chlamydia trachomatis serotypes and lack of association between ompA polymorphisms and clinical phenotypes*. *Microbes Infect* 2006, 8(3): 604-611.
- 65 51. Su H, Parnell M, Caldwell HD. *Protective efficacy of a parenterally administered MOMP-derived synthetic oligopeptide vaccine in a murine model of Chlamydia trachomatis genital tract infection: serum neutralizing IgG antibodies do not protect against chlamydial genital tract infection*. *Vaccine* 1995, 13(11): 1023-1032.
52. Pal S, Barnhart KM, Wei Q, Abai AM, Peterson EM, de la Maza LM. *Vaccination of mice with DNA plasmids coding for the Chlamydia trachomatis major outer membrane protein elicits an immune response but fails to protect against a genital challenge*. *Vaccine* 1999, 17(5): 459-465.

53. Zhang DJ, Yang X, Shen C, Brunham RC. *Characterization of immune responses following intramuscular DNA immunization with the MOMP gene of Chlamydia trachomatis mouse pneumonitis strain. Immunology* 1999, 96(2): 314-321.
- 5 54. Pal S, Theodor I, Peterson EM, de la Maza LM. *Immunization with the Chlamydia trachomatis mouse pneumonitis major outer membrane protein can elicit a protective immune response against a genital challenge. Infect Immun* 2001, 69(10): 6240-6247.
- 10 55. Shaw J, Grund V, Durling L, Crane D, Caldwell HD. *Dendritic cells pulsed with a recombinant chlamydial major outer membrane protein antigen elicit a CD4(+) type 2 rather than type 1 immune response that is not protective. Infect Immun* 2002, 70(3): 1097-1105.
- 15 56. Kari L, Whitmire WM, Crane DD, Reveneau N, Carlson JH, Goheen MM, et al. *Chlamydia trachomatis native major outer membrane protein induces partial protection in nonhuman primates: implication for a trachoma transmission-blocking vaccine. J Immunol* 2009, 182(12): 8063-8070.
- 20 57. Carmichael JR, Pal S, Tifrea D, de la Maza LM. *Induction of protection against vaginal shedding and infertility by a recombinant Chlamydia vaccine. Vaccine* 2011, 29(32): 5276-5283.
- 25 58. Yen TY, Pal S, de la Maza LM. *Characterization of the disulfide bonds and free cysteine residues of the Chlamydia trachomatis mouse pneumonitis major outer membrane protein. Biochemistry* 2005, 44(16): 6250-6256.
- 30 59. Stephens RS, Wagar EA, Schoolnik GK. *High-resolution mapping of serovar-specific and common antigenic determinants of the major outer membrane protein of Chlamydia trachomatis. J Exp Med* 1988, 167(3): 817-831.
- 35 60. Murdin AD, Su H, Klein MH, Caldwell HD. *Poliovirus hybrids expressing neutralization epitopes from variable domains I and IV of the major outer membrane protein of Chlamydia trachomatis elicit broadly cross-reactive C. trachomatis-neutralizing antibodies. Infect Immun* 1995, 63(3): 1116-1121.
- 40 61. Murdin AD, Su H, Manning DS, Klein MH, Parnell MJ, Caldwell HD. *A poliovirus hybrid expressing a neutralization epitope from the major outer membrane protein of Chlamydia trachomatis is highly immunogenic. Infect Immun* 1993, 61(10): 4406-4414.
- 45 62. Villeneuve A, Brossay L, Paradis G, Hebert J. *Determination of neutralizing epitopes in variable domains I and IV of the major outer-membrane protein from Chlamydia trachomatis serovar K. Microbiology* 1994, 140 (Pt 9): 2481-2487.
- 50 63. Villeneuve A, Brossay L, Paradis G, Hebert J. *Characterization of the humoral response induced by a synthetic peptide of the major outer membrane protein of Chlamydia trachomatis serovar B. Infect Immun* 1994, 62(8): 3547-3549.
- 55 64. Motin VL, de la Maza LM, Peterson EM. *Immunization with a peptide corresponding to chlamydial heat shock protein 60 increases the humoral immune response in C3H mice to a peptide representing variable domain 4 of the major outer membrane protein of Chlamydia trachomatis. Clin Diagn Lab Immunol* 1999, 6(3): 356-363.
- 60 65. Su H, Caldwell HD. *Immunogenicity of a synthetic oligopeptide corresponding to antigenically common T-helper and B-cell neutralizing epitopes of the major outer membrane protein of Chlamydia trachomatis. Vaccine* 1993, 11(11): 1159-1166.
- 65 66. Toye B, Zhong GM, Peeling R, Brunham RC. *Immunologic characterization of a cloned fragment containing the species-specific epitope from the major outer membrane protein of Chlamydia trachomatis. Infect Immun* 1990, 58(12): 3909-3913.
67. Mygind P, Christiansen G, Persson K, Birkelund S. *Detection of Chlamydia trachomatis-specific antibodies in human sera by recombinant major outer-membrane protein polyantigens. J Med Microbiol* 2000, 49(5): 457-465.
68. Qu Z, Cheng X, de la Maza LM, Peterson EM. *Analysis of the humoral response elicited in mice by a chimeric peptide representing variable segments I and IV of the major outer membrane protein of Chlamydia trachomatis. Vaccine* 1994, 12(6): 557-564.
69. Peterson EM, Cheng X, Qu Z, de la Maza LM. *The effect of orientation within a chimeric peptide on the immunogenicity of Chlamydia trachomatis epitopes. Mol Immunol* 1996, 33(4-5): 335-339.
70. Caldwell HD, Kromhout J, Schachter J. *Purification and partial characterization of the major outer membrane protein of Chlamydia trachomatis. Infect Immun* 1981, 31(3): 1161-1176.

71. Ravn P, Demissie A, Eguale T, Wondwosson H, Lein D, Amoudy HA, et al. *Human T cell responses to the ESAT-6 antigen from Mycobacterium tuberculosis*. *J Infect Dis* 1999, 179(3): 637-645.
- 5 72. Stryhn A, Pedersen LO, Romme T, Holm CB, Holm A, Buus S. *Peptide binding specificity of major histocompatibility complex class I resolved into an array of apparently independent subspecificities: quantitation by peptide libraries and improved prediction of binding*. *Eur J Immunol* 1996, 26(8): 1911-1918.
- 10 73. Harboe M, Oettinger T, Wiker HG, Rosenkrands I, Andersen P. *Evidence for occurrence of the ESAT-6 protein in Mycobacterium tuberculosis and virulent Mycobacterium bovis and for its absence in Mycobacterium bovis BCG*. *Infect Immun* 1996, 64(1): 16-22.
- 15 74. Volp K, Mathews S, Timms P, Hafner L. *Peptide immunization of guinea pigs against Chlamydia psittaci (GPIC agent) infection induces good vaginal secretion antibody response, in vitro neutralization and partial protection against live challenge*. *Immunol Cell Biol* 2001, 79(3): 245-250.
75. Hinton HJ, Jegerlehner A, Bachmann MF. *Pattern recognition by B cells: the role of antigen repetitiveness versus Toll-like receptors*. *Current topics in microbiology and immunology* 2008, 319: 1-15.
- 20 76. Kim SK, DeMars R. *Epitope clusters in the major outer membrane protein of Chlamydia trachomatis*. *Curr Opin Immunol* 2001, 13(4): 429-436.
77. Findlay HE, McClafferty H, Ashley RH. *Surface expression, single-channel analysis and membrane topology of recombinant Chlamydia trachomatis Major Outer Membrane Protein*. *BMC Microbiol* 2005, 5: 5.
- 25 78. Cobbold SP, Jayasuriya A, Nash A, Prospero TD, Waldmann H. *Therapy with monoclonal antibodies by elimination of T-cell subsets in vivo*. *Nature* 1984, 312(5994): 548-551.
- 30 79. Qin S, Cobbold S, Tighe H, Benjamin R, Waldmann H. *CD4 monoclonal antibody pairs for immunosuppression and tolerance induction*. *Eur J Immunol* 1987, 17(8): 1159-1165.

LISTADO DE SECUENCIAS

- 35 <110> Instituto Statens Serum
- <120> Vacunas de Chlamydia sp
- <130> 15049
- 40 <160> 75
- <170> PatentIn versión 3.5
- 45 <210> 1  
<211> 20  
<212> PRT  
<213> *Chlamydia trachomatis*
- 50 <400> 1  
Ala Lys Pro Thr Thr Asp Thr Gly Asn Ser Ala Ala Pro Ser Thr Leu  
1 5 10 15  
Thr Ala Arg Glu  
20
- 55 <210> 2  
<211> 20  
<212> PRT  
<213> *Chlamydia trachomatis*
- <400> 2



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

Thr Ala Arg Glu  
 20

5 <210> 3  
 <211> 21  
 <212> PRT  
 <213> *Chlamydia trachomatis*  
 <400> 3

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

Leu Val Glu Arg Thr  
 20

10 <210> 4  
 <211> 21  
 <212> PRT  
 15 <213> *Chlamydia trachomatis*  
 <400> 4

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

Leu Val Glu Arg Thr

20  
 25 <210> 5  
 <211> 22  
 <212> PRT  
 <213> *Chlamydia trachomatis*  
 <400> 5

Ala Ala Pro Thr Thr Lys Asp Ile Ala Gly Leu Glu Asn Asp Pro Thr  
 1 5 10 15

Thr Asn Val Ala Arg Pro  
 20

30 <210> 6  
 <211> 22  
 <212> PRT  
 35 <213> *Chlamydia trachomatis*  
 <400> 6

ES 2 781 579 T3

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

Thr Asn Val Ala Arg Pro  
20

5 <210> 7  
<211> 30  
<212> PRT  
<213> *Chlamydia trachomatis*  
<400> 7

Asp Ala Ile Ser Met Arg Val Gly Tyr Tyr Gly Asp Phe Val Phe Asp  
1 5 10 15

10 Arg Val Leu Lys Thr Asp Val Asn Lys Glu Phe Gln Met Gly  
20 25 30

15 <210> 8  
<211> 18  
<212> PRT  
<213> *Chlamydia trachomatis*  
<400> 8

Asn Pro Ala Tyr Gly Arg His Met Gln Asp Ala Glu Met Phe Thr Asn  
1 5 10 15

Ala Ala

20 <210> 9  
<211> 59  
<212> PRT  
<213> *Chlamydia trachomatis*  
25 <400> 9

Ala Ile Ser Met Arg Val Gly Tyr Tyr Gly Asp Phe Val Phe Asp Arg  
1 5 10 15

Val Leu Lys Thr Asp Val Asn Lys Glu Phe Gln Met Gly Ala Lys Pro  
20 25 30

Thr Thr Asp Thr Gly Asn Ser Ala Ala Pro Ser Thr Leu Thr Ala Arg  
35 40 45

Glu Asn Pro Ala Tyr Gly Arg His Met Gln Asp  
50 55

30 <210> 10  
<211> 59  
<212> PRT  
<213> *Chlamydia trachomatis*  
35 <400> 10

ES 2 781 579 T3

Ala Ile Ser Met Arg Met Gly Tyr Tyr Gly Asp Phe Val Phe Asp Arg  
1 5 10 15

Val Leu Lys Thr Asp Val Asn Lys Glu Phe Gln Met Gly Asp Lys Pro  
20 25 30

Thr Ser Thr Thr Gly Asn Ala Thr Ala Pro Thr Thr Leu Thr Ala Arg  
35 40 45

Glu Asn Pro Ala Tyr Gly Arg His Met Gln Asp  
50 55

5 <210> 11  
<211> 60  
<212> PRT  
<213> *Chlamydia trachomatis*  
  
<400> 11

Ala Ile Ser Met Arg Met Gly Tyr Tyr Gly Asp Phe Val Phe Asp Arg  
1 5 10 15

Val Leu Lys Thr Asp Val Asn Lys Glu Phe Glu Met Gly Glu Ala Leu  
20 25 30

Ala Gly Ala Ser Gly Asn Thr Thr Ser Thr Leu Ser Lys Leu Val Glu  
35 40 45

10 Arg Thr Asn Pro Ala Tyr Gly Lys His Met Gln Asp  
50 55 60

15 <210> 12  
<211> 60  
<212> PRT  
<213> *Chlamydia trachomatis*  
  
<400> 12

Ala Ile Ser Met Arg Met Gly Tyr Tyr Gly Asp Phe Val Phe Asp Arg  
1 5 10 15

Val Leu Lys Thr Asp Val Asn Lys Glu Phe Glu Met Gly Glu Ala Leu  
20 25 30

Ala Gly Ala Ser Gly Asn Thr Thr Ser Thr Leu Ser Lys Leu Val Glu  
35 40 45

20 Arg Thr Asn Pro Ala Tyr Gly Lys His Met Gln Asp  
50 55 60

25 <210> 13  
<211> 61  
<212> PRT  
<213> *Chlamydia trachomatis*  
  
<400> 13

ES 2 781 579 T3

Ala Ile Ser Met Arg Met Gly Tyr Tyr Gly Asp Phe Val Phe Asp Arg  
 1 5 10 15

Val Leu Lys Thr Asp Val Asn Lys Glu Phe Gln Met Gly Ala Ala Pro  
 20 25 30

Thr Thr Lys Asp Ile Ala Gly Leu Glu Asn Asp Pro Thr Thr Asn Val  
 35 40 45

Ala Arg Pro Asn Pro Ala Tyr Gly Lys His Met Gln Asp  
 50 55 60

5 <210> 14  
 <211> 61  
 <212> PRT  
 <213> *Chlamydia trachomatis*

10 <400> 14

Ala Ile Ser Met Arg Met Gly Tyr Tyr Gly Asp Phe Val Phe Asp Arg  
 1 5 10 15

Val Leu Lys Thr Asp Val Asn Lys Glu Phe Gln Met Gly Ala Ala Pro  
 20 25 30

Thr Thr Ser Asp Val Ala Gly Leu Gln Asn Asp Pro Thr Thr Asn Val  
 35 40 45

Ala Arg Pro Asn Pro Ala Tyr Gly Lys His Met Gln Asp  
 50 55 60

15 <210> 15  
 <211> 30  
 <212> PRT  
 <213> *Chlamydia trachomatis*

<400> 15

Ser Ala Thr Ala Ile Phe Asp Thr Thr Thr Leu Asn Pro Thr Ile Ala  
 1 5 10 15

20 Gly Ala Gly Asp Val Lys Thr Gly Ala Glu Gly Gln Leu Gly  
 20 25 30

25 <210> 16  
 <211> 30  
 <212> PRT  
 <213> *Chlamydia trachomatis*

<400> 16

Ser Ala Thr Ala Ile Phe Asp Thr Thr Thr Leu Asn Pro Thr Ile Ala  
 1 5 10 15

Gly Ala Gly Asp Val Lys Ala Ser Ala Glu Gly Gln Leu Gly  
 20 25 30

ES 2 781 579 T3

<210> 17  
<211> 31  
<212> PRT  
5 <213> *Chlamydia trachomatis*

<400> 17

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

Gly Cys Gly Ser Val Ala Gly Ala Asn Thr Glu Gly Gln Ile Ser  
20 25 30

10  
<210> 18  
<211> 31  
<212> PRT  
15 <213> *Chlamydia trachomatis*

<400> 18

Leu Ala Lys Pro Val Val Asp Ile Thr Thr Leu Asn Pro Thr Ile Ala  
1 5 10 15

Gly Cys Gly Ser Val Val Ala Ala Asn Ser Glu Gly Gln Ile Ser  
20 25 30

20  
<210> 19  
<211> 31  
<212> PRT  
<213> *Chlamydia trachomatis*

25 <400> 19

Leu Ala Glu Ala Ile Leu Asp Val Thr Thr Leu Asn Pro Thr Ile Ala  
1 5 10 15

Gly Lys Gly Thr Val Val Ala Ser Gly Ser Asp Asn Asp Leu Ala  
20 25 30

30  
<210> 20  
<211> 31  
<212> PRT  
<213> *Chlamydia trachomatis*

35 <400> 20

Leu Ala Glu Ala Ile Leu Asp Val Thr Thr Leu Asn Pro Thr Ile Ala  
1 5 10 15

Gly Lys Gly Thr Val Val Ala Ser Gly Ser Glu Asn Asp Leu Ala  
20 25 30

40  
<210> 21  
<211> 39  
<212> PRT  
<213> *Chlamydia trachomatis*

ES 2 781 579 T3

<400> 21

Glu Trp Gln Ala Ser Leu Ala Leu Ser Tyr Arg Leu Asn Met Phe Thr  
 1 5 10 15

Pro Tyr Ile Gly Val Lys Trp Ser Arg Ala Ser Phe Asp Ala Asp Thr  
 20 25 30

Ile Arg Ile Ala Gln Pro Lys  
 35

5 <210> 22  
 <211> 30  
 <212> PRT  
 <213> *Chlamydia trachomatis*

10 <400> 22

Asp Thr Met Gln Ile Val Ser Leu Gln Leu Asn Lys Met Lys Ser Arg  
 1 5 10 15

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

15 <210> 23  
 <211> 68  
 <212> PRT  
 <213> *Chlamydia trachomatis*

20 <400> 23

Asn Met Phe Thr Pro Tyr Ile Gly Val Lys Trp Ser Arg Ala Ser Phe  
 1 5 10 15

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

Phe Asp Thr Thr Thr Leu Asn Pro Thr Ile Ala Gly Ala Gly Asp Val  
 35 40 45

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

Leu Gln Leu Asn  
 65

25 <210> 24  
 <211> 68  
 <212> PRT  
 <213> *Chlamydia trachomatis*

30 <400> 24

ES 2 781 579 T3

Asn Met Phe Thr Pro Tyr Ile Gly Val Lys Trp Ser Arg Ala Ser Phe  
1 5 10 15

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

Phe Asp Thr Thr Thr Leu Asn Pro Thr Ile Ala Gly Ala Gly Asp Val  
35 40 45

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

Leu Gln Leu Asn  
65

<210> 25  
<211> 69  
<212> PRT  
<213> *Chlamydia trachomatis*

5

<400> 25

Asn Met Phe Thr Pro Tyr Ile Gly Val Lys Trp Ser Arg Ala Ser Phe  
1 5 10 15

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

Val Asp Ile Thr Thr Leu Asn Pro Thr Ile Ala Gly Cys Gly Ser Val  
35 40 45

Ala Gly Ala Asn Thr Glu Gly Gln Ile Ser Asp Thr Met Gln Ile Val  
50 55 60

Ser Leu Gln Leu Asn  
65

<210> 26  
<211> 69  
<212> PRT  
<213> *Chlamydia trachomatis*

10

<400> 26

Asn Met Phe Thr Pro Tyr Ile Gly Val Lys Trp Ser Arg Ala Ser Phe

20





Ser Leu Gln Leu Asn  
65

5 <210> 29  
<211> 21  
<212> PRT  
<213> *Chlamydia trachomatis*

<400> 29  
10 Asp Asn Glu Asn Gln Lys Thr Val Lys Ala Glu Ser Val Pro Asn Met  
1 5 10 15

Ser Phe Asp Gln Ser  
20

15 <210> 30  
<211> 21  
<212> PRT  
<213> *Chlamydia trachomatis*

<400> 30  
1 Asp Asn Glu Asn Gln Ser Thr Val Lys Thr Asn Ser Val Pro Asn Met  
5 10 15

20 Ser Leu Asp Gln Ser  
20

25 <210> 31  
<211> 21  
<212> PRT  
<213> *Chlamydia trachomatis*

<400> 31  
1 Asp Gly Val Asn Ala Thr Lys Pro Ala Ala Asp Ser Ile Pro Asn Val  
5 10 15

Gln Leu Asn Gln Ser  
20

30 <210> 32  
<211> 21  
<212> PRT  
<213> *Chlamydia trachomatis*

35 <400> 32  
1 Asp Ser Glu Asn Ala Thr Gln Pro Ala Ala Thr Ser Ile Pro Asn Val  
5 10 15

Gln Leu Asn Gln Ser  
20

40 <210> 33  
<211> 22  
<212> PRT  
<213> *Chlamydia trachomatis*

<400> 33

Thr Lys Thr Gln Ser Ser Asn Phe Asn Thr Ala Lys Leu Ile Pro Asn  
 1 5 10 15

Ala Ala Leu Asn Gln Ala  
 20

5

<210> 34  
 <211> 22  
 <212> PRT  
 <213> *Chlamydia trachomatis*

10

<400> 34

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

Thr Ala Leu Asn Gln Ala  
 20

15

<210> 35  
 <211> 23  
 <212> PRT  
 <213> *Chlamydia trachomatis*

20

<400> 35

Thr Leu Gly Ala Thr Ser Gly Tyr Leu Lys Gly Asn Ser Ala Ser Phe  
 1 5 10 15

Asn Leu Val Gly Leu Phe Gly  
 20

25

<210> 36  
 <211> 22  
 <212> PRT  
 <213> *Chlamydia trachomatis*

30

<400> 36

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

Arg Ala Ala Leu Trp Glu  
 20

35

<210> 37  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> *Chlamydia trachomatis*

