

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 806 773**

51 Int. Cl.:

**A61K 38/16** (2006.01)

**A61P 37/08** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.01.2015 PCT/IB2015/050703**

87 Fecha y número de publicación internacional: **06.08.2015 WO15114575**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.01.2015 E 15708316 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.04.2020 EP 3099314**

54 Título: **Composiciones que comprenden tolerógenos y usos de las mismas**

30 Prioridad:

**31.01.2014 EP 14153365**

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

**18.02.2021**

73 Titular/es:

**UNIVERSITÄT ZÜRICH (50.0%)  
Prorektorat MNW Rämistrasse 71  
8006 Zürich, CH y  
LEIDEN UNIVERSITY MEDICAL CENTER (LUMC)  
(50.0%)**

72 Inventor/es:

**MUELLER, ANNE;  
ENGLER-ANDERS, DANIELA y  
TAUBE, CHRISTIAN**

74 Agente/Representante:

**LÓPEZ CAMBA, María Emilia**

**ES 2 806 773 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

Composiciones que comprenden tolerógenos y usos de las mismas

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a la prevención o el tratamiento de trastornos alérgicos, en particular, asma y alergia a alimentos y, en particular, a composiciones útiles para la prevención de la hipersensibilidad a alérgenos, en particular, los trastornos de asma y/o la desensibilización a los alérgenos.

10

**Antecedentes de la invención**

La prevalencia del asma alérgica y las enfermedades alérgicas ha alcanzado proporciones epidémicas tanto en poblaciones adultas como pediátricas, desarrolladas y en desarrollo (Eder y col., 2006, N. Engl. J. Med. 355:2226-2235). Se ha propuesto alternativamente que la falta de infecciones o exposición a microbios en la infancia, debido a condiciones de salubridad mejoradas, y la pérdida gradual de la microbiota indígena son responsables de esta tendencia principal de la salud pública (Blaser, 2009, Nat. Rev. Microbiol., 7:887-894). En 2011, entre 235 y 300 millones de personas alrededor del mundo fueron diagnosticadas con asma, y se produjeron 250.000 muertes.

15

20

25

30

35

40

Se sabe que el asma es la enfermedad crónica más prevalente en la infancia en los países desarrollados; aproximadamente 300 millones de personas padecen esta enfermedad en todo el mundo. El asma es provocada por una combinación de factores genéticos y ambientales. La Iniciativa Global del Asma define el asma como un trastorno inflamatorio crónico de las vías respiratorias. La inflamación pulmonar crónica se asocia con la hiperresponsividad de las vías respiratorias, lo que lleva a los síntomas clásicos del asma: episodios recurrentes de jadeos, falta de aire, opresión en el pecho y tos. El fenotipo clínico más común es el asma alérgica. En la infancia, más del 90% de los pacientes con asma grave son alérgicos; entre los adultos asmáticos, el 60% son sensibles a los aeroalérgenos comunes (Holgate y col., 2003, Eur. Respir. J. 2003; 22:470-477). En el asma alérgica, la inflamación y la obstrucción de las vías respiratorias son disparadas por la exposición a alérgenos en individuos atópicos. La patofisiología subyacente a la enfermedad es más bien compleja. Los procedimientos inflamatorios subyacentes al desarrollo de la enfermedad de las vías respiratorias alérgicas han sido investigados tanto en modelos humanos como animales de la enfermedad. El entendimiento de los diferentes tipos celulares y mediadores involucrados en el desarrollo del asma ha aumentado en la última década. En efecto, los hallazgos apoyan un rol importante de las células Th2 y las citocinas Th2 (IL-4, IL-5 y IL-13) en el desarrollo de la inflamación inducida por alérgenos y la hiperresponsividad de las vías respiratorias (AHR).

El tratamiento inmunomodulador del estado de la técnica de los síntomas agudos del asma involucra corticoesteroides inhalables u orales. Los pacientes con asma generalmente responden a los agonistas de los receptores adrenérgicos  $\beta_2$  (como el salbutamol) y las leucotrienes, que relajan las células musculares lisas. En casos muy graves, podría requerirse la administración intravenosa de corticoesteroides o fármacos inmunomoduladores, tales como anticuerpos neutralizadores de interleucinas, así como también la hospitalización. Los anticuerpos monoclonales anti-IL-13, anti-IL-5 y anti-IL-9 están todos actualmente en ensayos clínicos para el asma.

45

50

El *Helicobacter pylori* es un patógeno bacteriano persistente que coloniza la mucosa gástrica de los humanos. Típicamente se adquiere en la infancia temprana, y, al no haber una terapia con antibióticos, puede persistir durante toda la vida del huésped. La capacidad extraordinaria de *H. pylori* de resistir una respuesta inmune de adaptación impulsada en gran medida por células T efectoras polarizadas de Th1 y/o Th17 se ha atribuido a su adaptación a, y manipulación de, los sistemas inmunes humanos innatos y de adaptación. El *H. pylori* ha colonizado a su huésped humano durante al menos 60.000 años y, durante este largo período de evolución conjunta, ha evolucionado maneras elaboradas de manipular sistémicamente respuestas inmunes de adaptación y de promover su persistencia a través de la inducción preferencial de las células T regulatorias (Treg) sobre la respuesta de las células T inmunogénicas a través de las respuestas de células T efectoras. Las respuestas predominantes de Treg son características en vehículos fuertemente colonizados pero asintomáticos.

55

60

Se ha mostrado que la infección por *H. pylori* vivo experimental, especialmente cuando se inicia durante el período neonatal, protege efectivamente contra el asma inducida por alérgenos que se induce mediante la sensibilización a y la provocación de alérgenos (Arnold y col., 2011, The Journal of Clinical Investigation, 121:3088-3093). De manera mecánica, la protección contra el asma se debe al desarrollo de tolerancia inmune (mediada por Treg) a *H. pylori*, que protege de manera cruzada contra las respuestas de Th2 específicas para el alérgeno. Los efectos protectores del *H. pylori* vivo son abrogados por la terapia de erradicación con antibióticos que elimina las bacterias (Arnold y col., 2011, *supra*). De manera similar, la inducción de Tregs protectoras requería bacterias vivas *in vivo* y no pudo lograrse con el extracto muerto.

65

Aparte de las Tregs, las células dendríticas (DC) han surgido como un tipo de célula crucial requerido para la tolerancia inmune. Las DC que experimentaron *H. pylori* se reprograman para un fenotipo que promueve la tolerancia *in vitro* e *in vivo* (Oertli y col., 2013, PNAS, 110(8), 3047-3052). Se ha observado que la reprogramación de DC requiere dos proteínas secretadas por *H. pylori* (determinantes de virulencia o factores), la citotoxina de vacuolación (VacA) y la  $\gamma$ -

glutamil-transpeptidasa (GGT) (Oertli y col., 2013, *supra*), ya que los mutantes de *H. pylori* que carecen de uno de los dos factores de virulencia (pero que son, de otro modo, del tipo salvaje) no reprograman las DC *in vivo* e *in vitro*, y, por lo tanto, no pueden inducir Tregs con actividad supresora en los ratones (Oertli y col., 2013, *supra*). Como consecuencia, ambas cepas mutantes de *H. pylori* son efectivamente eliminadas por los ratones (Oertli y col., 2013, *supra*). Además, tanto GGT como VacA han sido usados o se informó que se usaron para disparar la inmunidad protectora inducida por vacuna contra *H. pylori*, es decir, con el objetivo opuesto (fuerte efector T en lugar de respuestas Treg) del presente objetivo de la invención (Malfertheiner y col., 2008, *Gastroenterology* 135(3):787-95).

El uso de *H. pylori* vivo como una intervención terapéutica o medida preventiva no ha sido atractivo debido al potencial carcinogénico bien documentado de la infección crónica con un organismo, ya que el *H. pylori* induce úlceras gástricas y duodenales (Marsahll y col., 1984, *Lancet* 1:1311-1315), y también hay una amplia aceptación de que sea la causa principal del adenocarcinoma gástrico (Parsonnet y col., 1991, *N. Engl. J. Med.*, 325:1127-1131). Además, es importante observar que aquellas estrategias de vacunación usando *H. pylori* están apuntando a inducir una respuesta inmune que protegería al sujeto contra la infección de *H. pylori* y contrarrestaría la capacidad de *H. pylori* de evitar o desviar la respuesta del sistema inmune.

Como todos los tratamientos actuales del asma inducen efectos secundarios más o menos graves, se necesitan de manera desesperada estrategias de tratamientos alternativos. Por lo tanto, existen necesidades importantes de nuevas estrategias para la prevención o el desarrollo de asma, particularmente para niños y personas jóvenes que presentan una predisposición hacia el desarrollo de reacciones de hipersensibilidad y para el tratamiento de las causas y síntomas del asma.

### Resumen de la invención

La presente invención se refiere al hallazgo inesperado de que la administración oral, intranasal o intraperitoneal (es decir, sistémica) de una composición que comprende VacA de *H. pylori* (administrada ya sea en la forma de un extracto de células muertas según se prepara con la alteración mecánica de *H. pylori* logarítmicamente creciente usando una « prensa francesa » celular de presión francesa o en la forma de proteína purificada o recombinante), al ser administrada en intervalos regulares, es capaz de inducir la protección contra el asma inducida por alérgenos. Si bien se halló que la presencia de este determinante o factor de virulencia se requería para la persistencia e inducción de Treg, era en combinación con el determinante de virulencia GGT y en el contexto de las bacterias vivas y no se pudo anticipar si hubiese sido suficiente por sí solo para la protección contra el asma. Además, el hecho de que la VacA se haya incluido exitosamente en ensayos humanos preclínicos y de fase 1 de la vacunación específica contra *H. pylori* argumenta que es inmunogénica (al menos en combinación con un adyuvante adecuado) y dispara la inmunidad mediada por células T y/o anticuerpos. Dado que las propiedades de fuerte inmunogenicidad y fuerte inmunomodulación, según son requeridas para la supresión de respuestas inmunes específicas de alérgenos, generalmente son exclusivas de manera mutua y no se encuentra típicamente en la misma proteína, las propiedades tolerogénicas de las composiciones según la invención son particularmente sorprendentes. La presente invención se refiere además al hallazgo inesperado de que es posible inducir una tolerancia periférica evitando una respuesta inmune a la infección de *H. pylori* a través del uso de una VacA y, por lo tanto, logrando una forma más bien no específica de inmunomodulación tolerogénica.