<400> 37

40

Lys Glu Phe Pro Leu Asp Leu Thr Ala Gly Thr Asp Ala Ala  
 1 5 10

<210> 38

ES 2 781 579 T3

<211> 14  
 <212> PRT  
 <213> *Chlamydia trachomatis*

5 <400> 38

Gln Glu Phe Pro Leu Ala Leu Ile Ala Gly Thr Asp Ala Ala  
 1 5 10

<210> 39  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> *Chlamydia trachomatis*

10

<400> 39

15

Lys Glu Phe Pro Leu Asp Leu Thr Ala Gly Thr Asp Ala Ala  
 1 5 10

<210> 40  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> *Chlamydia trachomatis*

20

<400> 40 40

Gln Glu Phe Pro Leu Ala Leu Thr Ala Gly Thr Asp Ala Ala  
 1 5 10

25

<210> 41  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> *Chlamydia trachomatis*

30

<400> 41

Ala Glu Phe Pro Leu Asp Ile Thr Ala Gly Thr Glu Ala Ala  
 1 5 10

35

<210> 42  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> *Chlamydia trachomatis*

40

<400> 42

Ala Glu Phe Pro Leu Asp Ile Thr Ala Gly Thr Glu Ala Ala  
 1 5 10

45

<210> 43  
 <211> 38  
 <212> PRT  
 <213> *Chlamydia trachomatis*

50

<400> 43

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

Glu Glu Leu Asn Val Leu Cys Asn Ala Ala Glu Phe Thr Ile Asn Lys  
 20 25 30

Pro Lys Gly Tyr Val Gly  
 35

5  
 <210> 44  
 <211> 35  
 <212> PRT  
 <213> *Chlamydia trachomatis*  
 <400> 44

Thr Gly Thr Lys Asp Ala Ser Ile Asp Tyr His Glu Trp Gln Ala Ser  
 1 5 10 15

Leu Ala Leu Ser Tyr Arg Leu Asn Met Phe Thr Pro Tyr Ile Gly Val  
 20 25 30

Lys Trp Ser  
 35

10  
 <210> 45  
 <211> 127  
 <212> PRT  
 <213> *Chlamydia trachomatis*  
 15  
 <400> 45

Ala Ile Ser Met Arg Val Gly Tyr Tyr Gly Asp Phe Val Phe Asp Arg  
 1 5 10 15

Val Leu Lys Thr Asp Val Asn Lys Glu Phe Gln Met Gly Ala Lys Pro  
 20 25 30

Thr Thr Asp Thr Gly Asn Ser Ala Ala Pro Ser Thr Leu Thr Ala Arg  
 35 40 45

Glu Asn Pro Ala Tyr Gly Arg His Met Gln Asp Asn Met Phe Thr Pro  
 50 55 60

Tyr Ile Gly Val Lys Trp Ser Arg Ala Ser Phe Asp Ala Asp Thr Ile  
 65 70 75 80

Arg Ile Ala Gln Pro Lys Ser Ala Thr Ala Ile Phe Asp Thr Thr Thr  
 85 90 95

Leu Asn Pro Thr Ile Ala Gly Ala Gly Asp Val Lys Thr Gly Ala Glu  
 100 105 110

Gly Gln Leu Gly Asp Thr Met Gln Ile Val Ser Leu Gln Leu Asn  
 115 120 125

20

ES 2 781 579 T3

<210> 46  
<211> 383  
<212> PRT  
<213> *Chlamydia trachomatis*

5

<400> 46

Ala Ile Ser Met Arg Val Gly Tyr Tyr Gly Asp Phe Val Phe Asp Arg  
1 5 10 15

ES 2 781 579 T3

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

ES 2 781 579 T3

Ala Ser Gly Asn Thr Thr Ser Thr Leu Ser Lys Leu Val Glu Arg Thr  
 290 295 300  
 Asn Pro Ala Tyr Gly Lys His Met Gln Asp Asn Met Phe Thr Pro Tyr  
 305 310 315  
 Ile Gly Val Lys Trp Ser Arg Ala Ser Phe Asp Ser Asp Thr Ile Arg  
 325 330  
 Ile Ala Gln Pro Arg Leu Val Thr Pro Val Val Asp Ile Thr Thr Leu  
 340 345  
 Asn Pro Thr Ile Ala Gly Ser Gly Ser Val Ala Gly Ala Asn Thr Glu  
 355 360 365  
 Gly Gln Ile Ser Asp Thr Met Gln Ile Val Ser Leu Gln Leu Asn  
 370 375 380

<210> 47  
 <211> 419  
 <212> PRT  
 <213> *Chlamydia trachomatis*  
 <400> 47

5

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

10





ES 2 781 579 T3

<210> 48  
 <211> 844  
 <212> PRT  
 <213> *Chlamydia trachomatis*

5

<400> 48

Ala Ile Ser Met Arg Val Gly Tyr Tyr Gly Asp Phe Val Phe Asp Arg  
 1 5 10 15

Val Leu Lys Thr Asp Val Asn Lys Glu Phe Gln Met Gly Ala Lys Pro  
 20 25 30

Thr Thr Asp Thr Gly Asn Ser Ala Ala Pro Ser Thr Leu Thr Ala Arg  
 35 40 45

Glu Asn Pro Ala Tyr Gly Arg His Met Gln Asp Glu Trp Gln Ala Ser  
 50 55 60

Leu Ala Leu Ser Tyr Arg Leu Asn Met Phe Thr Pro Tyr Ile Gly Val  
 65 70 75 80

Lys Trp Ser Arg Ala Ser Phe Asp Ala Asp Thr Ile Arg Ile Ala Gln  
 85 90 95

Pro Lys Ser Ala Thr Ala Ile Phe Asp Thr Thr Thr Leu Asn Pro Thr  
 100 105 110

Ile Ala Gly Ala Gly Asp Val Lys Thr Gly Ala Glu Gly Gln Leu Gly  
 115 120 125

Asp Thr Met Gln Ile Val Ser Leu Gln Leu Asn Ala Ile Ser Met Arg  
 130 135 140

Met Gly Tyr Tyr Gly Asp Phe Val Phe Asp Arg Val Leu Lys Thr Asp  
 145 150 155 160

Val Asn Lys Glu Phe Gln Met Gly Asp Lys Pro Thr Ser Thr Thr Gly  
 165 170 175

Asn Ala Thr Ala Pro Thr Thr Leu Thr Ala Arg Glu Asn Pro Ala Tyr  
 180 185 190

Gly Arg His Met Gln Asp Glu Trp Gln Ala Ser Leu Ala Leu Ser Tyr  
 195 200 205

Arg Leu Asn Met Phe Thr Pro Tyr Ile Gly Val Lys Trp Ser Arg Ala  
 210 215 220

Ser Phe Asp Ala Asp Thr Ile Arg Ile Ala Gln Pro Lys Ser Ala Thr  
 225 230 235 240

ES 2 781 579 T3

Ala Ile Phe Asp Thr Thr Thr Leu Asn Pro Thr Ile Ala Gly Ala Gly  
 245 250 255

Asp Val Lys Ala Ser Ala Glu Gly Gln Leu Gly Asp Thr Met Gln Ile  
 260 270

Val Ser Leu Gln Leu Asn Ala Ile Ser Met Arg Met Gly Tyr Tyr Gly  
 275 280 285

Asp Phe Val Phe Asp Arg Val Leu Lys Thr Asp Val Asn Lys Glu Phe  
 290 295 300

Glu Met Gly Glu Ala Leu Ala Gly Ala Ser Gly Asn Thr Thr Ser Thr  
 305 310 315 320

Leu Ser Lys Leu Val Glu Arg Thr Asn Pro Ala Tyr Gly Lys His Met  
 325 330 335

Gln Asp Glu Trp Gln Ala Ser Leu Ser Leu Ser Tyr Arg Leu Asn Met  
 340 345 350

Phe Thr Pro Tyr Ile Gly Val Lys Trp Ser Arg Ala Ser Phe Asp Ser  
 355 360 365

Asp Thr Ile Arg Ile Ala Gln Pro Arg Leu Val Thr Pro Val Val Asp  
 370 375 380

Ile Thr Thr Leu Asn Pro Thr Ile Ala Gly Ser Gly Ser Val Ala Gly  
 385 390 395 400

Ala Asn Thr Glu Gly Gln Ile Ser Asp Thr Met Gln Ile Val Ser Leu  
 405 410 415

Gln Leu Asn Ala Ile Ser Met Arg Met Gly Tyr Tyr Gly Asp Phe Val  
 420 425 430

Phe Asp Arg Val Leu Lys Thr Asp Val Asn Lys Glu Phe Glu Met Gly  
 435 440 445

Glu Ala Leu Ala Gly Ala Ser Gly Asn Thr Thr Ser Thr Leu Ser Lys  
 450 455 460

Leu Val Glu Arg Thr Asn Pro Ala Tyr Gly Lys His Met Gln Asp Glu  
 465 470 475 480

Trp Gln Ala Ser Leu Ser Leu Ser Tyr Arg Leu Asn Met Phe Thr Pro  
 485 490 495

Tyr Ile Gly Val Lys Trp Ser Arg Ala Ser Phe Asp Ser Asn Thr Ile  
 500 505 510

Arg Ile Ala Gln Pro Lys Leu Ala Lys Pro Val Val Asp Ile Thr Thr

ES 2 781 579 T3

	515					520						525			
Leu	Asn 530	Pro	Thr	Ile	Ala	Gly 535	Ser	Gly	Ser	Val	Val 540	Ala	Ala	Asn	Ser
Glu	Gly	Gln	Ile	Ser	Asp 550	Thr	Met	Gln	Ile	Val 555	Ser	Leu	Gln	Leu	Asn 560
Ala	Ile	Ser	Met	Arg 565	Met	Gly	Tyr	Tyr	Gly 570	Asp	Phe	Val	Phe	Asp 575	Arg
Val	Leu	Lys	Thr 580	Asp	Val	Asn	Lys	Glu 585	Phe	Gln	Met	Gly	Ala 590	Ala	Pro
Thr	Thr	Lys 595	Asp	Ile	Ala	Gly	Leu 600	Glu	Asn	Asp	Pro	Thr 605	Thr	Asn	Val
Ala	Arg 610	Pro	Asn	Pro	Ala	Tyr 615	Gly	Lys	His	Met	Gln 620	Asp	Glu	Trp	Gln
Ala	Ser	Leu	Ala	Leu	Ser 630	Tyr	Arg	Leu	Asn	Met 635	Phe	Thr	Pro	Tyr	Ile 640
Gly	Val	Lys	Trp	Ser 645	Arg	Val	Ser	Phe	Asp 650	Ala	Asp	Thr	Ile	Arg 655	Ile
Ala	Gln	Pro	Lys 660	Leu	Ala	Glu	Ala	Ile 665	Leu	Asp	Val	Thr	Thr 670	Leu	Asn
Pro	Thr	Ile 675	Ala	Gly	Lys	Gly	Thr 680	Val	Val	Ala	Ser	Gly 685	Ser	Asp	Asn
Asp	Leu 690	Ala	Asp	Thr	Met	Gln 695	Ile	Val	Ser	Leu	Gln 700	Leu	Asn	Ala	Ile
Ser	Met	Arg	Met	Gly	Tyr 710	Tyr	Gly	Asp	Phe	Val 715	Phe	Asp	Arg	Val	Leu 720
Lys	Thr	Asp	Val	Asn 725	Lys	Glu	Phe	Gln	Met 730	Gly	Ala	Ala	Pro	Thr 735	Thr
Ser	Asp	Val	Ala 740	Gly	Leu	Gln	Asn	Asp 745	Pro	Thr	Thr	Asn	Val 750	Ala	Arg
Pro	Asn	Pro 755	Ala	Tyr	Gly	Lys	His 760	Met	Gln	Asp	Glu	Trp 765	Gln	Ala	Ser
Leu	Ala 770	Leu	Ser	Tyr	Arg	Leu 775	Asn	Met	Phe	Thr	Pro 780	Tyr	Ile	Gly	Val
Lys	Trp	Ser	Arg	Val	Ser 790	Phe	Asp	Ala	Asp	Thr 795	Ile	Arg	Ile	Ala	Gln 800

ES 2 781 579 T3

Pro Lys Leu Ala Glu Ala Ile Leu Asp Val Thr Thr Leu Asn Pro Thr  
 805 810 815

Ile Ala Gly Lys Gly Thr Val Val Ala Ser Gly Ser Glu Asn Asp Leu  
 820 825 830

Ala Asp Thr Met Gln Ile Val Ser Leu Gln Leu Asn  
 835 840

<210> 49  
 <211> 205  
 <212> PRT  
 <213> *Chlamydia trachomatis*

<400> 49

Asn Met Phe Thr Pro Tyr Ile Gly Val Lys Trp Ser Arg Ala Ser Phe  
 1 5 10 15

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

Phe Asp Thr Thr Thr Leu Asn Pro Thr Ile Ala Gly Ala Gly Asp Val  
 35 40 45

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

Leu Gln Leu Asn Asn Met Phe Thr Pro Tyr Ile Gly Val Lys Trp Ser  
 65 70 75 80

Arg Ala Ser Phe Asp Ala Asp Thr Ile Arg Ile Ala Gln Pro Lys Ser  
 85 90 95

Ala Thr Ala Ile Phe Asp Thr Thr Thr Leu Asn Pro Thr Ile Ala Gly  
 100 105 110

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

Gln Ile Val Ser Leu Gln Leu Asn Asn Met Phe Thr Pro Tyr Ile Gly  
 130 135 140

Val Lys Trp Ser Arg Ala Ser Phe Asp Ser Asp Thr Ile Arg Ile Ala  
 145 150 155 160

Gln Pro Arg Leu Val Thr Pro Val Val Asp Ile Thr Thr Leu Asn Pro  
 165 170 175

Thr Ile Ala Gly Ser Gly Ser Val Ala Gly Ala Asn Thr Glu Gly Gln  
 180 185 190

Ile Ser Asp Thr Met Gln Ile Val Ser Leu Gln Leu Asn  
 195 200 205

5 <210> 50  
 <211> 68  
 <212> PRT  
 <213> *Chlamydia trachomatis*  
 <400> 50

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

10 <210> 51  
 <211> 69  
 <212> PRT  
 15 <213> *Chlamydia trachomatis*  
 <400> 51

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

20 <210> 52  
 <211> 69  
 <212> PRT  
 25 <213> *Chlamydia trachomatis*  
 <400> 52

ES 2 781 579 T3

Asn Met Phe Thr Pro Tyr Ile Gly Val Lys Trp Ser Arg Ala Ser Phe  
1 5 10 15

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

Val Asp Ile Thr Thr Leu Asn Pro Thr Ile Ala Gly Cys Gly Ser Val  
35 40 45

Ala Gly Ala Asn Thr Glu Gly Gln Ile Ser Asp Thr Met Gln Ile Val  
50 55 60

Ser Leu Gln Leu Asn  
65

5 <210> 53  
<211> 274  
<212> PRT  
<213> *Chlamydia trachomatis*

10 <400> 53

ES 2 781 579 T3

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

ES 2 781 579 T3

<210> 54  
 <211> 322  
 <212> PRT  
 <213> *Chlamydia trachomatis*

5

<400> 54

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



ES 2 781 579 T3

Glu Gly Gln Leu Gly Asp Thr Met Gln Ile Val Ser Leu Gln Leu Asn  
 145 150 155 160

Glu Trp Gln Ala Ser Leu Ser Leu Ser Tyr Arg Leu Asn Met Phe Thr  
 165 170 175

Pro Tyr Ile Gly Val Lys Trp Ser Arg Ala Ser Phe Asp Ser Asp Thr  
 180 185 190

Ile Arg Ile Ala Gln Pro Arg Leu Val Thr Pro Val Val Asp Ile Thr  
 195 200 205

Thr Leu Asn Pro Thr Ile Ala Gly Ser Gly Ser Val Ala Gly Ala Asn  
 210 215 220

Thr Glu Gly Gln Ile Ser Asp Thr Met Gln Ile Val Ser Leu Gln Leu  
 225 230 235 240

Asn Glu Trp Gln Ala Ser Leu Ser Leu Ser Tyr Arg Leu Asn Met Phe  
 245 250 255

Thr Pro Tyr Ile Gly Val Lys Trp Ser Arg Ala Ser Phe Asp Ser Asn  
 260 265 270

Thr Ile Arg Ile Ala Gln Pro Lys Leu Ala Lys Pro Val Val Asp Ile  
 275 280 285

Thr Thr Leu Asn Pro Thr Ile Ala Gly Ser Gly Ser Val Val Ala Ala  
 290 295 300

Asn Ser Glu Gly Gln Ile Ser Asp Thr Met Gln Ile Val Ser Leu Gln  
 305 310 315 320

Leu Asn

<210> 55  
 <211> 484  
 <212> PRT  
 <213> *Chlamydia trachomatis*

<400> 55

Glu Trp Gln Ala Ser Leu Ala Leu Ser Tyr Arg Leu Asn Met Phe Thr  
 1 5 10 15

Pro Tyr Ile Gly Val Lys Trp Ser Arg Ala Ser Phe Asp Ala Asp Thr  
 20 25 30

Ile Arg Ile Ala Gln Pro Lys Ser Ala Thr Ala Ile Phe Asp Thr Thr  
 35 40 45

Thr Leu Asn Pro Thr Ile Ala Gly Ala Gly Asp Val Lys Thr Gly Ala  
 50 55 60

5

10

ES 2 781 579 T3

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

ES 2 781 579 T3

Phe Thr Pro Tyr Ile Gly Val Lys Trp Ser Arg Val Ser Phe Asp Ala  
 340 345 350

Asp Thr Ile Arg Ile Ala Gln Pro Lys Leu Ala Glu Ala Ile Leu Asp  
 355 360 365

Val Thr Thr Leu Asn Pro Thr Ile Ala Gly Lys Gly Thr Val Val Ala  
 370 375 380

Ser Gly Ser Asp Asn Asp Leu Ala Asp Thr Met Gln Ile Val Ser Leu  
 385 390 395 400

Gln Leu Asn Glu Trp Gln Ala Ser Leu Ala Leu Ser Tyr Arg Leu Asn  
 405 410 415

Met Phe Thr Pro Tyr Ile Gly Val Lys Trp Ser Arg Val Ser Phe Asp  
 420 425 430

Ala Asp Thr Ile Arg Ile Ala Gln Pro Lys Leu Ala Glu Ala Ile Leu  
 435 440 445

Asp Val Thr Thr Leu Asn Pro Thr Ile Ala Gly Lys Gly Thr Val Val  
 450 455 460

Ala Ser Gly Ser Glu Asn Asp Leu Ala Asp Thr Met Gln Ile Val Ser  
 465 470 475 480

Leu Gln Leu Asn

<210> 56  
 <211> 276  
 <212> PRT  
 <213> *Chlamydia trachomatis*  
 <400> 56

5

Asn Met Phe Thr Pro Tyr Ile Gly Val Lys Trp Ser Arg Ala Ser Phe  
 1 5 10 15

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

Val Asp Ile Thr Thr Leu Asn Pro Thr Ile Ala Gly Ser Gly Ser Val  
 35 40 45

Ala Gly Ala Asn Thr Glu Gly Gln Ile Ser Asp Thr Met Gln Ile Val  
 50 55 60

Ser Leu Gln Leu Asn Asn Met Phe Thr Pro Tyr Ile Gly Val Lys Trp  
 65 70 75 80

Ser Arg Ala Ser Phe Asp Ser Asp Thr Ile Arg Ile Ala Gln Pro Arg

10

ES 2 781 579 T3

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

<210> 57  
 <211> 544  
 5 <212> PRT  
 <213> *Chlamydia trachomatis*  
 <400> 57

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

ES 2 781 579 T3

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

Leu Gln Leu Asn Asn Met Phe Thr Pro Tyr Ile Gly Val Lys Trp Ser  
 65 70 75 80

Arg Ala Ser Phe Asp Ala Asp Thr Ile Arg Ile Ala Gln Pro Lys Ser  
 85 90 95

Ala Thr Ala Ile Phe Asp Thr Thr Thr Leu Asn Pro Thr Ile Ala Gly  
 100 105 110

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

Gln Ile Val Ser Leu Gln Leu Asn Asn Met Phe Thr Pro Tyr Ile Gly  
 130 135 140

Val Lys Trp Ser Arg Ala Ser Phe Asp Ala Asp Thr Ile Arg Ile Ala  
 145 150 155 160