Un primer aspecto de la invención proporciona un polipéptido de una proteína Vac A, seleccionada de entre las SEQ ID NO: 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 y 11, o una secuencia que tiene al menos el 90% de identidad con una proteína VacA seleccionada de entre las SEQ ID NO: 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 y 11 o una formulación de las mismas para su uso en la prevención y/o el tratamiento de un trastorno alérgico, en particular, asma atópica o inducida por alérgenos, en la que dicha proteína VacA se encuentra esencialmente libre de un componente inmunogénico, en particular, de otros componentes de antígeno de *H. pylori*. Según un aspecto de la invención, un polipéptido de la invención es útil para inducir una respuesta de tolerización a un alérgeno.

Otro aspecto según la invención se refiere a la formulación tolerogénica farmacéutica que comprende una proteína Vac A que consiste en una secuencia seleccionada de entre las SEQ ID NO: 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 y 11, o una secuencia que tiene al menos el 90% de identidad con una proteína VacA seleccionada de entre las SEQ ID NO: 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 y 11 y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable, un diluyente o un excipiente del mismo, donde dicha proteína VacA se encuentra esencialmente libre de un componente inmunogénico, en particular, de otros componentes de antígeno de *H. pylori*.

Otro aspecto de la invención se refiere a una formulación farmacéutica de la invención, en la que dicha proteína Vac A se combina con al menos un coagente útil en la prevención y/o el tratamiento de un trastorno alérgico, en particular, el asma atópica y/o para inducir una respuesta de tolerización a un alérgeno.

### Descripción de las figuras

La **Figura 1** muestra el alivio del asma inducida experimentalmente mediante el tratamiento con una composición según la invención, como se describe en el Ejemplo 1, para el grupo sometido al extracto de *H. pylori* (-▲-) en comparación con los controles positivos (ratones sensibilizados, pero sin tratamiento) (-■-) y los controles

negativos (ratones con sensibilización simulada) (-●-). **A, B:** La hiperresponsividad de las vías respiratorias en la respuesta (cambio en % de los niveles de base, que se determinan individualmente para cada ratón) a las dosis en aumento de metacolina ([C] en mg/ml) y la dosis más alta de 100 mg/ml, respectivamente; **C, D:** Células y eosinófilos totales contenidos en 1 ml de BALF; **E-G:** La inflamación tisular y la metaplasia de células calciformes, según la puntuación mediante dos experimentadores ciegos en las secciones de tejido teñidas con H&E y PAS; micrografías representativas tomadas en ampliaciones originales de 100x (H&E) y 400x (PAS), se muestran en el grupo de datos G. de 5 estudios independientes, en A-F; **H, I:** La secreción de IL-5 y IL-13 mediante las preparaciones pulmonares de células únicas reestimuladas con ovoalbúmina, según la evaluación con ELISA, como se describe en el Ejemplo 1. Se muestra el grupo de datos de dos estudios.

La **Figura 2** muestra que, para la protección contra el asma inducida con el extracto de células muertas, se requiere la señalización de IL-10. **A, B:** La secreción de IL-10 mediante DC derivadas de la médula ósea murina y DC derivadas de monocitos humanos de seis voluntarios saludables, después de la exposición a las cantidades indicadas de extracto de célula muerta de *H. pylori* ([C]) de la invención, como se describe en el Ejemplo 2. A: Un experimento representativo de tres; B: El grupo de datos de todos los seis donantes se muestra en B. **C-F:** Los ratones tratados como se describe en la Figura 1; los grupos indicados recibieron 3 dosis de anticuerpo anti-IL-10R durante la fase de provocación del protocolo, como se describió en el Ejemplo 2; **C, D:** Células y eosinófilos totales contenidos en 1 ml de BALF; **E, F:** Inflamación del tejido y metaplasia de células calciformes. En los diagramas de dispersión, cada símbolo representa un ratón; las líneas horizontales indican las medianas.