Gln Pro Lys Ser Ala Thr Ala Ile Phe Asp Thr Thr Thr Leu Asn Pro  
 165 170 175

Thr Ile Ala Gly Ala Gly Asp Val Lys Ala Ser Ala Glu Gly Gln Leu  
 180 185 190

Gly Asp Thr Met Gln Ile Val Ser Leu Gln Leu Asn Asn Met Phe Thr  
 195 200 205

Pro Tyr Ile Gly Val Lys Trp Ser Arg Ala Ser Phe Asp Ala Asp Thr  
 210 215 220

Ile Arg Ile Ala Gln Pro Lys Ser Ala Thr Ala Ile Phe Asp Thr Thr  
 225 230 235 240

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

Glu Gly Gln Leu Gly Asp Thr Met Gln Ile Val Ser Leu Gln Leu Asn  
 260 265 270

Asn Met Phe Thr Pro Tyr Ile Gly Val Lys Trp Ser Arg Ala Ser Phe  
 275 280 285

Asp Ala Asp Thr Ile Arg Ile Ala Gln Pro Lys Ser Ala Thr Ala Ile  
 290 295 300

Phe Asp Thr Thr Thr Leu Asn Pro Thr Ile Ala Gly Ala Gly Asp Val  
 305 310 315 320

ES 2 781 579 T3

Lys Ala Ser Ala Glu Gly Gln Leu Gly Asp Thr Met Gln Ile Val Ser  
 325 330 335

Leu Gln Leu Asn Asn Met Phe Thr Pro Tyr Ile Gly Val Lys Trp Ser  
 340 345 350

Arg Ala Ser Phe Asp Ala Asp Thr Ile Arg Ile Ala Gln Pro Lys Ser  
 355 360 365

Ala Thr Ala Ile Phe Asp Thr Thr Thr Leu Asn Pro Thr Ile Ala Gly  
 370 375 380

Ala Gly Asp Val Lys Ala Ser Ala Glu Gly Gln Leu Gly Asp Thr Met  
 385 390 400

Gln Ile Val Ser Leu Gln Leu Asn Asn Met Phe Thr Pro Tyr Ile Gly  
 405 410 415

Val Lys Trp Ser Arg Ala Ser Phe Asp Ala Asp Thr Ile Arg Ile Ala  
 420 425 430

Gln Pro Lys Ser Ala Thr Ala Ile Phe Asp Thr Thr Thr Leu Asn Pro  
 435 440 445

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

Gly Asp Thr Met Gln Ile Val Ser Leu Gln Leu Asn Asn Met Phe Thr  
 465 470 475 480

Pro Tyr Ile Gly Val Lys Trp Ser Arg Ala Ser Phe Asp Ala Asp Thr  
 485 490 495

Ile Arg Ile Ala Gln Pro Lys Ser Ala Thr Ala Ile Phe Asp Thr Thr  
 500 505 510

Thr Leu Asn Pro Thr Ile Ala Gly Ala Gly Asp Val Lys Ala Ser Ala  
 515 520 525

Glu Gly Gln Leu Gly Asp Thr Met Gln Ile Val Ser Leu Gln Leu Asn  
 530 535 540

<210> 58  
 <211> 272  
 <212> PRT  
 <213> *Chlamydia trachomatis*

5

<400> 58

ES 2 781 579 T3

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

- 5 <210> 59
- <211> 276
- <212> PRT
- <213> *Chlamydia trachomatis*

ES 2 781 579 T3

<400> 59

Asn Met Phe Thr Pro Tyr Ile Gly Val Lys Trp Ser Arg Ala Ser Phe  
 1 5 10 15

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

Val Asp Ile Thr Thr Leu Asn Pro Thr Ile Ala Gly Cys Gly Ser Val  
 35 40 45

Ala Gly Ala Asn Thr Glu Gly Gln Ile Ser Asp Thr Met Gln Ile Val  
 50 55 60

Ser Leu Gln Leu Asn Asn Met Phe Thr Pro Tyr Ile Gly Val Lys Trp  
 65 70 75 80

Ser Arg Ala Ser Phe Asp Ser Asp Thr Ile Arg Ile Ala Gln Pro Arg  
 85 90 95

Leu Val Thr Pro Val Val Asp Ile Thr Thr Leu Asn Pro Thr Ile Ala  
 100 105 110

Gly Cys Gly Ser Val Ala Gly Ala Asn Thr Glu Gly Gln Ile Ser Asp  
 115 120 125

Thr Met Gln Ile Val Ser Leu Gln Leu Asn Asn Met Phe Thr Pro Tyr  
 130 135 140

Ile Gly Val Lys Trp Ser Arg Ala Ser Phe Asp Ser Asp Thr Ile Arg  
 145 150 155 160

Ile Ala Gln Pro Arg Leu Val Thr Pro Val Val Asp Ile Thr Thr Leu  
 165 170 175

Asn Pro Thr Ile Ala Gly Cys Gly Ser Val Ala Gly Ala Asn Thr Glu  
 180 185 190

Gly Gln Ile Ser Asp Thr Met Gln Ile Val Ser Leu Gln Leu Asn Asn  
 195 200 205

Met Phe Thr Pro Tyr Ile Gly Val Lys Trp Ser Arg Ala Ser Phe Asp  
 210 215 220

Ser Asp Thr Ile Arg Ile Ala Gln Pro Arg Leu Val Thr Pro Val Val  
 225 230 235 240

Asp Ile Thr Thr Leu Asn Pro Thr Ile Ala Gly Cys Gly Ser Val Ala  
 245 250 255

Gly Ala Asn Thr Glu Gly Gln Ile Ser Asp Thr Met Gln Ile Val Ser  
 260 265 270

Leu Gln Leu Asn

5

275



ES 2 781 579 T3

<210> 60

<211> 785

<212> PRT

5 <213> *Chlamydia trachomatis*

<400> 60

Ser Arg Gln Asn Ala Glu Glu Asn Leu Lys Asn Phe Ala Lys Glu Leu  
1 5 10 15

Lys Leu Pro Asp Val Ala Phe Asp Gln Asn Asn Thr Cys Ile Leu Phe  
20 25 30

Val Asp Gly Glu Phe Ser Leu His Leu Thr Tyr Glu Glu His Ser Asp  
35 40 45

Arg Leu Tyr Val Tyr Ala Pro Leu Leu Asp Gly Leu Pro Asp Asn Pro  
50 55 60

Gln Arg Arg Leu Ala Leu Tyr Glu Lys Leu Leu Glu Gly Ser Met Leu  
65 70 75 80

Gly Gly Gln Met Ala Gly Gly Gly Val Gly Val Ala Thr Lys Glu Gln  
85 90 95

Leu Ile Leu Met His Cys Val Leu Asp Met Lys Tyr Ala Glu Thr Asn  
100 105 110

Leu Leu Lys Ala Phe Ala Gln Leu Phe Ile Glu Thr Val Val Lys Trp  
115 120 125

Arg Thr Val Cys Ser Asp Ile Ser Ala Gly Arg Glu Pro Thr Val Asp  
130 135 140

Thr Met Pro Gln Met Pro Gln Gly Gly Gly Gly Ile Gln Pro Pro  
145 150 155 160

Pro Ala Gly Ile Arg Ala Thr Val Lys Ala Ile Val Glu Ser Thr Pro  
165 170 175

Glu Ala Pro Glu Glu Ile Pro Pro Val Glu Gly Glu Glu Ser Thr Ala  
180 185 190

Thr Glu Asp Pro Asn Ser Asn Thr Glu Gly Ser Ser Ala Asn Thr Asn  
195 200 205

Leu Glu Gly Ser Gln Gly Asp Thr Ala Asp Thr Gly Thr Gly Asp Val  
210 215 220

Asn Asn Glu Ser Gln Asp Thr Ser Asp Thr Gly Asn Ala Glu Ser Glu  
225 230 235 240

ES 2 781 579 T3

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

ES 2 781 579 T3

Ala Glu Gly Gln Leu Gly Asp Thr Met Gln Ile Val Ser Leu Gln Leu  
515 520 525

Asn Ala Ile Ser Met Arg Met Gly Tyr Tyr Gly Asp Phe Val Phe Asp  
530 535 540

Arg Val Leu Lys Thr Asp Val Asn Lys Glu Phe Gln Met Gly Asp Lys  
545 550 555 560

Pro Thr Ser Thr Thr Gly Asn Ala Thr Ala Pro Thr Thr Leu Thr Ala  
565 570 575

Arg Glu Asn Pro Ala Tyr Gly Arg His Met Gln Asp Asn Met Phe Thr  
580 585 590

Pro Tyr Ile Gly Val Lys Trp Ser Arg Ala Ser Phe Asp Ala Asp Thr  
595 600 605

Ile Arg Ile Ala Gln Pro Lys Ser Ala Thr Ala Ile Phe Asp Thr Thr  
610 615 620

Thr Leu Asn Pro Thr Ile Ala Gly Ala Gly Asp Val Lys Ala Ser Ala  
625 630 635 640

Glu Gly Gln Leu Gly Asp Thr Met Gln Ile Val Ser Leu Gln Leu Asn  
645 650 655

Ala Ile Ser Met Arg Met Gly Tyr Tyr Gly Asp Phe Val Phe Asp Arg  
660 665 670

Val Leu Lys Thr Asp Val Asn Lys Glu Phe Glu Met Gly Glu Ala Leu  
675 680 685

Ala Gly Ala Ser Gly Asn Thr Thr Ser Thr Leu Ser Lys Leu Val Glu  
690 695 700

Arg Thr Asn Pro Ala Tyr Gly Lys His Met Gln Asp Asn Met Phe Thr  
705 710 715 720

Pro Tyr Ile Gly Val Lys Trp Ser Arg Ala Ser Phe Asp Ser Asp Thr  
725 730 735

Ile Arg Ile Ala Gln Pro Arg Leu Val Thr Pro Val Val Asp Ile Thr  
740 745 750

Thr Leu Asn Pro Thr Ile Ala Gly Ser Gly Ser Val Ala Gly Ala Asn  
755 760 765

Thr Glu Gly Gln Ile Ser Asp Thr Met Gln Ile Val Ser Leu Gln Leu  
770 775 780

Asn

785

ES 2 781 579 T3

<210> 61  
 <211> 740  
 <212> PRT  
 <213> *Chlamydia trachomatis*

5

<400> 61

Ser Arg Gln Asn Ala Glu Glu Asn Leu Lys Asn Phe Ala Lys Glu Leu  
 1 5 10 15

Lys Leu Pro Asp Val Ala Phe Asp Gln Asn Asn Thr Cys Ile Leu Phe  
 20 25 30

Val Asp Gly Glu Phe Ser Leu His Leu Thr Tyr Glu Glu His Ser Asp  
 35 40 45

Arg Leu Tyr Val Tyr Ala Pro Leu Leu Asp Gly Leu Pro Asp Asn Pro  
 50 55 60

Gln Arg Arg Leu Ala Leu Tyr Glu Lys Leu Leu Glu Gly Ser Met Leu  
 65 70 75 80

Gly Gly Gln Met Ala Gly Gly Gly Val Gly Val Ala Thr Lys Glu Gln  
 85 90 95

Leu Ile Leu Met His Cys Val Leu Asp Met Lys Tyr Ala Glu Thr Asn  
 100 105 110

Leu Leu Lys Ala Phe Ala Gln Leu Phe Ile Glu Thr Val Val Lys Trp  
 115 120 125

Arg Thr Val Cys Ser Asp Ile Ser Ala Gly Arg Glu Pro Thr Val Asp  
 130 135 140

Thr Met Pro Gln Met Pro Gln Gly Gly Gly Gly Gly Ile Gln Pro Pro  
 145 150 155 160

Pro Ala Gly Ile Arg Ala Thr Val Lys Ala Ile Val Glu Ser Thr Pro  
 165 170 175

Glu Ala Pro Glu Glu Ile Pro Pro Val Glu Gly Glu Glu Ser Thr Ala  
 180 185 190

Thr Glu Asp Pro Asn Ser Asn Thr Glu Gly Ser Ser Ala Asn Thr Asn  
 195 200 205

Leu Glu Gly Ser Gln Gly Asp Thr Ala Asp Thr Gly Thr Gly Asp Val  
 210 215 220

Asn Asn Glu Ser Gln Asp Thr Ser Asp Thr Gly Asn Ala Glu Ser Glu  
 225 230 235 240

10

ES 2 781 579 T3

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

ES 2 781 579 T3

Lys Thr Val<sub>515</sub> Lys Ala Glu Ser Val<sub>520</sub> Pro Asn Met Ser Phe Asp Gln Ser

Val<sub>530</sub> Val<sub>530</sub> Glu Leu Tyr Thr Asp<sub>535</sub> Thr Thr Phe Ala Trp<sub>540</sub> Ser Val<sub>540</sub> Gly Ala

Arg Ala Ala Leu Trp Glu<sub>550</sub> Ser Gly Ser Ala Thr<sub>555</sub> Leu Gly Ala Ser Phe<sub>560</sub>

Gln Tyr Ala Gln Ser<sub>565</sub> Lys Pro Lys Val<sub>570</sub> Glu Glu Leu Asn Val<sub>575</sub> Leu Ser

Asn Ala Ala Glu<sub>580</sub> Phe Thr Ile Asn Lys<sub>585</sub> Pro Lys Gly Tyr Val<sub>590</sub> Gly Lys

Glu Phe Pro<sub>595</sub> Leu Asp Leu Thr Ala<sub>600</sub> Gly Thr Asp Ala Ala<sub>605</sub> Thr Gly Thr

Lys Asp<sub>610</sub> Ala Ser Ile Asp Tyr<sub>615</sub> His Glu Trp Gln Ala<sub>620</sub> Ser Leu Ala Leu

Ser Tyr Arg Leu Asn Met<sub>630</sub> Phe Thr Pro Tyr<sub>635</sub> Ile Gly Val<sub>635</sub> Lys Trp Ser<sub>640</sub>

Arg Ala Ser Phe Asp<sub>645</sub> Ala Asp Thr Ile Arg<sub>650</sub> Ile Ala Gln Pro Lys<sub>655</sub> Ser

Ala Thr Ala Ile<sub>660</sub> Phe Asp Thr Thr Thr<sub>665</sub> Leu Asn Pro Thr Ile Ala Gly

Ala Gly Asp<sub>675</sub> Val Lys Thr Gly Ala<sub>680</sub> Glu Gly Gln Leu Gly<sub>685</sub> Asp Thr Met

Gln Ile Val<sub>690</sub> Ser Leu Gln Leu<sub>695</sub> Asn Lys Met Lys Ser<sub>700</sub> Arg Lys Ser Ser

Gly Ile Ala Val Gly Thr<sub>710</sub> Thr Ile Val Asp Ala<sub>715</sub> Asp Lys Tyr Ala Val<sub>720</sub>

Thr Val Glu Thr Arg<sub>725</sub> Leu Ile Asp Glu Arg<sub>730</sub> Ala Ala His Val<sub>735</sub> Asn Ala

Gln Phe Arg Phe<sub>740</sub>

- <210> 62
- <211> 294
- <212> PRT
- <213> *Chlamydia trachomatis*

<400> 62

5

10

Asp Ala Ile Ser Met Arg Val Gly Tyr Tyr Gly Asp Phe Val Phe Asp  
1 5 10 15

ES 2 781 579 T3

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

Val Ser Leu Gln Leu Asn  
290

5 <210> 63  
<211> 294  
<212> PRT  
<213> *Chlamydia trachomatis*  
  
<400> 63

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





ES 2 781 579 T3

Ala Glu Phe Thr Ile Asn Lys Pro Lys Gly Tyr Val Gly Lys Glu Phe  
180 185 190

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

Ala Ser Ile Asp Tyr His Glu Trp Gln Ala Ser Leu Ala Leu Ser Tyr  
210 215 220

Arg Leu Asn Met Phe Thr Pro Tyr Ile Gly Val Lys Trp Ser Arg Ala  
225 230 235 240

Ser Phe Asp Ala Asp Thr Ile Arg Ile Ala Gln Pro Lys Ser Ala Thr  
245 250 255

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

Asp Val Lys Thr Gly Ala Glu Gly Gln Leu Gly Asp Thr Met Gln Ile  
275 280 285

Val Ser Leu Gln Leu Asn Asn Met Phe Thr Pro Tyr Ile Gly Val Lys  
290 295 300

Trp Ser Arg Ala Ser Phe Asp Ala Asp Thr Ile Arg Ile Ala Gln Pro  
305 310 315 320

Lys Ser Ala Thr Ala Ile Phe Asp Thr Thr Thr Leu Asn Pro Thr Ile  
325 330 335

Ala Gly Ala Gly Asp Val Lys Ala Ser Ala Glu Gly Gln Leu Gly Asp  
340 345 350

Thr Met Gln Ile Val Ser Leu Gln Leu Asn Asn Met Phe Thr Pro Tyr  
355 360 365

Ile Gly Val Lys Trp Ser Arg Ala Ser Phe Asp Ser Asp Thr Ile Arg  
370 375 380

Ile Ala Gln Pro Arg Leu Val Thr Pro Val Val Asp Ile Thr Thr Leu  
385 390 395 400

Asn Pro Thr Ile Ala Gly Ser Gly Ser Val Ala Gly Ala Asn Thr Glu  
405 410 415

Gly Gln Ile Ser Asp Thr Met Gln Ile Val Ser Leu Gln Leu Asn Asn  
420 425 430

Met Phe Thr Pro Tyr Ile Gly Val Lys Trp Ser Arg Ala Ser Phe Asp  
435 440 445

ES 2 781 579 T3

Ser Asn Thr Ile Arg Ile Ala Gln Pro Lys Leu Ala Lys Pro Val Val  
 450 455 460

Asp Ile Thr Thr Leu Asn Pro Thr Ile Ala Gly Ser Gly Ser Val Val  
 465 470 475 480

Ala Ala Asn Ser Glu Gly Gln Ile Ser Asp Thr Met Gln Ile Val Ser  
 485 490 495

Leu Gln Leu Asn  
 500

<210> 65  
 <211> 1068  
 <212> PRT  
 <213> *Chlamydia trachomatis*

5

<400> 65

Thr Val Lys Ala Ile Val Glu Ser Thr Pro Glu Ala Pro Glu Glu Ile  
 1 5 10 15

Pro Pro Val Glu Gly Glu Glu Ser Thr Ala Thr Glu Asp Pro Asn Ser  
 20 25 30

Asn Thr Glu Gly Ser Ser Ala Asn Thr Asn Leu Glu Gly Ser Gln Gly  
 35 40 45

Asp Thr Ala Asp Thr Gly Thr Gly Asp Val Asn Asn Glu Ser Gln Asp  
 50 55 60

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

Thr Gln Ser Asn Glu Glu Asn Thr Leu Pro Asn Ser Asn Ile Asp Gln  
 85 90 95

Ser Asn Glu Asn Thr Asp Glu Ser Ser Asp Ser His Thr Glu Glu Ile  
 100 105 110

Thr Asp Glu Ser Val Ser Ser Ser Ser Glu Ser Gly Ser Ser Thr Pro  
 115 120 125

Gln Asp Gly Gly Ala Ala Ser Ser Gly Ala Pro Ser Gly Asp Gln Ser  
 130 135 140

Ile Ser Ala Asn Ala Cys Leu Ala Lys Ser Tyr Ala Ala Ser Thr Asp  
 145 150 155 160

Ser Ser Pro Val Ser Asn Ser Ser Gly Ser Glu Glu Pro Val Thr Ser  
 165 170 175

Ser Ser Asp Ser Asp Val Thr Ala Ser Ser Asp Asn Pro Asp Ser Ser  
 180 185 190

10

ES 2 781 579 T3

Ser Ser Gly Asp Ser Ala Gly Asp Ser Glu Glu Pro Thr Glu Pro Glu  
195 200 205

Ala Gly Ser Thr Thr Glu Thr Leu Thr Leu Ile Gly Gly Gly Ala Ile  
210 215 220

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

Ala Glu Glu Asn Leu Lys Asn Phe Ala Lys Glu Leu Lys Leu Pro Asp  
245 250 255

Val Ala Phe Asp Gln Asn Asn Thr Cys Ile Leu Phe Val Asp Gly Glu  
260 265 270

Phe Ser Leu His Leu Thr Tyr Glu Glu His Ser Asp Arg Leu Tyr Val  
275 280 285

Tyr Ala Pro Leu Leu Asp Gly Leu Pro Asp Asn Pro Gln Arg Arg Leu  
290 295 300

Ala Leu Tyr Glu Lys Leu Leu Glu Gly Ser Met Leu Gly Gly Gln Met  
305 310 315 320

Ala Gly Gly Gly Val Gly Val Ala Thr Lys Glu Gln Leu Ile Leu Met  
325 330 335

His Cys Val Leu Asp Met Lys Tyr Ala Glu Thr Asn Leu Leu Lys Ala  
340 345 350

Phe Ala Gln Leu Phe Ile Glu Thr Val Val Lys Trp Arg Thr Val Cys  
355 360 365

Ser Asp Ile Ser Ala Gly Arg Glu Pro Thr Val Asp Thr Met Pro Gln  
370 375 380

Met Pro Gln Gly Gly Gly Gly Gly Ile Gln Pro Pro Pro Ala Gly Ile  
385 390 395 400

Arg Ala Ser Arg Gln Asn Ala Glu Glu Asn Leu Lys Asn Phe Ala Lys  
405 410 415

Glu Leu Lys Leu Pro Asp Val Ala Phe Asp Gln Asn Asn Thr Cys Ile  
420 425 430

Leu Phe Val Asp Gly Glu Phe Ser Leu His Leu Thr Tyr Glu Glu His  
435 440 445

Ser Asp Arg Leu Tyr Val Tyr Ala Pro Leu Leu Asp Gly Leu Pro Asp  
450 455 460

ES 2 781 579 T3

Asn Pro Gln Arg Arg Leu Ala Leu Tyr Glu Lys Leu Leu Glu Gly Ser  
 465 470 475 480  
 Met Leu Gly Gly Gln Met Ala Gly Gly Gly Val Gly Val Ala Thr Lys  
 485 490 495  
 Glu Gln Leu Ile Leu Met His Cys Val Leu Asp Met Lys Tyr Ala Glu  
 500 505 510  
 Thr Asn Leu Leu Lys Ala Phe Ala Gln Leu Phe Ile Glu Thr Val Val  
 515 520 525  
 Lys Trp Arg Thr Val Cys Ser Asp Ile Ser Ala Gly Arg Glu Pro Thr  
 530 535 540  
 Val Asp Thr Met Pro Gln Met Pro Gln Gly Gly Gly Gly Gly Ile Gln  
 545 550 555  
 Pro Pro Pro Ala Gly Ile Arg Ala Asp Ala Ile Ser Met Arg Val Gly  
 565 570 575  
 Tyr Tyr Gly Asp Phe Val Phe Asp Arg Val Leu Lys Thr Asp Val Asn  
 580 585 590  
 Lys Glu Phe Gln Met Gly Ala Lys Pro Thr Thr Asp Thr Gly Asn Ser  
 595 600 605  
 Ala Ala Pro Ser Thr Leu Thr Ala Arg Glu Asn Pro Ala Tyr Gly Arg  
 610 615 620  
 His Met Gln Asp Ala Glu Met Phe Thr Asn Ala Ala Ser Met Ala Leu  
 625 630 635  
 Asn Ile Trp Asp Arg Phe Asp Val Phe Ser Thr Leu Gly Ala Thr Ser  
 645 650 655  
 Gly Tyr Leu Lys Gly Asn Ser Ala Ser Phe Asn Leu Val Gly Leu Phe  
 660 665 670  
 Gly Asp Asn Glu Asn Gln Lys Thr Val Lys Ala Glu Ser Val Pro Asn  
 675 680 685  
 Met Ser Phe Asp Gln Ser Val Val Glu Leu Tyr Thr Asp Thr Thr Phe  
 690 695 700  
 Ala Trp Ser Val Gly Ala Arg Ala Ala Leu Trp Glu Ser Gly Ser Ala  
 705 710 715 720  
 Thr Leu Gly Ala Ser Phe Gln Tyr Ala Gln Ser Lys Pro Lys Val Glu  
 725 730 735

ES 2 781 579 T3

Glu Leu Asn Val Leu Ser Asn Ala Ala Glu Phe Thr Ile Asn Lys Pro  
 740 745 750  
 Lys Gly Tyr Val Gly Lys Glu Phe Pro Leu Asp Leu Thr Ala Gly Thr  
 755 760 765  
 Asp Ala Ala Thr Gly Thr Lys Asp Ala Ser Ile Asp Tyr His Glu Trp  
 770 775 780  
 Gln Ala Ser Leu Ala Leu Ser Tyr Arg Leu Asn Met Phe Thr Pro Tyr  
 785 790 795 800  
 Ile Gly Val Lys Trp Ser Arg Ala Ser Phe Asp Ala Asp Thr Ile Arg  
 805 810 815  
 Ile Ala Gln Pro Lys Ser Ala Thr Ala Ile Phe Asp Thr Thr Thr Leu  
 820 825 830  
 Asn Pro Thr Ile Ala Gly Ala Gly Asp Val Lys Thr Gly Ala Glu Gly  
 835 840 845  
 Gln Leu Gly Asp Thr Met Gln Ile Val Ser Leu Gln Leu Asn Asn Met  
 850 855 860  
 Phe Thr Pro Tyr Ile Gly Val Lys Trp Ser Arg Ala Ser Phe Asp Ala  
 865 870 875 880  
 Asp Thr Ile Arg Ile Ala Gln Pro Lys Ser Ala Thr Ala Ile Phe Asp  
 885 890 895  
 Thr Thr Thr Leu Asn Pro Thr Ile Ala Gly Ala Gly Asp Val Lys Ala  
 900 905 910  
 Ser Ala Glu Gly Gln Leu Gly Asp Thr Met Gln Ile Val Ser Leu Gln  
 915 920 925  
 Leu Asn Asn Met Phe Thr Pro Tyr Ile Gly Val Lys Trp Ser Arg Ala  
 930 935 940  
 Ser Phe Asp Ser Asp Thr Ile Arg Ile Ala Gln Pro Arg Leu Val Thr  
 945 950 955 960  
 Pro Val Val Asp Ile Thr Thr Leu Asn Pro Thr Ile Ala Gly Ser Gly  
 965 970 975  
 Ser Val Ala Gly Ala Asn Thr Glu Gly Gln Ile Ser Asp Thr Met Gln  
 980 985 990  
 Ile Val Ser Leu Gln Leu Asn Asn Met Phe Thr Pro Tyr Ile Gly Val  
 995 1000 1005  
 Lys Trp Ser Arg Ala Ser Phe Asp Ser Asn Thr Ile Arg Ile Ala

ES 2 781 579 T3

1010 1015 1020  
 Gln Pro Lys Leu Ala Lys Pro Val Val Asp Ile Thr Thr Leu Asn  
 1025 1030 1035  
 Pro Thr Ile Ala Gly Ser Gly Ser Val Val Ala Ala Asn Ser Glu  
 1040 1045 1050  
 Gly Gln Ile Ser Asp Thr Met Gln Ile Val Ser Leu Gln Leu Asn  
 1055 1060 1065

5  
 <210> 66  
 <211> 606  
 <212> PRT  
 <213> *Chlamydia trachomatis*  
 <400> 66

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

10

ES 2 781 579 T3

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



ES 2 781 579 T3

Leu Gln Leu Asn Asn Met Phe Thr Pro Tyr Ile Gly Val Lys Trp Ser  
465 470 475 480

Arg Ala Ser Phe Asp Ser Asp Thr Ile Arg Ile Ala Gln Pro Arg Leu  
485 490 495

Val Thr Pro Val Val Asp Ile Thr Thr Leu Asn Pro Thr Ile Ala Gly  
500 505 510

Ser Gly Ser Val Ala Gly Ala Asn Thr Glu Gly Gln Ile Ser Asp Thr  
515 520 525

Met Gln Ile Val Ser Leu Gln Leu Asn Asn Met Phe Thr Pro Tyr Ile  
530 535 540

Gly Val Lys Trp Ser Arg Ala Ser Phe Asp Ser Asn Thr Ile Arg Ile  
545 550 555 560

Ala Gln Pro Lys Leu Ala Lys Pro Val Val Asp Ile Thr Thr Leu Asn  
565 570 575

Pro Thr Ile Ala Gly Ser Gly Ser Val Val Ala Ala Asn Ser Glu Gly  
580 585 590

Gln Ile Ser Asp Thr Met Gln Ile Val Ser Leu Gln Leu Asn  
595 600 605

<210> 67

<211> 1093

5 <212> PRT

<213> *Chlamydia trachomatis*

<400> 67

Ser Arg Gln Asn Ala Glu Glu Asn Leu Lys Asn Phe Ala Lys Glu Leu  
1 5 10 15

Lys Leu Pro Asp Val Ala Phe Asp Gln Asn Asn Thr Cys Ile Leu Phe  
20 25 30

Val Asp Gly Glu Phe Ser Leu His Leu Thr Tyr Glu Glu His Ser Asp  
35 40 45

Arg Leu Tyr Val Tyr Ala Pro Leu Leu Asp Gly Leu Pro Asp Asn Pro  
50 55 60

Gln Arg Arg Leu Ala Leu Tyr Glu Lys Leu Leu Glu Gly Ser Met Leu  
65 70 75 80

Gly Gly Gln Met Ala Gly Gly Gly Val Gly Val Ala Thr Lys Glu Gln  
85 90 95

Leu Ile Leu Met His Cys Val Leu Asp Met Lys Tyr Ala Glu Thr Asn  
100 105 110

10

ES 2 781 579 T3

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

ES 2 781 579 T3

Pro Val Leu Asn Lys Asp Ala Val Arg Lys Ala Val Leu Phe Gly Cys  
 385 390 395 400  
 Ala Val Glu Gly Asp Val Ala Leu Phe Ser Arg Phe Asp Arg Lys Ser  
 405 410 415  
 Tyr Phe Tyr Pro Asp Ser Pro Arg Asn Phe Gln Ile Thr Gln Tyr Glu  
 420 425 430  
 His Pro Ile Val Arg Gly Gly Cys Ile Arg Ala Val Val Glu Gly Glu  
 435 440 445  
 Glu Lys Thr Phe Glu Leu Ala Gln Thr His Leu Glu Asp Asp Ala Gly  
 450 455 460  
 Met Leu Lys His Phe Gly Asp Phe Ala Gly Val Asp Tyr Asn Arg Ala  
 465 470 475 480  
 Gly Val Pro Leu Ile Glu Ile Val Ser Lys Pro Cys Met Phe Ser Ala  
 485 490 495  
 Glu Asp Ala Val Ala Tyr Ala Asn Ala Leu Val Ser Ile Leu Gly Tyr  
 500 505 510  
 Ile Gly Ile Ser Asp Cys Asn Met Glu Glu Gly Ser Ile Arg Phe Asp  
 515 520 525  
 Val Asn Ile Ser Val Arg Pro Arg Gly Ser Arg Glu Leu Arg Asn Lys  
 530 535 540  
 Val Glu Ile Lys Asn Met Asn Ser Phe Thr Phe Met Ala Gln Ala Leu  
 545 550 555 560  
 Glu Ala Glu Lys Arg Arg Gln Ile Glu Glu Tyr Leu Ser Tyr Pro Asn  
 565 570 575  
 Glu Asp Pro Lys Lys Val Val Pro Ala Ala Thr Tyr Arg Trp Asp Pro  
 580 585 590  
 Glu Lys Lys Lys Thr Val Leu Met Arg Leu Lys Glu Arg Ala Glu Asp  
 595 600 605  
 Tyr Met Tyr Phe Val Glu Pro Asp Leu Pro Val Leu Gln Ile Thr Glu  
 610 615 620  
 Thr Tyr Ile Asp Glu Val Arg Gln Thr Leu Pro Glu Leu Pro His Ser  
 625 630 635 640  
 Lys Tyr Met Arg Tyr Ile Thr Asp Phe Asp Ile Ala Glu Asp Leu Ala  
 645 650 655

ES 2 781 579 T3

Met Ile Leu Val Gly Asp Arg His Thr Ala His Phe Phe Glu Thr Ala  
660 665 670

Thr Met Ser Cys Lys Asn Tyr Arg Ala Leu Ser Asn Trp Ile Thr Val  
675 680 685

Glu Phe Ala Gly Arg Cys Lys Ala Arg Gly Lys Thr Leu Pro Phe Thr  
690 695 700

Gly Ile Leu Pro Glu Trp Val Ala Gln Leu Val Asn Phe Ile Asp Arg  
705 710 715 720

Gly Val Ile Thr Gly Lys Ile Ala Lys Glu Ile Ala Asp Arg Met Val  
725 730 735

Ser Ser Phe Gly Glu Ser Pro Glu Asp Ile Leu Arg Arg His Pro Ser  
740 745 750

Leu Leu Pro Met Thr Asp Asp His Ala Leu Arg Ala Ile Val Lys Glu  
755 760 765

Val Val Ala Gln Asn Thr Ala Ser Val Ala Asp Tyr Lys Asn Gly Lys  
770 775 780

Ala Lys Ala Leu Gly Phe Leu Val Gly Gln Ile Met Lys Arg Thr Glu  
785 790 795 800

Gly Lys Ala Pro Pro Lys Arg Val Asn Glu Leu Leu Leu Ala Ala Met  
805 810 815

Arg Asp Met Asn Met Phe Thr Pro Tyr Ile Gly Val Lys Trp Ser Arg  
820 825 830

Ala Ser Phe Asp Ala Asp Thr Ile Arg Ile Ala Gln Pro Lys Ser Ala  
835 840 845

Thr Ala Ile Phe Asp Thr Thr Thr Leu Asn Pro Thr Ile Ala Gly Ala  
850 855 860

Gly Asp Val Lys Thr Gly Ala Glu Gly Gln Leu Gly Asp Thr Met Gln  
865 870 875 880

Ile Val Ser Leu Gln Leu Asn Asn Met Phe Thr Pro Tyr Ile Gly Val  
885 890 895

Lys Trp Ser Arg Ala Ser Phe Asp Ala Asp Thr Ile Arg Ile Ala Gln  
900 905 910

Pro Lys Ser Ala Thr Ala Ile Phe Asp Thr Thr Thr Leu Asn Pro Thr  
915 920 925

Ile Ala Gly Ala Gly Asp Val Lys Ala Ser Ala Glu Gly Gln Leu Gly

ES 2 781 579 T3

930 935 940

Asp Thr Met Gln Ile Val Ser Leu Gln Leu Asn Asn Met Phe Thr Pro  
945 950 955 960

Tyr Ile Gly Val Lys Trp Ser Arg Ala Ser Phe Asp Ser Asp Thr Ile  
965 970 975

Arg Ile Ala Gln Pro Arg Leu Val Thr Pro Val Val Asp Ile Thr Thr  
980 985 990

Leu Asn Pro Thr Ile Ala Gly Ser Gly Ser Val Ala Gly Ala Asn Thr  
995 1000 1005

Glu Gly Gln Ile Ser Asp Thr Met Gln Ile Val Ser Leu Gln Leu  
1010 1015 1020

Asn Asn Met Phe Thr Pro Tyr Ile Gly Val Lys Trp Ser Arg Ala  
1025 1030 1035

Ser Phe Asp Ser Asn Thr Ile Arg Ile Ala Gln Pro Lys Leu Ala  
1040 1045 1050

Lys Pro Val Val Asp Ile Thr Thr Leu Asn Pro Thr Ile Ala Gly  
1055 1060 1065

Ser Gly Ser Val Val Ala Ala Asn Ser Glu Gly Gln Ile Ser Asp  
1070 1075 1080

Thr Met Gln Ile Val Ser Leu Gln Leu Asn  
1085 1090

<210> 68  
<211> 393  
5 <212> PRT  
<213> *Chlamydia trachomatis*  
<400> 68

Met Lys Lys Leu Leu Lys Ser Val Leu Val Phe Ala Ala Leu Ser Ser  
1 5 10 15

Ala Ser Ser Leu Gln Ala Leu Pro Val Gly Asn Pro Ala Glu Pro Ser  
20 25 30

Leu Met Ile Asp Gly Ile Leu Trp Glu Gly Phe Gly Gly Asp Pro Cys  
35 40 45

Asp Pro Cys Ala Thr Trp Cys Asp Ala Ile Ser Met Arg Val Gly Tyr  
50 55 60

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

10

ES 2 781 579 T3

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

ES 2 781 579 T3

Ser Arg Lys Ser Cys Gly Ile Ala Val Gly Thr Thr Ile Val Asp Ala  
 355 360 365

Asp Lys Tyr Ala Val Thr Val Glu Thr Arg Leu Ile Asp Glu Arg Ala  
 370 375 380

Ala His Val Asn Ala Gln Phe Arg Phe  
 385 390

<210> 69  
 <211> 122  
 <212> PRT  
 <213> *Chlamydia trachomatis*  
 <400> 69

5

Ser Ala Thr Ala Ile Phe Asp Thr Thr Thr Leu Asn Pro Thr Ile Ala  
 1 5 10 15

Gly Ala Gly Asp Val Lys Thr Gly Ala Glu Gly Gln Leu Gly Ser Ala  
 20 25 30

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

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

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

Val Ala Gly Ala Asn Thr Glu Gly Gln Ile Ser Leu Ala Lys Pro Val  
 85 90 95

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

Val Ala Ala Asn Ser Glu Gly Gln Ile Ser  
 115 120

10

<210> 70  
 <211> 178  
 <212> PRT  
 <213> *Chlamydia trachomatis*  
 <400> 70

15

Ile Arg Ile Ala Gln Pro Lys Ser Ala Thr Ala Ile Phe Asp Thr Thr  
 1 5 10 15

Thr Leu Asn Pro Thr Ile Ala Gly Ala Gly Asp Val Lys Thr Gly Ala  
 20 25 30

Glu Gly Gln Leu Gly Asp Thr Met Gln Ile Val Ser Ile Arg Ile Ala  
 35 40 45

ES 2 781 579 T3

Gln Pro Lys Ser Ala Thr Ala Ile Phe Asp Thr Thr Thr Leu Asn Pro  
 50 55 60

Thr Ile Ala Gly Ala Gly Asp Val Lys Ala Ser Ala Glu Gly Gln Leu  
 65 70 75 80

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

Val Thr Pro Val Val Asp Ile Thr Thr Leu Asn Pro Thr Ile Ala Gly  
 100 105 110

ser Gly Ser Val Ala Gly Ala Asn Thr Glu Gly Gln Ile Ser Asp Thr  
 115 120 125

Met Gln Ile Val Ser Ile Arg Ile Ala Gln Pro Lys Leu Ala Lys Pro  
 130 135 140

Val Val Asp Ile Thr Thr Leu Asn Pro Thr Ile Ala Gly Ser Gly Ser  
 145 150 155 160

Val Val Ala Ala Asn Ser Glu Gly Gln Ile Ser Asp Thr Met Gln Ile  
 165 170 175

Val Ser

<210> 71  
 <211> 393  
 <212> PRT  
 <213> *Chlamydia trachomatis*

<400> 71

5

10

Met Lys Lys Leu Leu Lys Ser Val Leu Val Phe Ala Ala Leu Ser Ser  
 1 5 10 15

Ala Ser Ser Leu Gln Ala Leu Pro Val Gly Asn Pro Ala Glu Pro Ser  
 20 25 30

Leu Met Ile Asp Gly Ile Leu Trp Glu Gly Phe Gly Gly Asp Pro Cys  
 35 40 45

Asp Pro Cys Thr Thr Trp Cys Asp Ala Ile Ser Met Arg Met Gly Tyr  
 50 55 60

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

Glu Phe Gln Met Gly Asp Lys Pro Thr Ser Thr Thr Gly Asn Ala Thr  
 85 90 95

Ala Pro Thr Thr Leu Thr Ala Arg Glu Asn Pro Ala Tyr Gly Arg His



ES 2 781 579 T3

			100						105						110			
Met	Gln	Asp	Ala	Glu	Met	Phe	Thr	Asn	Ala	Ala	Cys	Met	Ala	Leu	Asn			
		115					120					125						
Ile	Trp	Asp	Arg	Phe	Asp	Val	Phe	Cys	Thr	Leu	Gly	Ala	Ser	Ser	Gly			
	130					135					140							
Tyr	Leu	Lys	Gly	Asn	Ser	Ala	Ser	Phe	Asn	Leu	Val	Gly	Leu	Phe	Gly			
145					150					155					160			
Asp	Asn	Glu	Asn	Gln	Ser	Thr	Val	Lys	Thr	Asn	Ser	Val	Pro	Asn	Met			
				165					170					175				
Ser	Leu	Asp	Gln	Ser	Val	Val	Glu	Leu	Tyr	Thr	Asp	Thr	Ala	Phe	Ser			
			180					185					190					
Trp	Ser	Val	Gly	Ala	Arg	Ala	Ala	Leu	Trp	Glu	Cys	Gly	Cys	Ala	Thr			
		195					200					205						
Leu	Gly	Ala	Ser	Phe	Gln	Tyr	Ala	Gln	Ser	Lys	Pro	Lys	Val	Glu	Glu			
	210					215					220							
Leu	Asn	Val	Leu	Cys	Asn	Ala	Ala	Glu	Phe	Thr	Ile	Asn	Lys	Pro	Lys			
225					230					235					240			
Gly	Tyr	Val	Gly	Gln	Glu	Phe	Pro	Leu	Ala	Leu	Ile	Ala	Gly	Thr	Asp			
				245					250					255				
Ala	Ala	Thr	Gly	Thr	Lys	Asp	Ala	Ser	Ile	Asp	Tyr	His	Glu	Trp	Gln			
			260					265					270					
Ala	Ser	Leu	Ala	Leu	Ser	Tyr	Arg	Leu	Asn	Met	Phe	Thr	Pro	Tyr	Ile			
		275					280					285						
Gly	Val	Lys	Trp	Ser	Arg	Ala	Ser	Phe	Asp	Ala	Asp	Thr	Ile	Arg	Ile			
	290					295					300							
Ala	Gln	Pro	Lys	Ser	Ala	Thr	Ala	Ile	Phe	Asp	Thr	Thr	Thr	Leu	Asn			
305					310					315								
Pro	Thr	Ile	Ala	Gly	Ala	Gly	Asp	Val	Lys	Ala	Ser	Ala	Glu	Gly	Gln			
				325					330					335				
Leu	Gly	Asp	Thr	Met	Gln	Ile	Val	Ser	Leu	Gln	Leu	Asn	Lys	Met	Lys			
			340					345					350					
Ser	Arg	Lys	Ser	Cys	Gly	Ile	Ala	Val	Gly	Thr	Thr	Ile	Val	Asp	Ala			
		355					360					365						
Asp	Lys	Tyr	Ala	Val	Thr	Val	Glu	Thr	Arg	Leu	Ile	Asp	Glu	Arg	Ala			
	370					375					380							