La **Figura 3** muestra que la VacA es tanto requerida como suficiente para la protección contra la enfermedad de las vías respiratorias alérgicas en el modelo de asma inducida por alérgenos. El extracto de un mutante de *H. pylori* sin el gen VacA ("extr. ΔvacA") fue consistentemente menos eficiente que el extracto de tipo salvaje ("extr. ts") a la hora de proteger a ratones sensibles a y desafiados por alérgenos contra la inflamación broncoalveolar y pulmonar, la eosinofilia y la metaplasia de células calciformes (Fig. 3A-D). A fin de examinar si la VacA sola es suficiente para proporcionar protección, la VacA oligomérica purificada de sobrenadantes de cultivo de *H. pylori*, como se describe en el ejemplo 1, se administró intraperitonealmente, una vez a la semana, desde el día 7 de edad en adelante. No se observó ningún efecto adverso en ninguno de los ratones, a pesar de su joven edad al momento de las primeras dosis. Sorprendentemente, la VacA proporcionó un nivel de protección contra el asma que era comparable con la protección otorgada por el tratamiento con el extracto (Fig. 3A-D). Una proteína VacA de control negativo a la que le falta la región hidrofóbica aminoterminal de tres repeticiones en tándem que han sido descritas como esenciales para la actividad citotóxica de VacA (*Vinion-Dubiel y col., 1999, supra*), es decir, de la SEQ ID NO: 3 (Figura 5) no ofreció protección contra el asma (Fig. 3A-D).

La **Figura 4** muestra los efectos beneficiosos de varias concentraciones, vías de administración y regímenes de dosificación de VacA purificada en el asma alérgica. La VacA se preparó como se describió anteriormente y se administró por vía intraperitoneal o intragástrica en varias concentraciones e intervalos en ratones. 5 mg de VacA administrados intraperitonealmente en intervalos semanales desde la edad del día 7 en adelante hasta 2 semanas antes de la provocación (según se indica mediante el subíndice "a") resultaron tan efectivos como 20 mg de VacA a la hora de impedir la inflamación broncoalveolar y la eosinofilia (Figura 4 A,B). La VacA administrada intragástricamente (per os, p.o.) (de nuevo, suministrada semanalmente desde el día 7 hasta 2 semanas antes de la provocación) también proporcionó una protección significativa (Figura 4 A,B). Tres dosis de VacA suministrada intraperitonealmente (suministrada en las semanas 1, 2 y 3 de vida, denotadas con el subíndice "b" en la Figura 4) fueron insuficientes a fin de proporcionar protección total (Figura 4 A,B). El bloqueo de la señalización de IL-10 con dos dosis de un anticuerpo neutralizante administradas intraperitonealmente durante la provocación de ovoalbúmina anuló la protección (Figura 4 A,B). Estos datos apoyan que, de manera inesperada, la administración de VacA sola en forma purificada es capaz de inducir una protección contra el asma que es comparable con todo el extracto celular y, por lo tanto, pueden administrarse en forma purificada a fin de impedir el asma alérgica,

La **Figura 5** muestra ejemplos de secuencias de aminoácidos de los polipéptidos Vac A descritos en esta invención. A: VacA s1m1 (Q48245 cepa de *H. pylori* ATCC 49503/60190) de la SEQ ID NO: 1; B: VacA s2m2 de la SEQ ID NO: 2; C: VacA mutante de control negativo (Δ6-27) de la SEQ ID NO: 3; D- K: SEQ ID NO 4 a SEQ ID NO: 11.

La **Figura 6** muestra los efectos beneficiosos del extracto de *H. pylori* y la HpVacA en función de una puntuación clínica (A) y de parámetros sistémicos de alergia alimentaria (C a F), como se describe en el Ejemplo 5. Estos datos apoyan que, de manera inesperada, la administración de VacA sola en forma purificada es capaz de inducir una protección contra alergias a los alimentos que es comparable con todo el extracto celular y, por lo tanto, pueden administrarse en forma purificada a fin de impedir el asma alérgica.

## 60 Descripción detallada

El término "trastorno alérgico" se refiere a las configuraciones alérgicas y la hipersensibilidad a alérgenos tales como el asma atópica o inducida con alérgenos, la dermatitis atópica (eccema), rinitis atópica (fiebre del heno), conjuntivitis alérgica, alergia alimentaria, alergia ocupacional, aspergilosis broncopulmonar alérgica y neumonitis por hipersensibilidad.

El término "asma" se refiere a un trastorno de las vías respiratorias caracterizado por la inflamación de las vías respiratorias, la hiperresponsividad y la obstrucción, que a menudo causa espasmos del sistema del músculo liso bronquial, y afecta tanto al tracto respiratorio superior como inferior. Hay varias formas de asma, caracterizadas por los variados grados de gravedad.

El asma leve, por ejemplo, se define como episodios breves de jadeos, con o sin disnea o tos. De manera moderada, el asma grave se define como jadeos y disnea y puede ser con o sin tos y expectoración, pero generalmente interfiere con actividades cotidianas y/o el sueño. El asma grave se caracteriza por la inhabilitación debido a la disnea, y el paciente afectado típicamente no puede comer o dormir de manera normal, está muy ansioso y, a menudo, está agotado. Una condición conocida como estado asmático es la forma más grave de asma, y, en general, requiere cuidados intensivos en el hospital e incluso puede ser fatal. Esta enfermedad puede producirse como resultado tanto de mecanismos alérgicos como no alérgicos.

El término "asma inducida por alérgenos" o "asma atópica" se refiere al asma que resulta de una hipersensibilidad a un antígeno/alérgeno. Esto incluye, entre otros, todos los alérgenos inhalables que incluyen polen de los árboles, pasto, maleza o hierbas u otro grupo de alérgenos tales como los ácaros del polvo, la caspa de animales, cucarachas, hongos y mohos. Además, se incluyen los alérgenos ocupacionales, como la harina, la leche de soja, el látex y diferentes ácaros (*Tyrophagus putrescentiae*; *Lepidoglyphus destructor*; *Acarus siro*). La hipersensibilidad a alérgenos, en particular, el asma inducida por antígenos/alérgenos se diagnostica generalmente en función del patrón de síntomas tales como tos, estornudos, irritación/comezón en la nariz o los ojos, aumento del lagrimeo y la congestión nasal, comezón en la piel con la formación de un eccema, así como también náuseas, vómitos, dolor abdominal, malestar y diarrea en la alergia alimentaria. El asma atópica se clasifica clínicamente según la frecuencia de los síntomas, el volumen espiratorio forzado reducido en un segundo (FEV1), o la velocidad de flujo espiratorio pico (Flujo pico), la variabilidad del Flujo pico, la hiperresponsividad de las vías respiratorias y el aumento en los niveles de IgE específica de alérgenos.

El término "alergia alimentaria" se refiere a una respuesta anormal del sistema inmune humano a alimentos dañinos, causada por la reacción del sistema inmune a algunas proteínas alimentarias, que generalmente involucran anticuerpos humanos producidos contra alérgenos específicos que se encuentran en los alimentos. Los ejemplos de alérgenos alimentarios comunes incluyen componentes de la leche, soja, pescado y mariscos, frutos secos, maní, trigo (gluten) y huevos.

Como se usa en esta invención, el término "polipéptido" se usa en su significado convencional, es decir, como una secuencia de aminoácidos. Los polipéptidos no se limitan a una longitud específica del producto; por consiguiente, los péptidos, oligopéptidos y proteínas se incluyen dentro de la definición de polipéptido, y dichos términos pueden usarse de manera indistinta en esta invención, a menos que se indique específicamente lo contrario. Este término tampoco se refiere ni excluye las modificaciones posteriores a la expresión del polipéptido, por ejemplo, glicosilaciones, acetilaciones, fosforilaciones y similares, así como también otras modificaciones conocidas en la técnica, tanto de ocurrencia natural como no natural. Un polipéptido puede ser una proteína completa o una subsecuencia de la misma. Los polipéptidos particulares de interés en el contexto de esta invención son secuencias de aminoácidos que comprenden fragmentos tolerogénicos.

El término "fragmentos" se refiere a polipéptidos que comprenden una porción de una secuencia de péptidos que corresponde a aminoácidos contiguos de un polipéptido establecido en esta invención, incluyendo las longitudes intermedias y sus variantes.

El término "VacA" incluye la VacA s1m1 (SEQ ID NO: 1, 4-11) y VacA s2m2 (SEQ ID NO: 2). Como se describe en Cover y col., 1992, J. Biol. Chem., 267:10570-1057 y Cover y col., 1997, J. Cell. Biol., 138:759-769. Según una realización particular, Vac A es VacA s1m1 de la SEQ ID NO: 1. Según otra realización, Vac A es VacA s2m2 de la SEQ ID NO: 2. Según otra realización, Vac A es VacA s1m1 de la SEQ ID NO: 9.

El término "variante" se aplica tanto a un polinucleótido como a un polipéptido. Una "variante" de polipéptido, según cómo se usa dicho término en esta invención, es un péptido o polipéptido sustancialmente homólogo a la secuencia de péptidos a la que se hace referencia, pero que tiene una secuencia de aminoácidos diferente de aquella a la que se hace referencia. Dichas variantes pueden ser de ocurrencia natural o pueden generarse de manera sintética, por ejemplo, modificando una o más de las secuencias de polipéptidos anteriores de la invención, que se describen en esta solicitud, usando cualquier número de técnicas bien conocidas en la técnica. En muchos casos, una variante contendrá sustituciones conservadoras. Sustancialmente homólogo significa una secuencia de aminoácidos variante que es idéntica a la secuencia peptídica de referencia, excepto por la eliminación, inserción y/o sustitución de algunos aminoácidos, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5 o 6 aminoácidos. Sustancialmente homólogo significa una secuencia de aminoácidos variante que es al menos un 80, un 85, un 90, un 95, un 96, un 97, un 98 o un 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de referencia. Una secuencia de ácido nucleico variante puede ser al menos un 80, un 85, un 90, un 95, un 96, un 97, un 98 o un 99% idéntica a la secuencia de ácido nucleico de referencia. La identidad de dos secuencias de aminoácidos o de dos secuencias de ácido nucleico se puede determinar mediante inspección visual y/o cálculo matemático, o más fácilmente comparando información de secuencia usando un programa informático conocido utilizado para la comparación de secuencias, tal como el paquete Clustal versión 1.83.