ES 2 781 579 T3

Ala His Val Asn Ala Gln Phe Arg Phe  
385 390

5 <210> 72  
<211> 395  
<212> PRT  
<213> *Chlamydia trachomatis*  
  
<400> 72

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

10

ES 2 781 579 T3

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

<210> 73  
 <211> 393  
 <212> PRT  
 <213> *Chlamydia trachomatis*  
 <400> 73

5

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

10

ES 2 781 579 T3

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

ES 2 781 579 T3

Met Lys Ser Arg Lys Ser Cys Gly Ile Ala Val Gly Thr Thr Ile Val  
 355 360 365

Asp Ala Asp Lys Tyr Ala Val Thr Val Glu Thr Arg Leu Ile Asp Glu  
 370 375 380

Arg Ala Ala His Val Asn Ala Gln Phe  
 385 390

<210> 74

<211> 389

5 <212> PRT

<213> *Chlamydia trachomatis*

<400> 74

Met Lys Lys Leu Leu Lys Ser Val Leu Val Phe Ala Ala Leu Ser Ser  
 1 5 10 15

Ala Ser Ser Leu Gln Ala Leu Pro Val Gly Asn Pro Ala Glu Pro Ser  
 20 25 30

Leu Met Ile Asp Gly Ile Leu Trp Glu Gly Phe Gly Gly Asp Pro Cys  
 35 40 45

Asp Pro Cys Thr Thr Trp Cys Asp Ala Ile Ser Met Arg Met Gly Tyr  
 50 55 60

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

Glu Phe Gln Met Gly Ala Ala Pro Thr Thr Lys Asp Ile Ala Gly Leu  
 85 90 95

Glu Asn Asp Pro Thr Thr Asn Val Ala Arg Pro Asn Pro Ala Tyr Gly  
 100 105 110

Lys His Met Gln Asp Ala Glu Met Phe Thr Asn Ala Ala Tyr Met Ala  
 115 120 125

Leu Asn Ile Trp Asp Arg Phe Asp Val Phe Cys Thr Leu Gly Ala Thr  
 130 135 140

Thr Gly Tyr Leu Lys Gly Asn Ser Ala Ser Phe Asn Leu Val Gly Leu  
 145 150 155 160

Phe Gly Thr Lys Thr Gln Ser Ser Asn Phe Asn Thr Ala Lys Leu Ile  
 165 170 175

Pro Asn Ala Ala Leu Asn Gln Ala Val Val Glu Leu Tyr Thr Asp Thr  
 180 185 190

Thr Phe Ala Trp Ser Val Gly Ala Arg Ala Ala Leu Trp Glu Cys Gly

10



ES 2 781 579 T3

Asp Pro Cys Thr Thr Trp Cys Asp Ala Ile Ser Met Arg Met Gly Tyr  
 50 55 60

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

Glu Phe Gln Met Gly Ala Ala Pro Thr Thr Ser Asp Val Ala Gly Leu  
 85 90 95

Gln Asn Asp Pro Thr Thr Asn Val Ala Arg Pro Asn Pro Ala Tyr Gly  
 100 105 110

Lys His Met Gln Asp Ala Glu Met Phe Thr Asn Ala Ala Tyr Met Ala  
 115 120 125

Leu Asn Ile Trp Asp Arg Phe Asp Val Phe Cys Thr Leu Gly Ala Thr  
 130 135 140

Thr Gly Tyr Leu Lys Gly Asn Ser Ala Ser Phe Asn Leu Val Gly Leu  
 145 150 155 160

Phe Gly Thr Lys Thr Gln Ala Ser Ser Phe Asn Thr Ala Asn Leu Phe  
 165 170 175

Pro Asn Thr Ala Leu Asn Gln Ala Val Val Glu Leu Tyr Thr Asp Thr  
 180 185 190

Thr Phe Ala Trp Ser Val Gly Ala Arg Ala Ala Leu Trp Glu Cys Gly  
 195 200 205

Cys Ala Thr Leu Gly Ala Ser Phe Gln Tyr Ala Gln Ser Lys Pro Lys  
 210 215 220

Val Glu Glu Leu Asn Val Leu Cys Asn Ala Ser Glu Phe Thr Ile Asn  
 225 230 235 240

Lys Pro Lys Gly Tyr Val Gly Ala Glu Phe Pro Leu Asp Ile Thr Ala  
 245 250 255

Gly Thr Glu Ala Ala Thr Gly Thr Lys Asp Ala Ser Ile Asp Tyr His  
 260 265 270

Glu Trp Gln Ala Ser Leu Ala Leu Ser Tyr Arg Leu Asn Met Phe Thr  
 275 280 285

Pro Tyr Ile Gly Val Lys Trp Ser Arg Val Ser Phe Asp Ala Asp Thr  
 290 295 300

Ile Arg Ile Ala Gln Pro Lys Leu Ala Glu Ala Ile Leu Asp Val Thr  
 305 310 315 320

ES 2 781 579 T3

Thr Leu Asn Pro Thr Ile Ala Gly Lys Gly Thr Val Val Ala Ser Gly  
325 330 335

Ser Glu Asn Asp Leu Ala Asp Thr Met Gln Ile Val Ser Leu Gln Leu  
340 345 350

Asn Lys Met Lys Ser Arg Lys Ser Cys Gly Ile Ala Val Gly Thr Thr  
355 360 365

Ile Val Asp Ala Asp Lys Tyr Ala Val Thr Val Glu Thr Arg Leu Ile  
370 375 380

Asp Glu Arg Ala Ala His Val Asn Ala Gln Phe Arg Phe  
385 390 395



## REIVINDICACIONES

1. Un polipéptido, para su uso como producto farmacéutico, que comprende:

- 5 a) una secuencia de aminoácidos, que comprende uno o más fragmentos expuestos en la superficie de la misma proteína de membrana externa expresada en un serotipo de *Chlamydia sp.*; y  
 b) dos o más secuencias de aminoácidos adicionales que son, ya sea la misma secuencia que se define en a) o que son los fragmentos expuestos en la superficie correspondientes a una variante de dicha proteína de membrana externa expresada en un serotipo de *Chlamydia sp.*, que es diferente del serotipo en a);

10 en donde la proteína de membrana externa es MOMP de cualquier serotipo y en donde el polipéptido comprende uno o más de los dominios variables 1, 2, 3, 4 de MOMP.

15 2. El polipéptido para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende 3 o más secuencias de aminoácidos diferentes, en donde dichas secuencias de aminoácidos comprenden cada una uno o más fragmentos expuestos en la superficie de diferentes variantes del mismo MOMP, que varía en diferentes serotipos de *Chlamydia sp.*, derivando dichas secuencias de aminoácidos de diferentes serotipos de *Chlamydia sp.*

20 3. El polipéptido para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende 3 o más repeticiones de una secuencia de aminoácidos, en donde dicha secuencia de aminoácidos comprende uno o más fragmentos expuestos en la superficie del mismo MOMP, que varía en diferentes serotipos de *Chlamydia sp.*, derivando dichas secuencias de aminoácidos del mismo serotipo de *Chlamydia sp.*

25 4. El polipéptido para el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la proteína de membrana externa es MOMP de los serotipos D, E, F, G, la o J de *Chlamydia trachomatis*.

5. El polipéptido para el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que las secuencias de aminoácidos están linealizadas.

30 6. El polipéptido para el uso de acuerdo con las reivindicaciones 4 o 5, en el que las secuencias de aminoácidos que comprenden los dominios variables 4 (VD4) de MOMP están situadas una al lado de la otra o están separadas con un enlazador.

35 7. El polipéptido para el uso de acuerdo con la reivindicación 6, que comprende una secuencia de aminoácidos definida en la fórmula I:

$xx_1$ -VD4- $xx_2$  (Fórmula I),

en donde

40 VD4 se selecciona independientemente entre las SEQ ID NO. 15-20 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencia de al menos el 80 % con las mismas

y

$xx_1$  consiste en

- 45 i) La secuencia de aminoácidos  
 EWQASLALSRYRLNMFPTYIGVKWSRASFDADTIRIAQPK (SEQ ID NO 21), o  
 ii) Una subsecuencia de la secuencia de aminoácidos en i), comprendiendo dicha subsecuencia 1-38 restos de aminoácidos, comenzando con el K C-terminal en la secuencia de aminoácidos en i)  
 50 y

$xx_2$  consiste en

- 55 iii) La secuencia de aminoácidos DTMQIVSLQLNKMKSRSKSCGIAVGTTIVDA (SEQ ID NO 22) o  
 iv) Una subsecuencia de la secuencia de aminoácidos en iii), comprendiendo dicha subsecuencia 1-29 restos de aminoácidos, comenzando con el D N-terminal en la secuencia de aminoácidos en iii).

60 8. El polipéptido para el uso de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, que comprende adicionalmente un fragmento que comprende los dominios variables 1 (VD1) de MOMP, y en donde las secuencias de aminoácidos que comprenden VD1 de MOMP están situadas una al lado de la otra o están separadas con un enlazador.

9. El polipéptido para el uso de acuerdo con la reivindicación 8, que comprende una secuencia de aminoácidos definida en la fórmula II:

65  $yy_1$ -VD1- $yy_2$  (Fórmula II),

en donde

VD1 se selecciona independientemente entre las SEQ ID NO. 1-6 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencia de al menos el 80 % con las mismas

5 y  
yy<sub>1</sub> consiste en

v) La secuencia de aminoácidos

DAISMRVGYGDFVFDRLKTDVNKEFQMG (SEQ ID NO 7), o

10 vi) Una subsecuencia de la secuencia de aminoácidos en v), comprendiendo dicha subsecuencia 1-30 restos de aminoácidos, comenzando con el G C-terminal en la secuencia de aminoácidos en v)

15 y  
yy<sub>2</sub> consiste en

vii) La secuencia de aminoácidos NPAYGRHMQDAEMFTNAA (SEQ ID NO 8), o

viii) Una subsecuencia de la secuencia de aminoácidos en vii) comprendiendo dicha subsecuencia 1-18 restos de aminoácidos, comenzando con el N N-terminal en la secuencia de aminoácidos en vii).

20 10. El polipéptido para el uso de acuerdo con las reivindicaciones 6-11, en el que dichas secuencias se eligen entre las SEQ ID NO. 9-14, 23-28, 45-59 o 69-70.

25 11. El polipéptido para el uso de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, que comprende adicionalmente un fragmento que comprende los dominios variables 2 (VD2) de MOMP, y en donde las secuencias de aminoácidos que comprenden VD2 de MOMP están situadas una al lado de la otra o están separadas con un enlazador.

12. El polipéptido para el uso de acuerdo con la reivindicación 11, que comprende una secuencia de aminoácidos definida en la fórmula III:

30 zz<sub>1</sub>-VD2-zz<sub>2</sub> (Fórmula III),

en donde

35 VD2 se selecciona independientemente entre las SEQ ID NO. 29-34 o una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencia de al menos el 80 % con las mismas, y  
zz<sub>1</sub> consiste en

ix) La secuencia de aminoácidos TLGATSGYLKGNASFNLVGLFG (SEQ ID NO 35) o

40 x) Una subsecuencia de la secuencia de aminoácidos en ix), comprendiendo dicha subsecuencia 1-23 restos de aminoácidos, comenzando con el G C-terminal en la secuencia de aminoácidos en ix)

y  
zz<sub>2</sub> consiste en

45 xi) La secuencia de aminoácidos VVELYDTTFFAWSVGARAALWE (SEQ ID NO 36) o

xii) Una subsecuencia de la secuencia de aminoácidos en xi), comprendiendo dicha subsecuencia 1-22 restos de aminoácidos, comenzando con el V N-terminal en la secuencia de aminoácidos en xi).

50 13. El polipéptido para el uso de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, que comprende adicionalmente un fragmento que comprende los dominios variables 3 (VD3) de MOMP, y en donde las secuencias de aminoácidos que comprenden VD3 de MOMP están situadas una al lado de la otra o están separadas con un enlazador.

14. El polipéptido para el uso de acuerdo con la reivindicación 13, que comprende una secuencia de aminoácidos definida en la fórmula IV:

55 qq<sub>1</sub>-VD3-qq<sub>2</sub> (Fórmula IV),

en donde

60 VD3 se selecciona independientemente entre las SEQ ID NO. 37-42 o una secuencia de aminoácidos, que tiene una identidad de secuencia de al menos el 80 % con las mismas,

y  
qq<sub>1</sub> consiste en

65 xiii) La secuencia de aminoácidos

ATLGASFQYAQSKPKVEELNVLCAAEFTINKPKGYVG (SEQ ID NO 43), o

xiv) Una subsecuencia de la secuencia de aminoácidos en xiii), comprendiendo dicha subsecuencia 1-22 restos de aminoácidos, comenzando con el G C-terminal en la secuencia de aminoácidos en xiii)

5 y  
qq<sub>2</sub> consiste en

xv) La secuencia de aminoácidos TGTKDASIDYHEWQASLALSRYRLNMFTPYIGVKWS (SEQ ID NO 44), o  
xvi) Una subsecuencia de la secuencia de aminoácidos en xv), comprendiendo dicha subsecuencia 1-35 restos de aminoácidos, comenzando con el T N-terminal en la secuencia de aminoácidos en xv).

10 15. El polipéptido para el uso de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, que comprende adicionalmente un resto que facilita la exportación del polipéptido, cuando se produce de forma recombinante (por ejemplo, péptidos señal), un resto que facilita la purificación de la proteína de fusión (por ejemplo, marcadores his) y/o un resto que potencia la inmunogenicidad (por ejemplo, un antígeno de linfocito T), en donde el potenciador de la  
15 inmunogenicidad es una diana adicional de linfocitos T, que se elige entre un antígeno de Ct tal como CT043, CT004, CT414, CT681 o parte de los mismos.

20 16. El polipéptido para el uso de acuerdo con la reivindicación 15, en el que dichas secuencias se eligen entre las SEQ ID NO 60-68.

17. El polipéptido como se define en una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, para el uso del tratamiento o la profilaxis contra infecciones por *Chlamydia sp.*, incluyendo infecciones con *Chlamydia trachomatis* o *C. pneumoniae*.

25 18. Una composición farmacéutica, que comprende un polipéptido como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1-16 o un ácido nucleico que codifica dicho polipéptido, que comprende adicionalmente un adyuvante o un inmunomodulador.

30 19. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 18, en la que el adyuvante es DDA/TDB o alumbre.

20. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 18, en la que el vehículo es una partícula similar a un virus.

35 21. La composición farmacéutica de acuerdo con las reivindicaciones 18-20, para su uso profiláctico o terapéutico contra infecciones por *Chlamydia sp.*, incluyendo infecciones con *Chlamydia trachomatis* o *C. pneumoniae*.

Figura 1

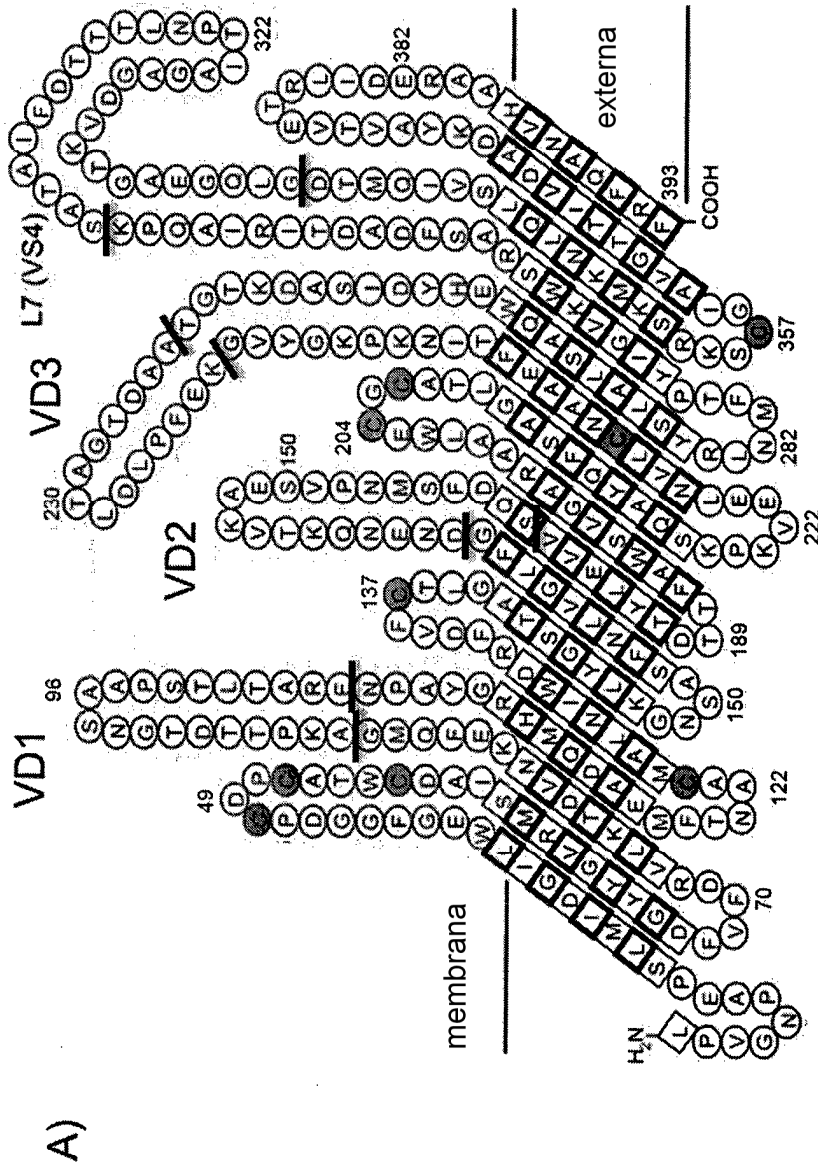
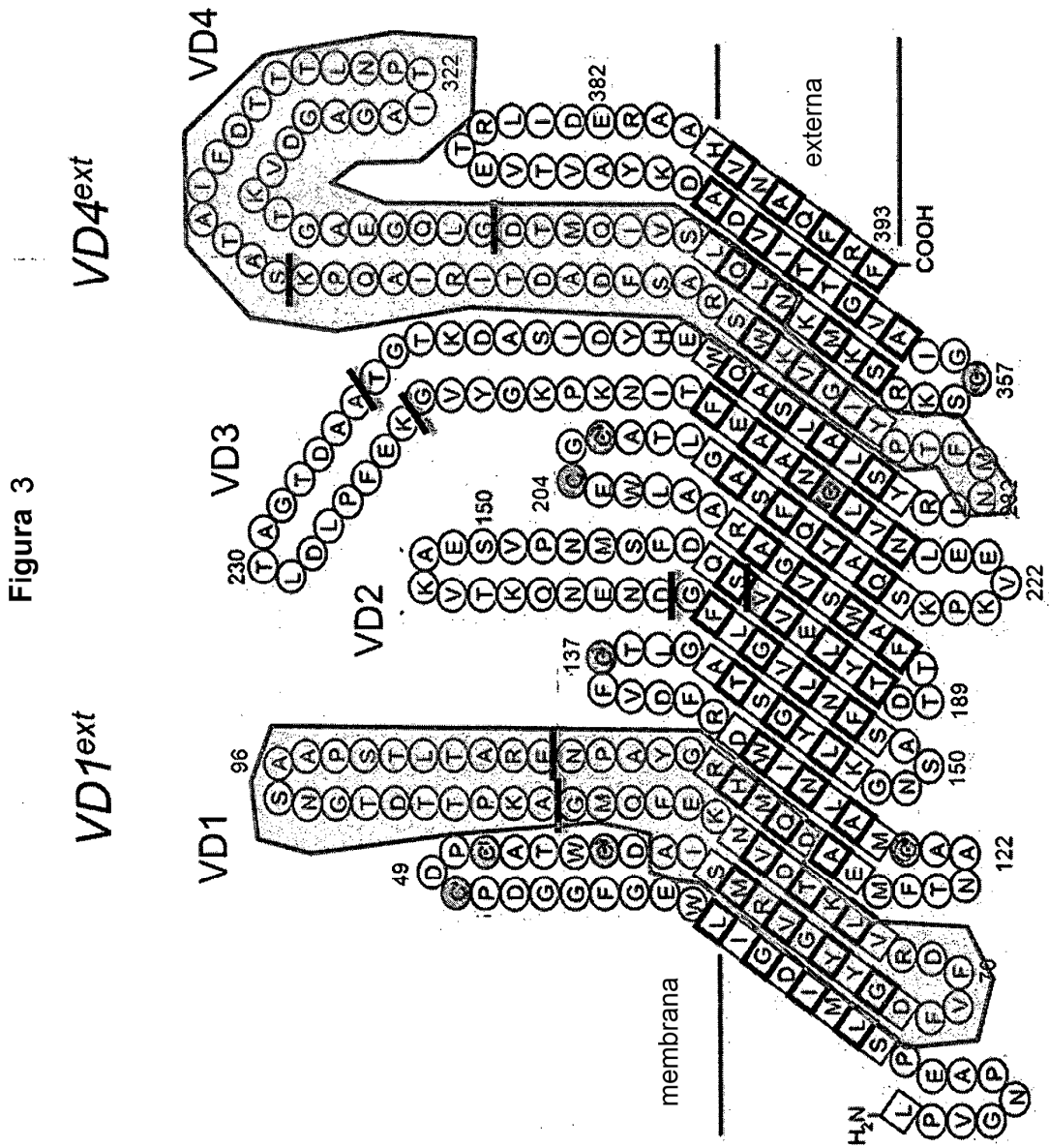