Una variante puede comprender una secuencia que tiene al menos un aminoácido sustituido de manera conservadora. Una "sustitución conservadora" es una en la que un aminoácido se sustituye con otro aminoácido que tiene propiedades similares, de modo tal que un experto en la materia de la química peptídica esperaría que la estructura secundaria y la naturaleza hidropática del polipéptido sustancialmente no cambien (por ejemplo, que tenga características fisicoquímicas similares). Es posible hacer modificaciones en la estructura de los polinucleótidos y los polipéptidos de la presente invención y aun así obtener una molécula funcional que codifica una variante o un polipéptido derivado con características deseables, por ejemplo, con características tolerogénicas. Cuando se desea alterar la secuencia de aminoácidos de un polipéptido para crear un equivalente, o incluso una variante tolerogénica mejorada o una porción de un polipéptido de la invención, un experto en la materia típicamente cambiaría uno o más de los codones de la secuencia de ADN de codificación. Al hacer esos cambios, se considera el índice hidropático, la polaridad, la carga, la solubilidad, la hidrofobicidad, la hidrofiliidad y/o la naturaleza anfipática de los aminoácidos. La importancia del índice de aminoácidos hidropáticos en otorgar la función biológica interactiva en una proteína se entiende generalmente en la técnica (Kyte, y col., 1982, J. Mol. Biol., 157: 105- 131). Los ejemplos de sustituciones conservadoras incluyen la sustitución de un residuo alifático por otro, tal como Ile, Val, Leu o Ala por otro, o sustituciones de un residuo polar por otro, tal como entre Lys y Arg; Glu y Asp; o Gln y Asn. Se conocen bien otras sustituciones conservadoras de este tipo, por ejemplo, sustituciones de regiones enteras que tienen características de hidrofobicidad similares (Kyte, y col., 1982, *supra*). Por ejemplo, una "sustitución conservadora de aminoácidos" puede implicar una sustitución de un residuo de aminoácidos nativo con un residuo no nativo de tal manera que haya poco o ningún efecto sobre la polaridad o carga del residuo de aminoácidos en esa posición. Los expertos en la materia pueden determinar las sustituciones de aminoácidos deseadas (ya sean conservadoras o no conservadoras) en el momento en que se deseen dichas sustituciones. En la Tabla 1, a continuación, se presentan sustituciones de aminoácidos ejemplares. El término "variante" también incluye un péptido o polipéptido sustancialmente homólogo a la secuencia peptídica de referencia, pero que tiene una secuencia de aminoácidos diferente a la de la secuencia de referencia porque uno o más aminoácidos se han modificado químicamente o se han sustituido por análogos de aminoácidos. Este término también incluye polipéptidos glicosilados.

Tabla 1

Residuos originales	Ejemplos de sustituciones
Ala (A)	Val, Leu, Ile
Arg (R)	Lys, Gln, Asn
Asn (N)	Gln
Asp (D)	Glu
Cys (C)	Ser, Ala
Gln (Q)	Asn
Glu (E)	Asp
Gly (G)	Pro, Ala
His (H)	Asn, Gln, Lys, Arg
Ile (I)	Leu, Val, Met, Ala, Phe
Leu (L)	Ile, Val, Met, Ala, Phe
Lys (K)	Arg, Gln, Asn
Met (M)	Leu, Ile, Phe
Phe (F)	Leu, Val, Ile, Ala, Tyr
Pro (P)	Ala, Gly
Ser (S)	Thr, Ala, Cys
Trp (W)	Phe, Tyr
Thr (T)	Ser
Tyr (Y)	Trp, Phe, Thr, Ser
Val (V)	Ile, Met, Leu, Phe, Ala

En general, las sustituciones para uno o más aminoácidos presentes en el polipéptido original deben hacerse de manera conservadora. Los polipéptidos de la invención, los fragmentos de polipéptidos y sus variantes son capaces de inducir tolerancia a un antígeno/alérgeno cuando se los administra *in vivo*.

5 Mediante "fragmento tolerogénico" se hace referencia a un fragmento que puede inducir tolerancia a los antígenos/alérgenos descritos en la presente solicitud. En ciertas realizaciones, un fragmento tolerogénico puede inducir tolerancia a antígenos/alérgenos, al menos, así como también puede hacerlo el polipéptido VacA de longitud completa y, en ciertas realizaciones, puede ser más efectivo que el polipéptido VacA de longitud completa a la hora de inducir tolerancia. Sin embargo, en ciertas realizaciones, un fragmento tolerogénico induce la tolerancia a antígenos/alérgenos, pero podría no inducir tolerancia tan efectivamente como lo haría el polipéptido VacA de longitud completa. Dichos fragmentos tolerogénicos incluso pueden ser útiles en la presente invención, particularmente donde dichos fragmentos tolerogénicos tienen otras propiedades ventajosas, tales como, entre otras, facilidad de preparación o purificación, en comparación con el polipéptido VacA de longitud completa. Como lo reconocerá un experto en la materia, se puede usar una variedad de ensayos conocidos para evaluar la inducción de tolerancia, incluyendo la medición de respuestas de hipersensibilidad de tipo demorado (DTH), la medición de producciones de citocinas mediante ELISA u otros procedimientos, la proliferación de células T o ensayos de citotoxicidad, ensayos de proliferación de células, la producción de anticuerpos y similares. Dichos ensayos son conocidos en la técnica y se describen, por ejemplo, en Current Protocols in Immunology, Editado por: Coligan y col., 2001 John Wiley & Sons, NY, N.Y.; Ausubel y col., 2001, Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publ. Assoc. Inc. & John Wiley & Sons, Inc., NY, N.Y.).