Figura 2

Dominio variable (VD4)

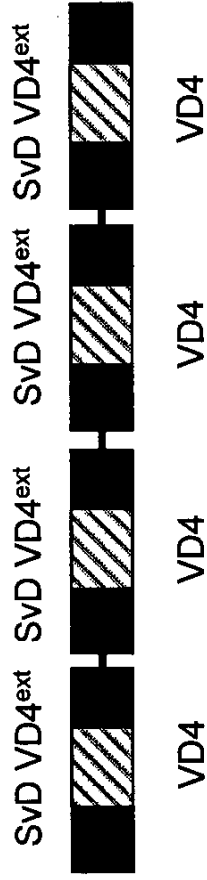
SvD	VD4 <sup>ext</sup>	NMFTFPYIGVKWSRASFDADTIRIAQPKSATAIFDITTLNPTIAGAGDVK-TGAEGQLGDTMQIVSLQLN
SvE	VD4 <sup>ext</sup>	.....-AS.....
SvF	VD4 <sup>ext</sup>	.....RLV.PVV.I.....C.S.AGANT...IS.....
SvG	VD4 <sup>ext</sup>	.....S.....SN.....I.KPVV.I.....C.S.VAANS...IS.....
SvI	VD4 <sup>ext</sup>	.....V.....L.E..L.V.....K.T.VSS-..NE.A.....
SvJ	VD4 <sup>ext</sup>	.....V.....L.E..L.V.....K.T.VAS.S.ND.A.....

Epítipo conservado



**Figura 4**

**Inmuno-repeticiones homólogas**



**Inmuno-repeticiones heterólogas**

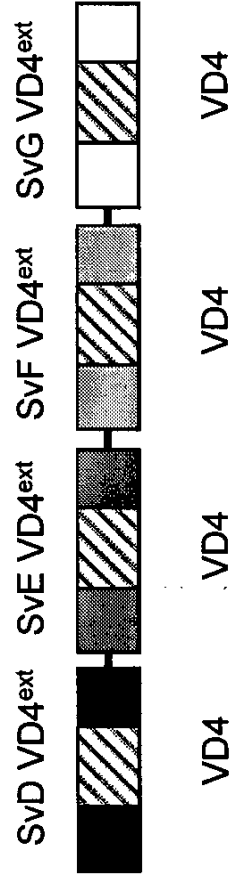


Figura 5

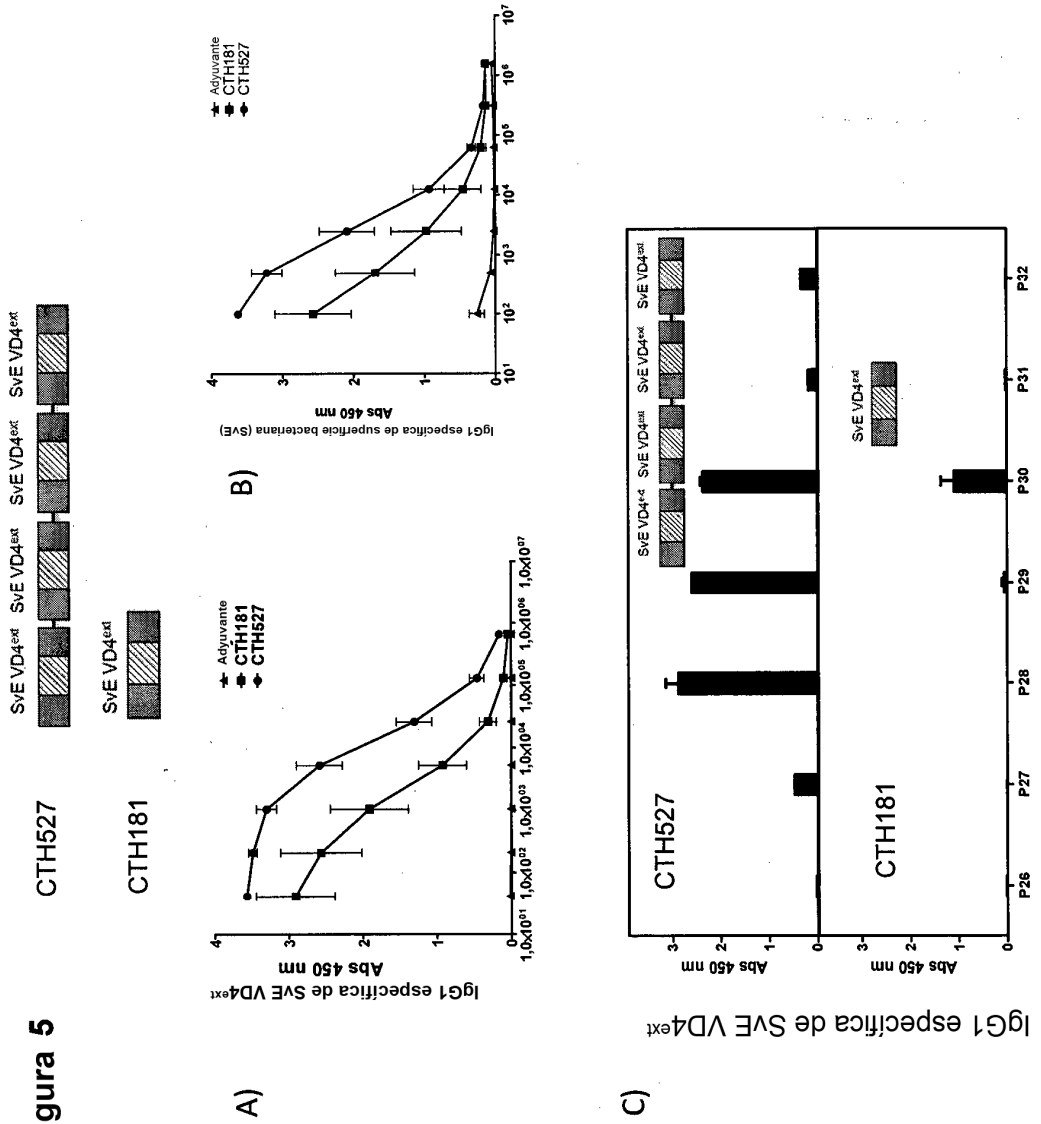




Figura 6

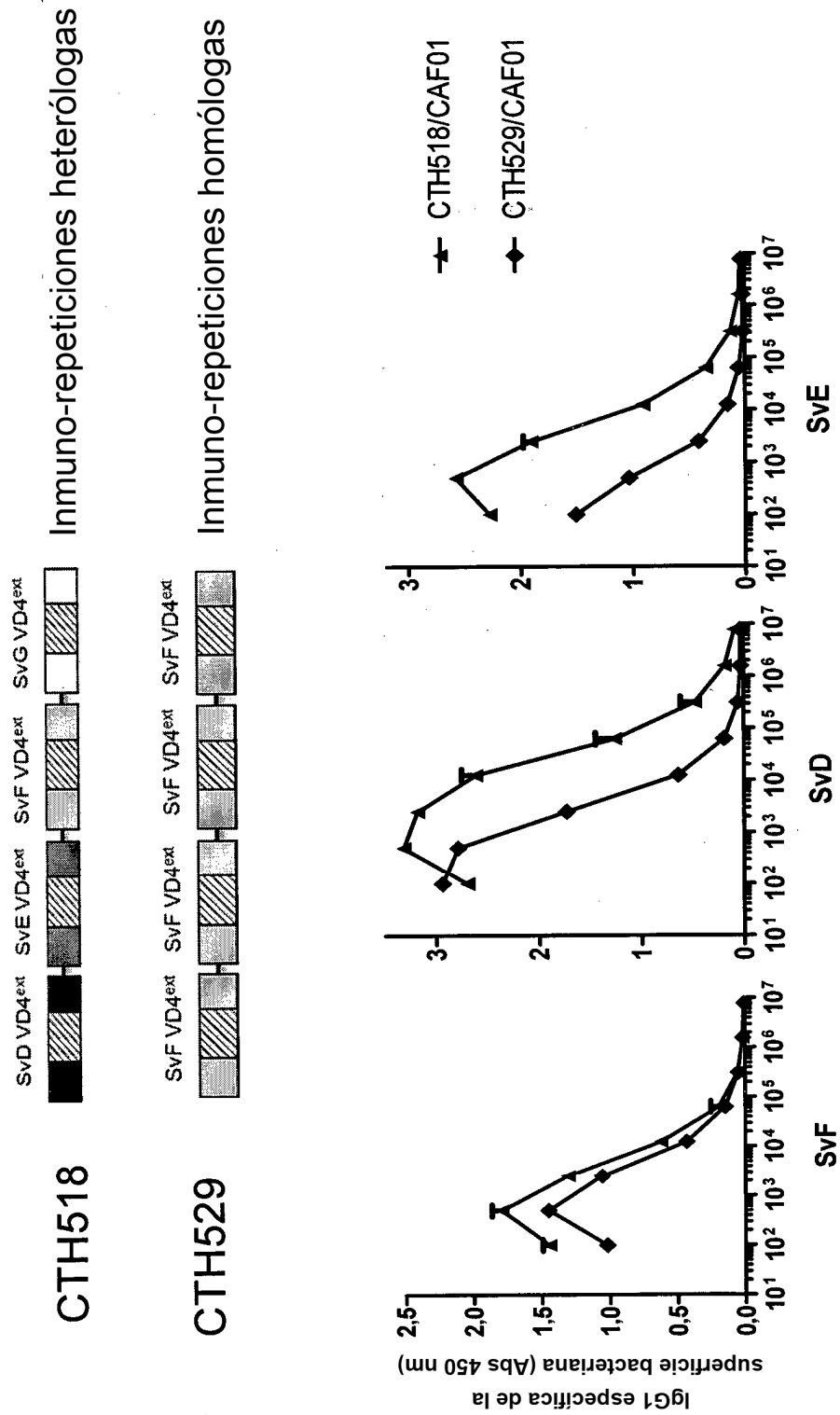
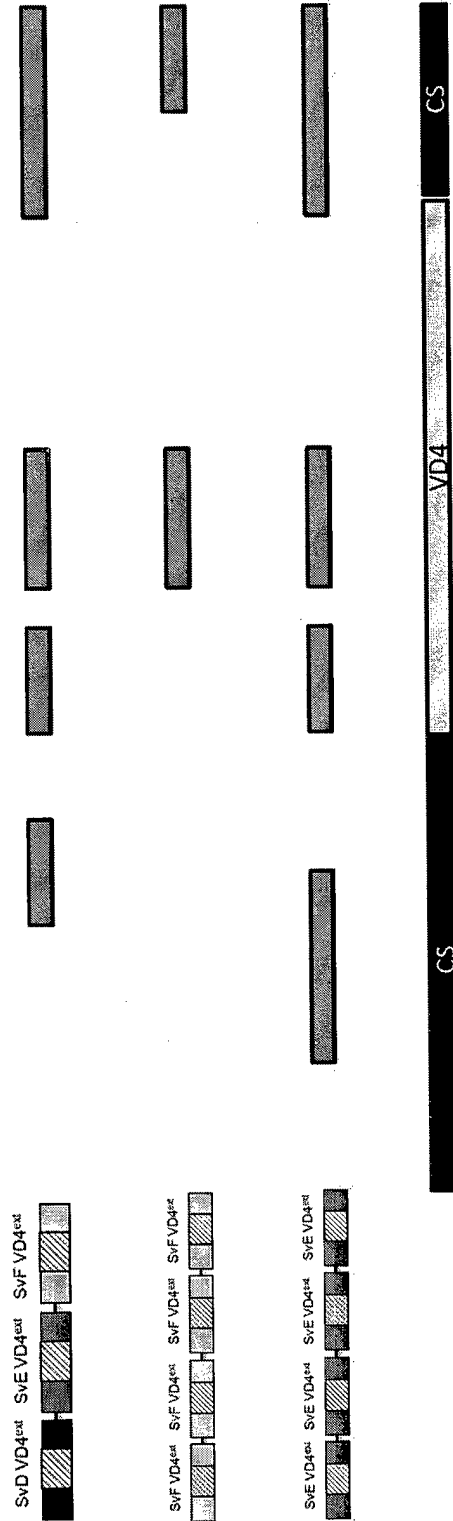


Figura 7 A)

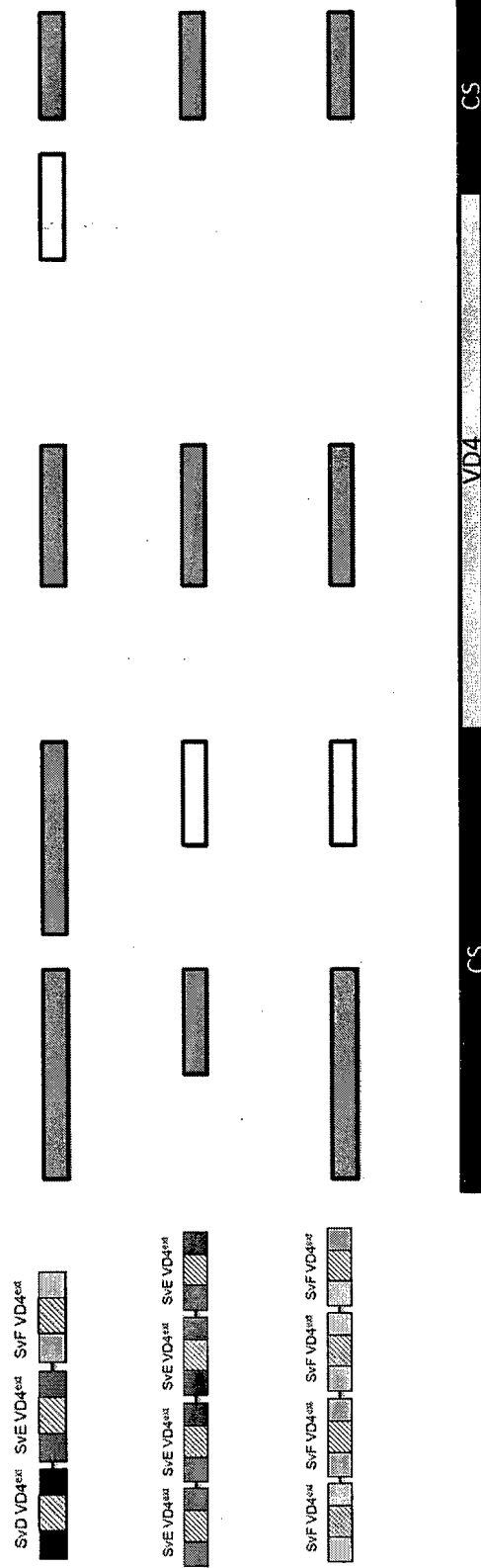
Inmunógeno:



VD4<sup>ext</sup> del Serovar E NMFTPYIGVKWSRASFDADTIRIAQPKSATAIFDFTTINFTIAGAGDVK-ASAEGQLGDTMQIVSLQIN  
 VD4<sup>ext</sup> del Serovar F .....S.....S.....RLV.FVV.I.....S.S.AGANT.....IS.....

Figura 7 B)

Inmunógeno:



Reconocimiento de péptidos de VD4<sup>ext</sup> del Serovar F

VD4<sup>ext</sup> del Serovar E NMF<sup>T</sup>PYIGVKWSRAS<sup>E</sup>EDADTIRIAQPKSATAI<sup>F</sup>FD<sup>T</sup>TLNPTIAGAGDVK-ASAEGQLGDTMQIVSLQLN  
 VD4<sup>ext</sup> del Serovar F .....S.....RLV.PVV.I.....S.S.AGANT.....IS.....