Los polipéptidos de la invención se preparan usando cualquiera de una variedad de técnicas sintéticas y/o recombinantes bien conocidas, siendo estas últimas descritas adicionalmente a continuación. Los polipéptidos, porciones y otras variantes generalmente de menos de 150 aminoácidos pueden generarse por medios sintéticos, usando técnicas bien conocidas para aquellos con un conocimiento ordinario en la técnica. En un ejemplo ilustrativo, dichos polipéptidos se sintetizan usando cualquiera de las técnicas de fase sólida comercialmente disponibles, como el procedimiento de síntesis de fase sólida de Merrifield, donde los aminoácidos se agregan secuencialmente a una cadena de aminoácidos creciente (Merrifield, 1963, J. Am. Chem. Soc., 85:2149-2146).

El término "farmacéuticamente aceptable" se refiere a un vehículo compuesto por un material que no es biológicamente o de otra manera indeseable.

El término "vehículo" se refiere a cualquier componente presente en una formulación farmacéutica que no sea el agente activo y, por lo tanto, incluye diluyentes, aglutinantes, lubricantes, desintegrantes, cargas, agentes colorantes, agentes humectantes o agentes emulsionantes, agentes de tamponamiento del pH, conservantes y similares.

Como se usa en el presente documento, "tratamiento" y "tratar" y similares generalmente significan obtener un efecto farmacológico y fisiológico deseado. El efecto puede ser profiláctico en términos de prevenir o prevenir parcialmente una enfermedad, síntoma o afección de la misma y/o puede ser terapéutico en términos de una cura parcial o completa de una enfermedad, afección, síntoma o efecto adverso atribuido a la enfermedad. El término "tratamiento" como se usa en esta invención cubre cualquier tratamiento de una enfermedad en un mamífero, en particular un humano, y no necesariamente significa que implica la cura o la abolición completa de los síntomas, sino que se refiere a cualquier tipo de tratamiento que imparte un beneficio a un paciente e incluye: (a) prevenir que se produzca la enfermedad en un sujeto que puede estar predispuesto a la enfermedad pero que aún no se ha diagnosticado que la tiene, por ejemplo, basándose en los antecedentes familiares; estado de sobrepeso o edad; (b) inhibir la enfermedad, es decir, detener su desarrollo; o aliviar la enfermedad, es decir, causar una regresión de la enfermedad y/o sus síntomas o afecciones, tal como la mejora o reparación del daño.

En particular, la prevención y/o el tratamiento de trastornos alérgicos según la invención comprende la normalización o la disminución de la sensibilidad al antígeno/alérgeno de la persona. El término "tratamiento" hace referencia a cualquier tipo de tratamiento o prevención que imparte un beneficio a un sujeto afectado por o en riesgo de desarrollar una respuesta inmune de hipersensibilidad a un alérgeno/alérgeno de interés, incluyendo la mejora en la condición del sujeto (por ejemplo, en uno o más síntomas), la demora en la aparición de los síntomas o la ralentización de la progresión de los síntomas, etc. Según un aspecto particular, la prevención y/o el tratamiento de trastornos alérgicos según la invención comprende la inducción de tolerancia periférica a alérgenos.

Según un aspecto, los efectos de un tratamiento según la invención se pueden observar a través de uno o más de los siguientes: prevención o reducción de la hiperresponsividad de las vías respiratorias, prevención o reducción de la penetración celular en los tubos bronquiales (típicamente a través de los mecanismos funcionales para inhibir la producción de IL-4 que es una citocina secretada por células Th2 y que está involucrada en mecanismos inflamatorios de reacción alérgica), prevención o reducción de la inflamación pulmonar, de la eosinofilia broncoalveolar, de la metaplasia de células calciformes, de la producción de mucosa y la producción de citocinas Th2 que son sellos distintivos del asma inducida por alérgenos. El éxito del tratamiento también puede ser evidente mediante la observación de la generación de IL-10 en linfocitos regulatorios u otras células o en los pulmones completos (BALF, septo) o en el suero, lo que puede evaluarse mediante un ELISA. El término "sujeto", como se usa en el presente documento, se refiere a mamíferos. Por ejemplo, los mamíferos contemplados por la presente invención incluyen seres humanos, primates, animales domésticos tales como ganado bovino, ganado ovino, cerdos, caballos, roedores de

laboratorio y similares.