Figura 7 C)

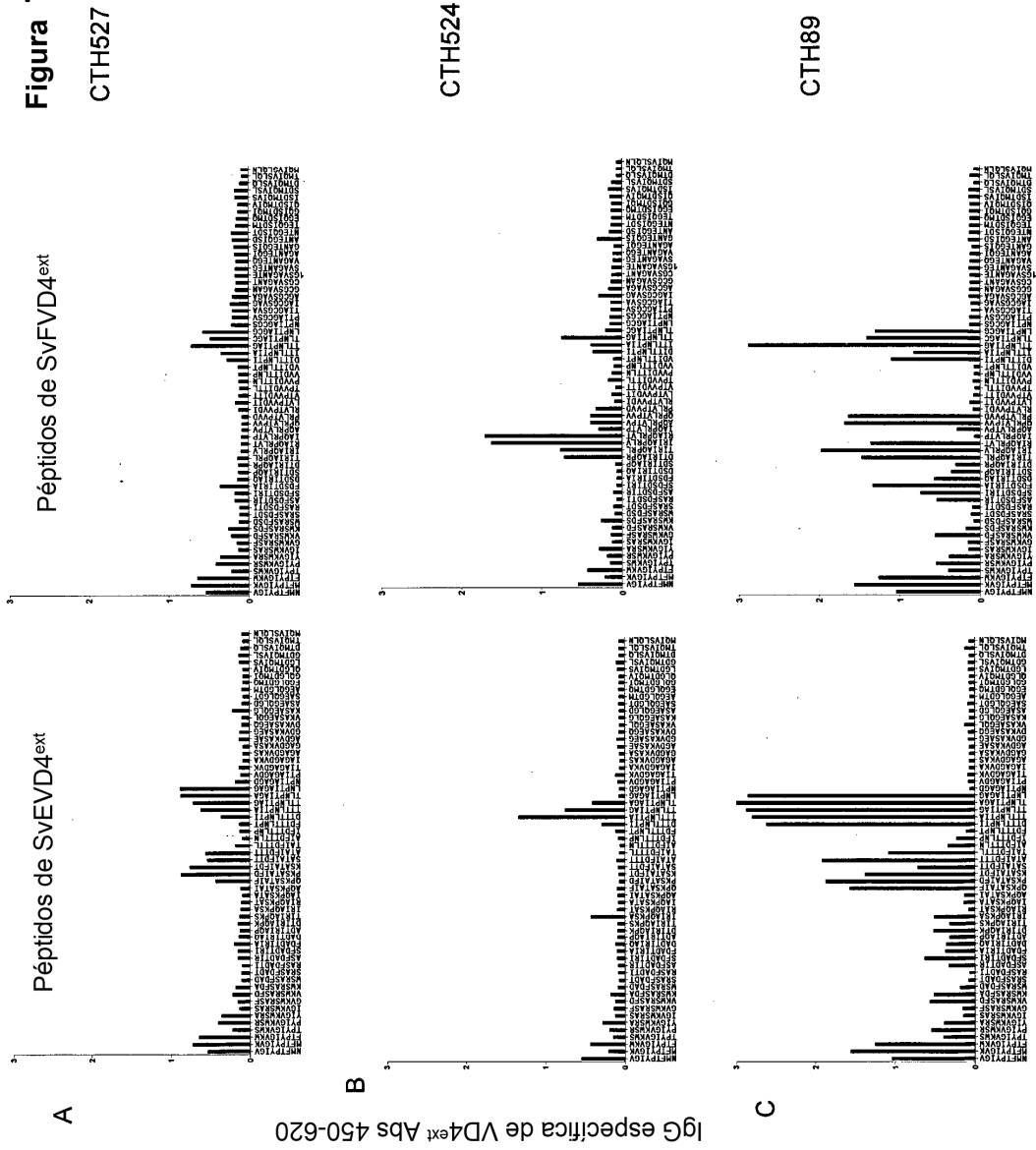


Figura 7D

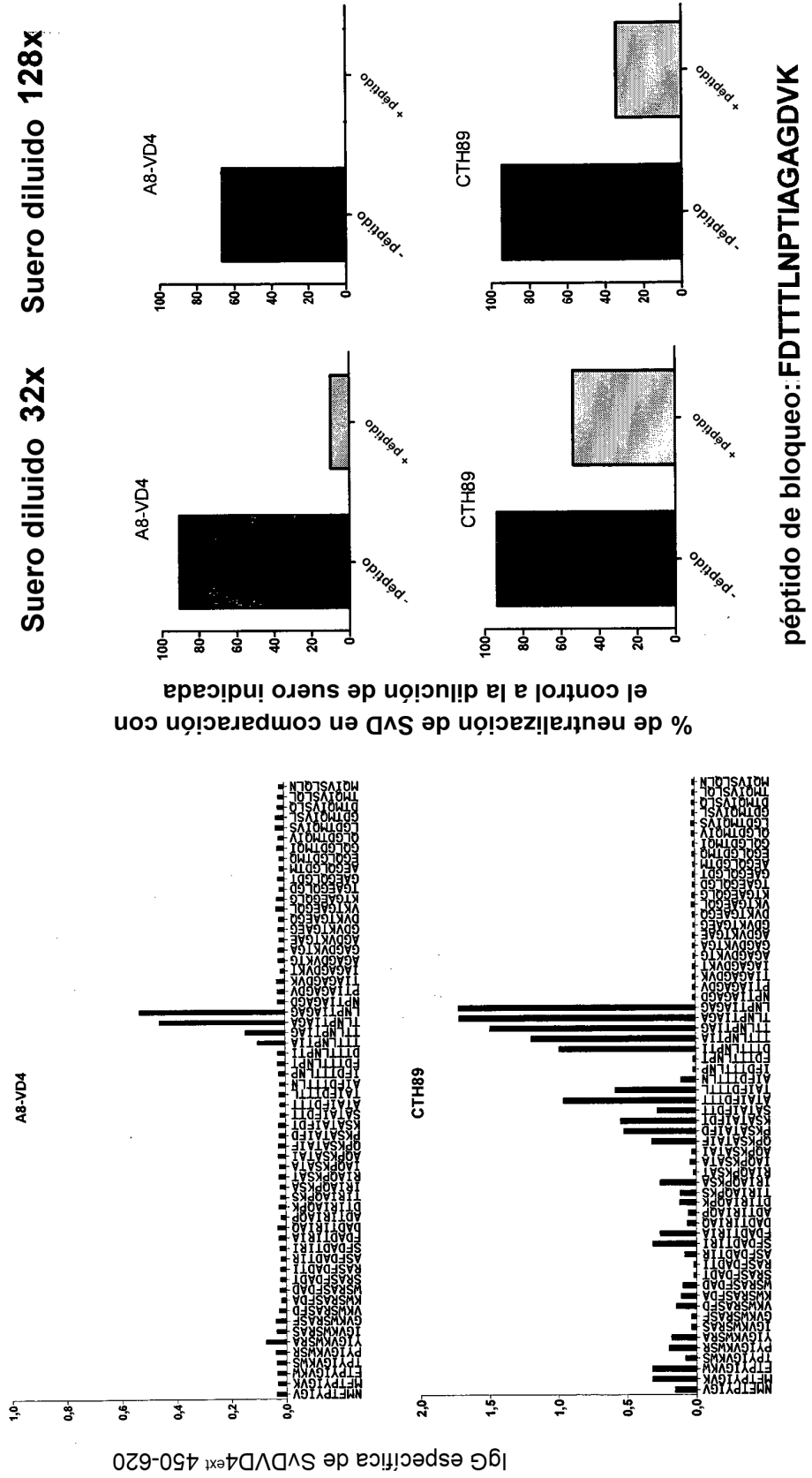


Figura 8

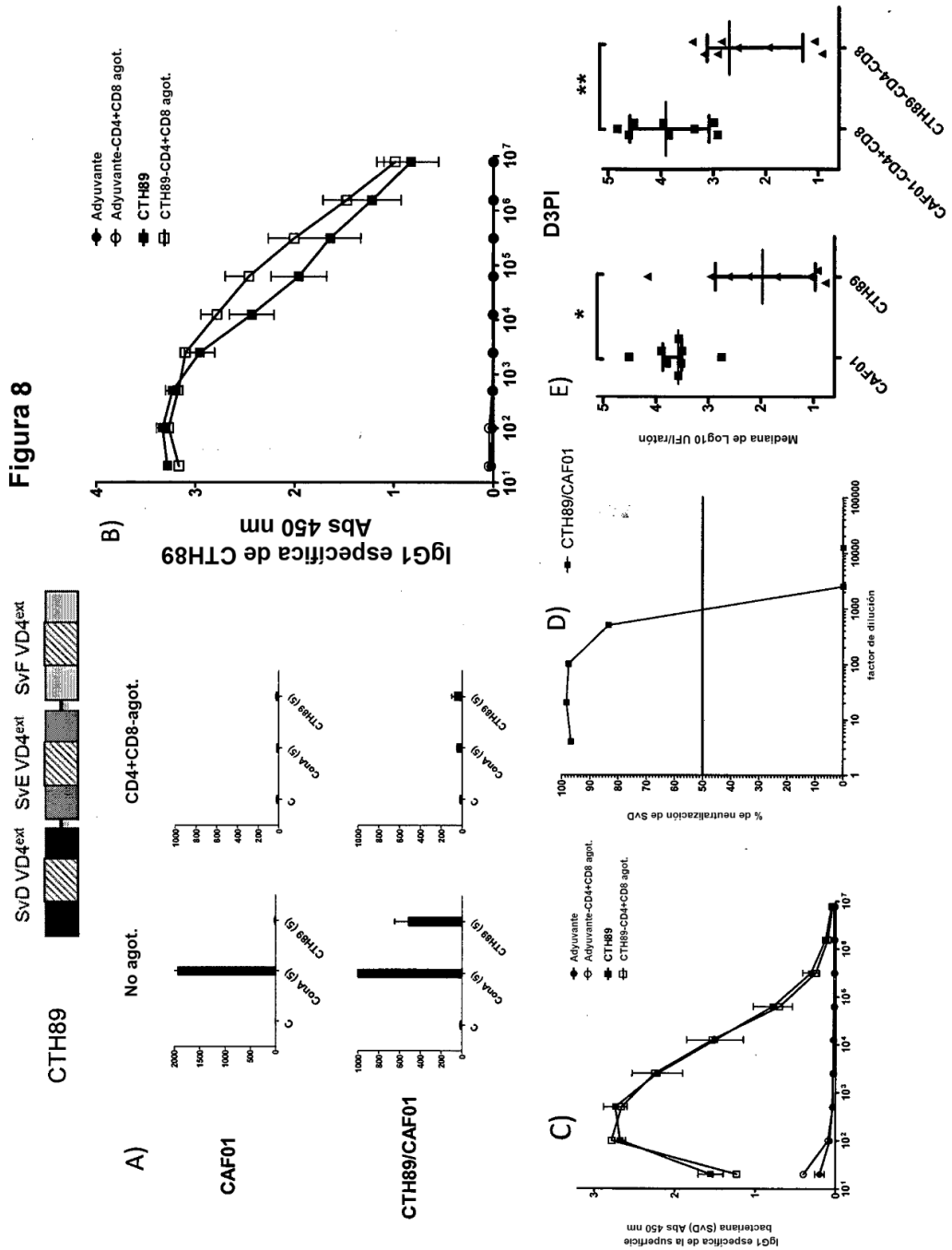


Figura 8 F)

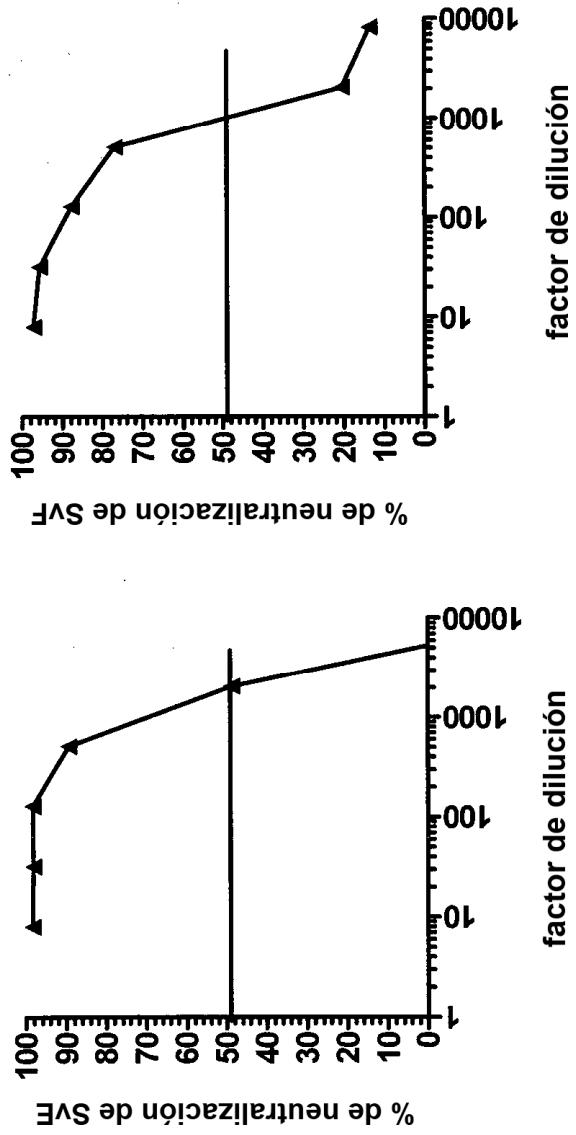


Figura 9

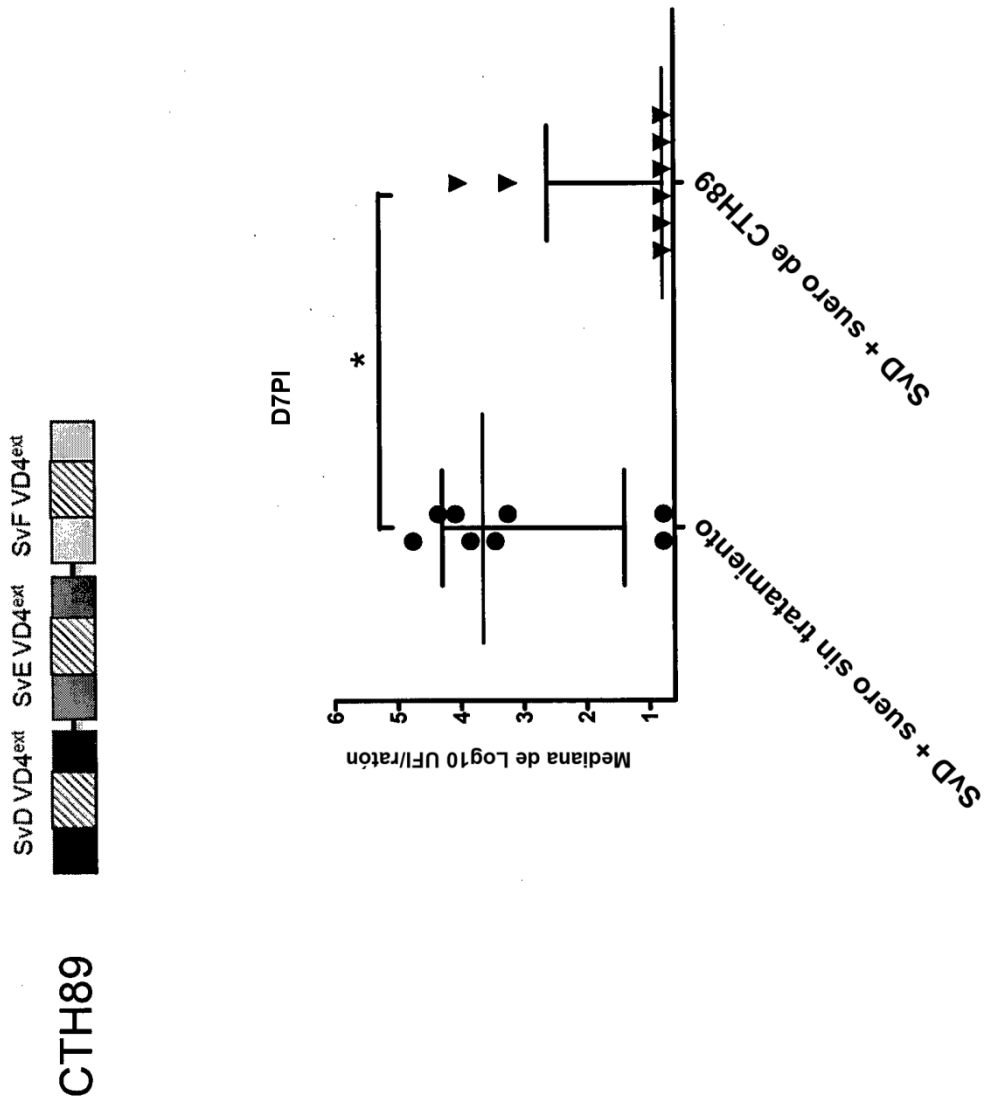




Figura 10

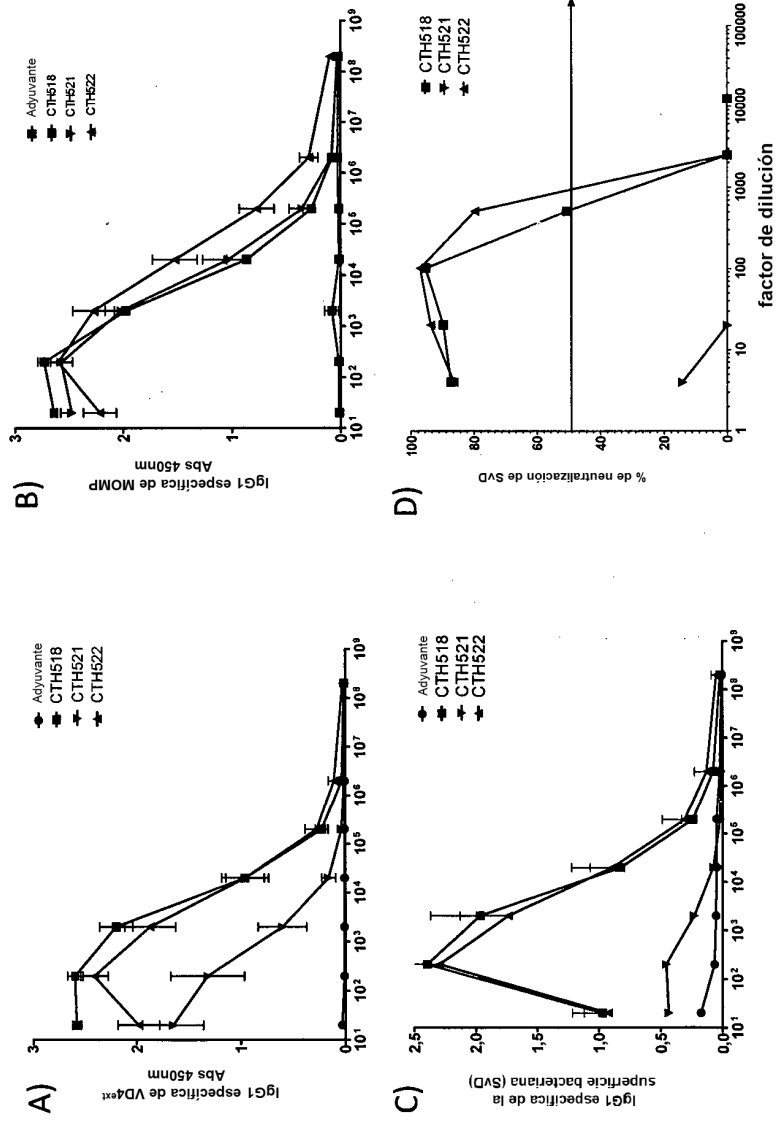
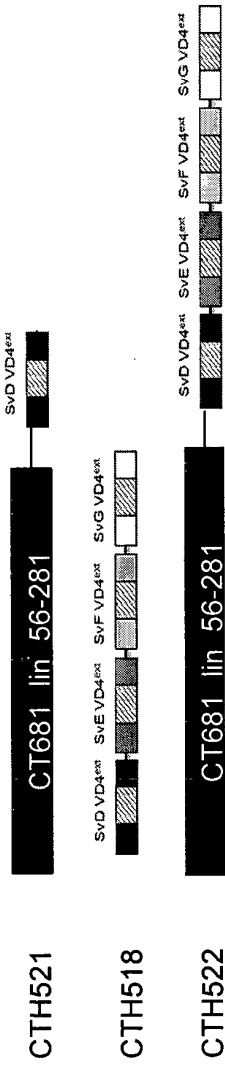
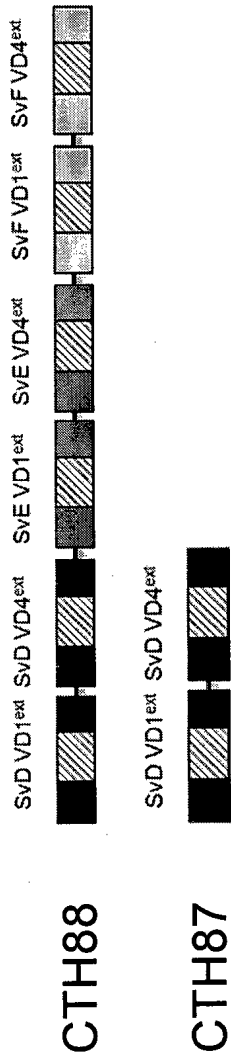
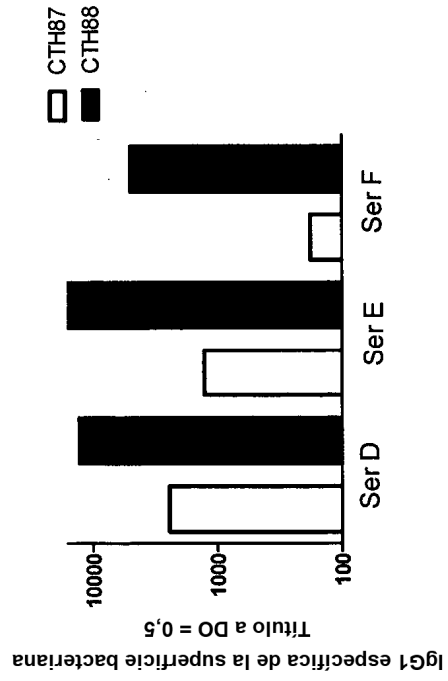


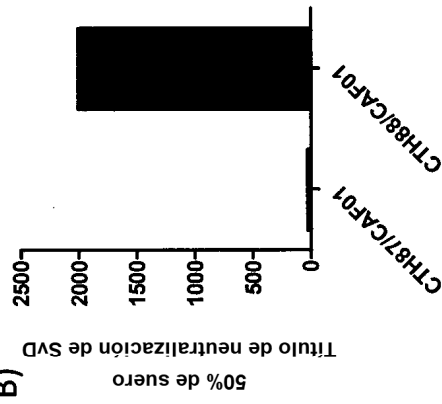
Figura 11



A)



B)



C)

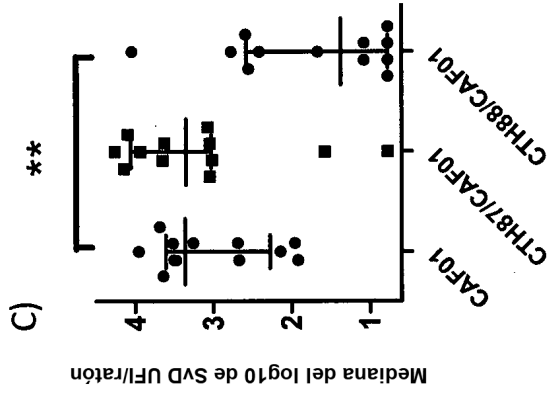


Figura 12

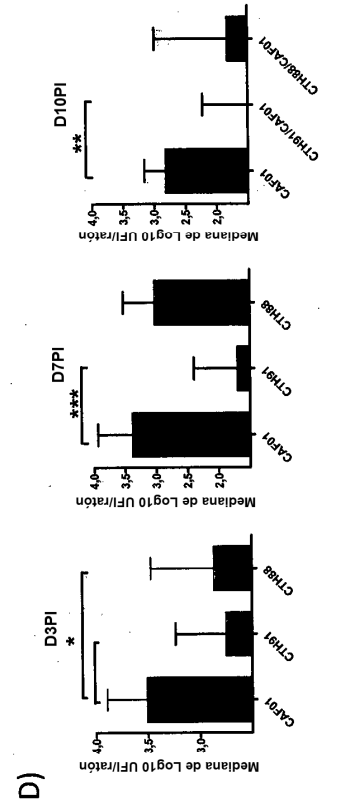
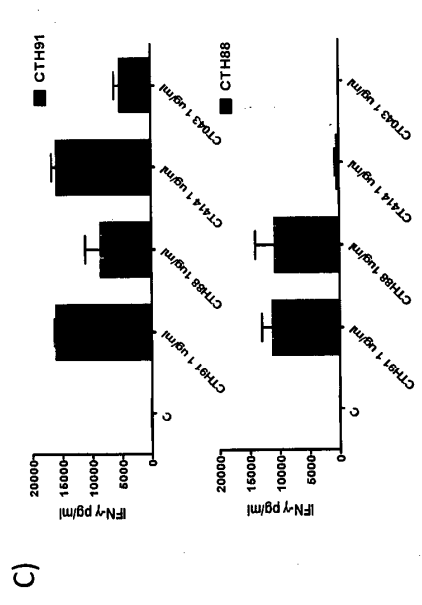
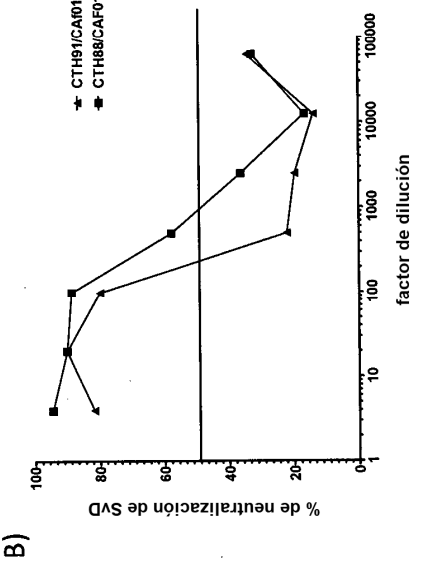
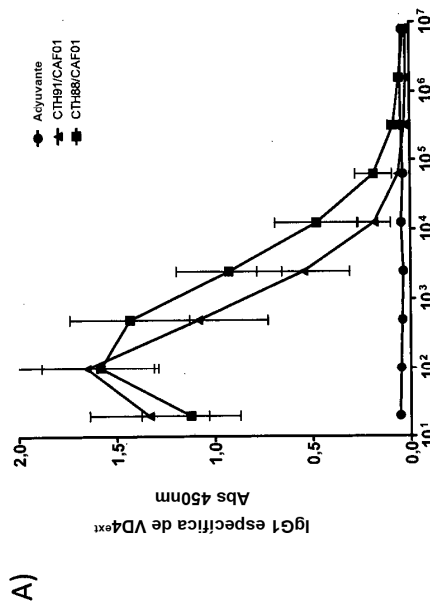
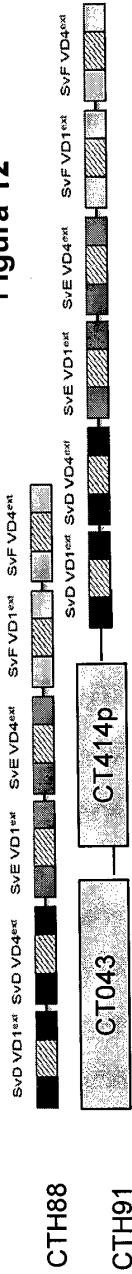


Figura 13

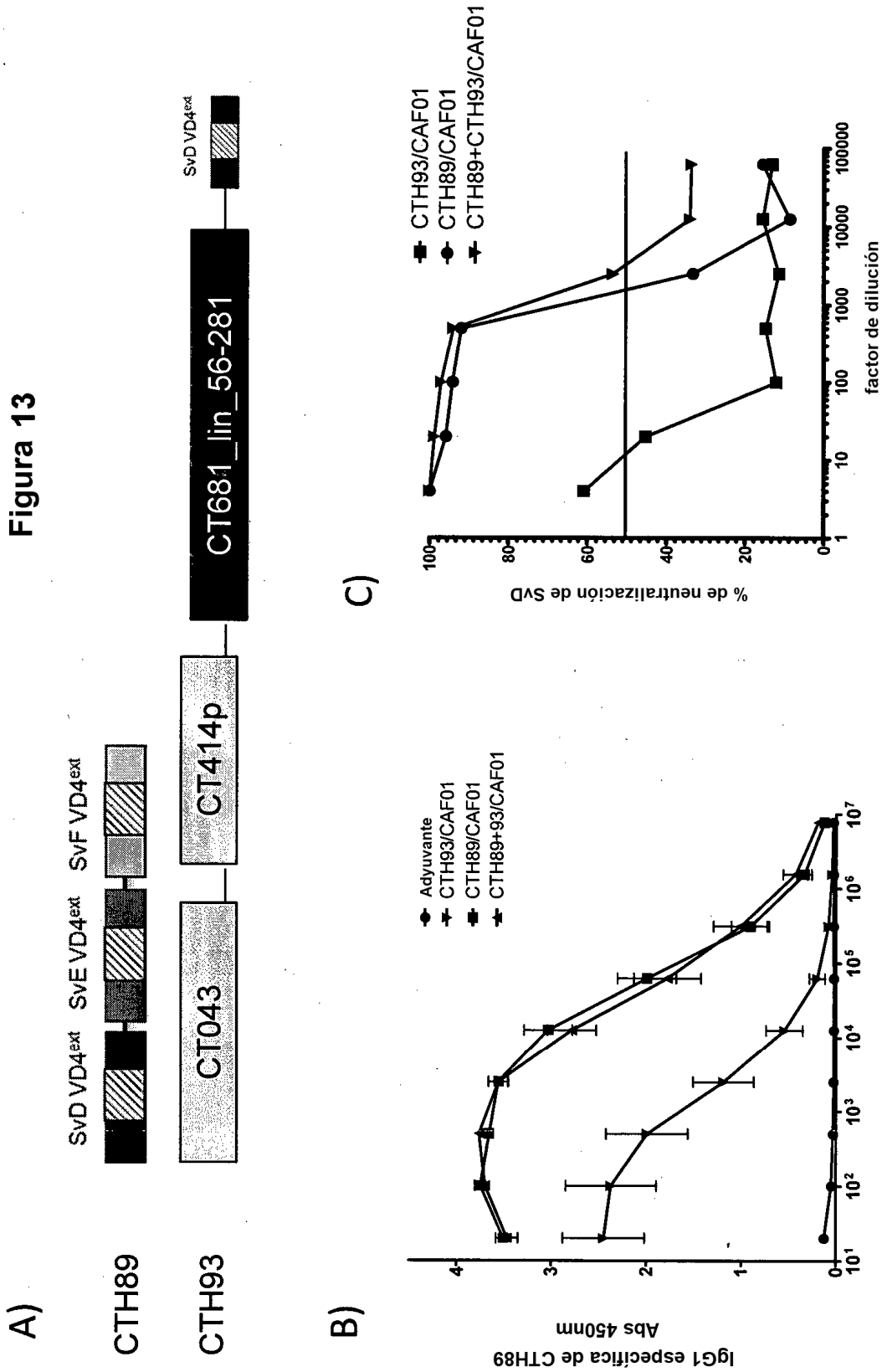


Figura 13  
cont.

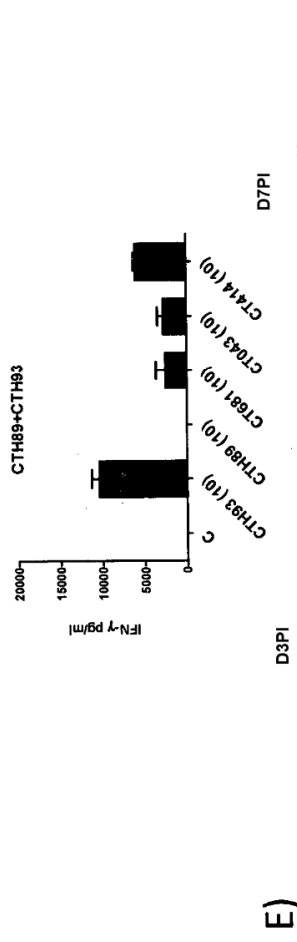
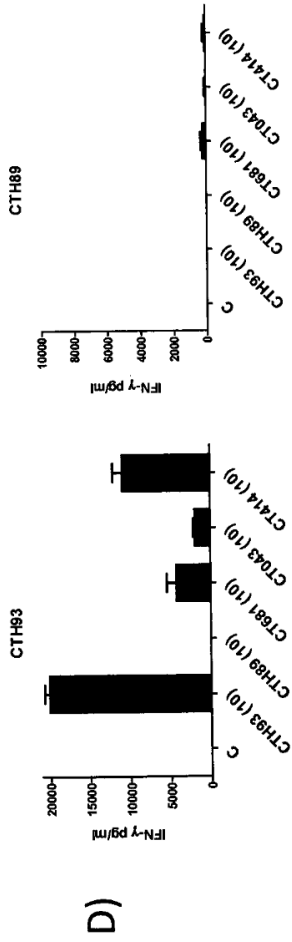


Figura 14

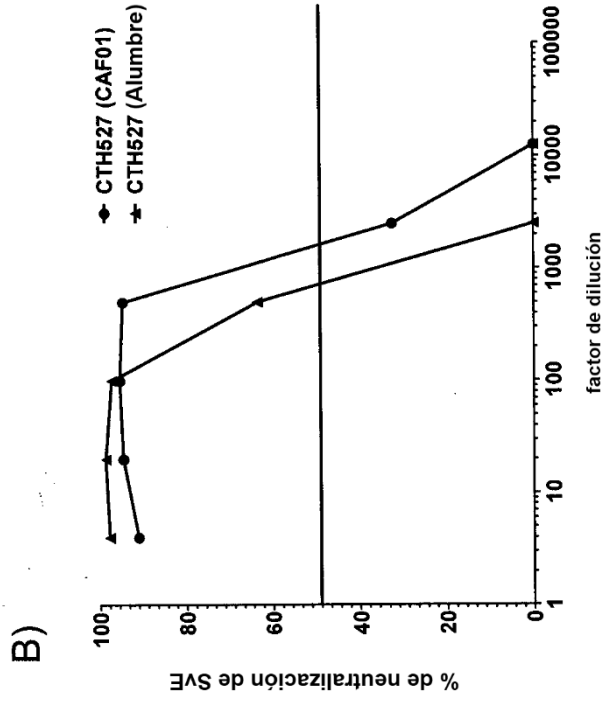
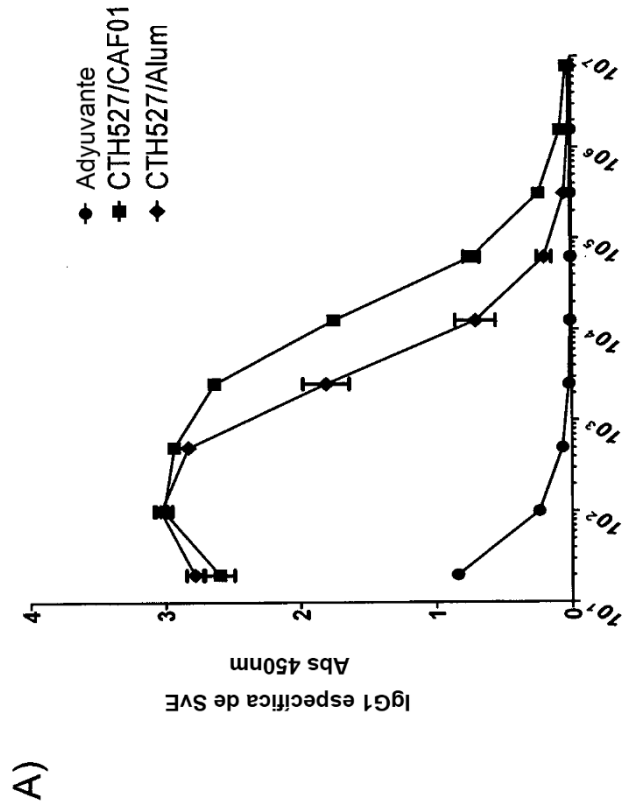
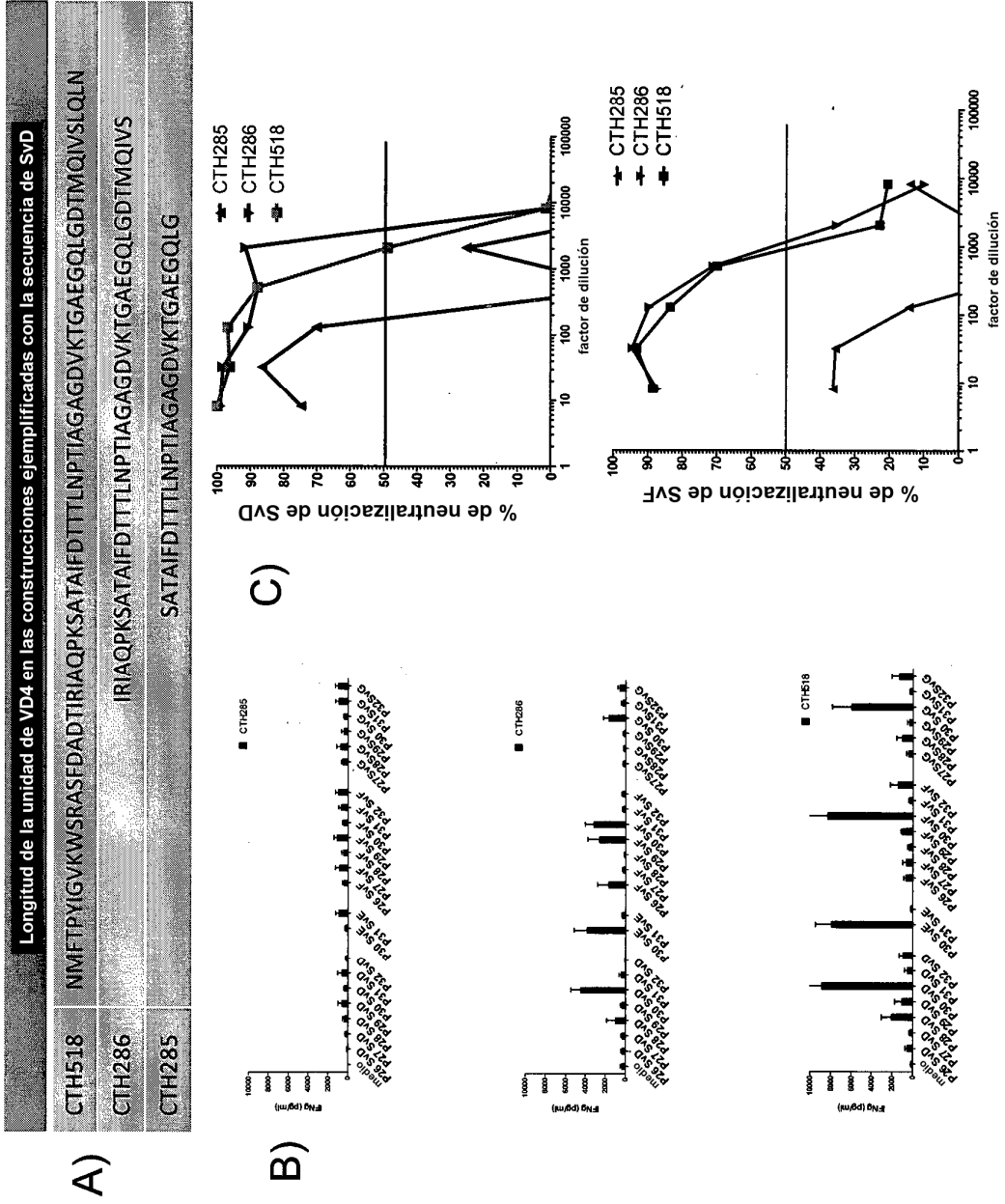


Figura 15



**A)**

Longitud de la unidad de VD4 en las construcciones ejemplificadas con la secuencia de SvD	
CTH88	NMFTPYIGVKWSRASFDADTIRIAQPKSATAIFDITTLNPTIAGAGDVKTGAEGQLGDTMCIIVSLQLN
CTH69+CTH72	EWQASLALSYRLNMFPTPYIGVKWSRASFDADTIRIAQPKSATAIFDITTLNPTIAGAGDVKTGAEGQLGDTMCIIVSLQLN

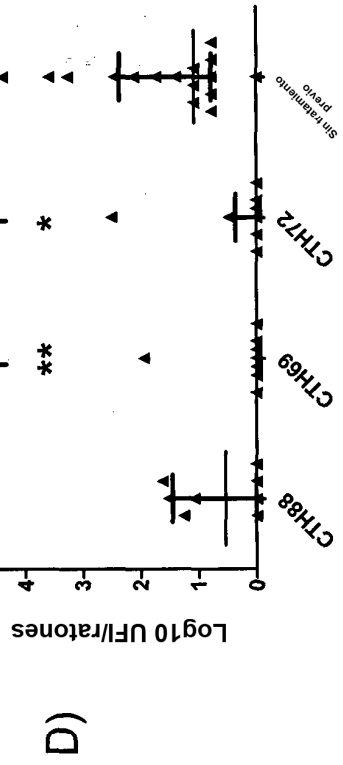
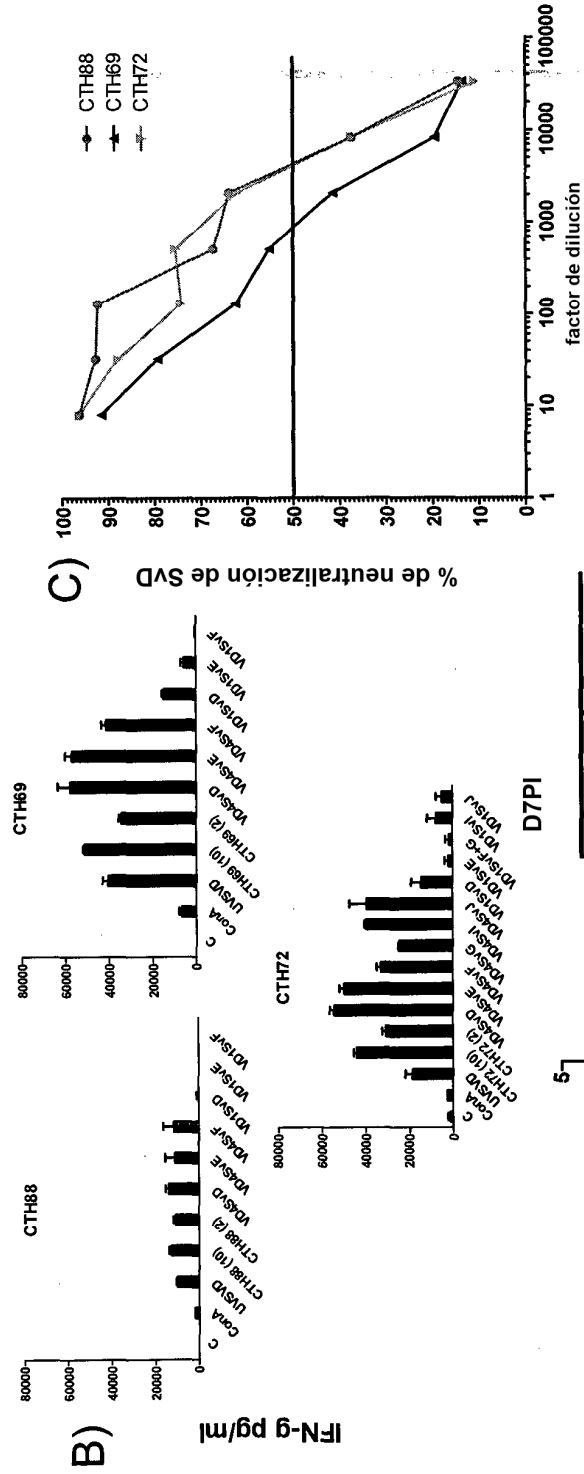


Figura 16