El término "sujetos o personas de alto riesgo" se refiere a sujetos que están en riesgo de desarrollar hipersensibilidad a alérgenos/antígenos, en particular de desarrollar asma atópica o inducida por alérgenos. Aquellos incluyen la predisposición genética, tal como una historia familiar de enfermedades atópicas en parientes cercanos, una madre que fumaba durante el embarazo, y un entorno de fumadores después de nacer, infecciones respiratorias virales, como por el virus sincitial respiratorio y el rinovirus, así como también exposición ocupacional a alérgenos ocupacionales conocidos (por ejemplo, harina). El riesgo de predisposición a desarrollar hipersensibilidad a alérgenos/antígenos, en particular, de desarrollar asma atópica o inducida por alérgenos, se puede evaluar mediante el registro de la historia completa, incluyendo la historia familiar del paciente, una prueba cutánea, la evaluación de la IgE en suero, los niveles de IgE en suero específicos y la medición de la hiperreactividad de las vías respiratorias. El término "eficacia" de un tratamiento o procedimiento según la invención puede medirse basándose en cambios en el transcurso de la enfermedad o afección en respuesta a un uso o un procedimiento según la invención. Por ejemplo, la eficacia de un tratamiento o procedimiento según la invención puede medirse mediante la medición del nivel de tolerancia de un sujeto antes y después del tratamiento, por ejemplo, como se describe a continuación.

El término "tolerancia" como se hace referencia en esta invención se define como la falta de respuesta inmune a un antígeno/alérgeno, generalmente un antígeno/alérgeno implicado en la causa de una enfermedad. Si bien la tolerancia se puede inducir mediante la administración de antígenos/alérgenos a través de diferentes vías, la tolerancia oral hace referencia a la administración por vía oral de la composición, que resulta en la inducción de la tolerancia a un antígeno/alérgenos, cuando se los administra *in vivo*. La inducción de tolerancia puede, por lo tanto, monitorizarse mediante varias técnicas, que incluyen: medir la respuesta al alérgeno en una prueba de pinchazo en la piel, la evaluación de la IgE específica del alérgeno y la evaluación de respuestas específicas de las células T para el alérgeno (proliferación y producción de citocinas).

El término "cantidad tolerogénicamente efectiva", como se usa en esta invención, se refiere a una cantidad de al menos un polipéptido seleccionado de entre VacA, un fragmento de VacA y una variante de VacA o una formulación farmacéutica de la misma, según la invención, que suscita una respuesta tolerogénica detectable en un sujeto al que se le está administrando el dicho sujeto.

Como se usa en esta invención, el término "antígeno" se refiere a una sustancia extraña que, al ser introducida en el cuerpo, dispara una respuesta del sistema inmune, que resulta en la producción de un anticuerpo como parte de la defensa del cuerpo contra la enfermedad.

El término "alérgeno" implica que designa un antígeno capaz de eluciar una respuesta inmune de hipersensibilidad (como se describe en esta invención) en un individuo, como en un animal o un humano. El alérgeno puede ser un alérgeno sensibilizante o un alérgeno de reacción cruzada.

El término "no desnaturalizado" hace referencia a la ausencia de desnaturalización observada en la proteína (por ejemplo, la estructura). Esto se puede verificar mediante cualquier procedimiento bien conocido en la técnica, tal como la electroforesis en gel, la filtración en gel o la espectrometría de masas.

Los polipéptidos de la invención y sus formulaciones tienen propiedades inmunomoduladoras que pueden ser útiles para las estrategias de tolerización, tales como en los trastornos alérgicos y, en particular, el asma alérgica. Los polipéptidos de la invención y las formulaciones del mismo pueden ser útiles, en particular, en tratamientos de tolerización para la prevención contra el asma en personas de alto riesgo.

*Polipéptidos VacA de la invención en forma de extractos de células muertas o péptidos purificados* los polipéptidos VacA de la invención incluyen las sustancias descritas en la descripción detallada y pueden administrarse en diferentes formas, incluyendo en una forma de un extracto celular (muerto) que contiene VacA o en una forma de un polipéptido sintético purificado (producido de manera recombinante u obtenido por síntesis).

En un aspecto, la presente invención proporciona los polipéptidos VacA de la invención en la forma de un extracto de células muertas de bacterias de *H. pylori*.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona los polipéptidos VacA de la invención en la forma de un extracto de células bacterianas de *H. pylori*, en el que las células bacterianas son células bacterianas de *H. pylori* muertas y no desnaturalizadas.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona los polipéptidos VacA de la invención en la forma de un extracto de células muertas bacterianas de *H. pylori*, en el que la cepa bacteriana de *H. pylori* es PMSS1 (Arnold y col. 2011, *Gastroenterology*, 140, 199-209), o cualquier otro aislado de un paciente humano útil de *H. pylori*, o mutantes de dichos aislados que carecen de uno o más genes debido a la eliminación de genes o la mutagénesis de inserción o mutaciones de punto.

Los procedimientos que se pueden usar para preparar el extracto celular de *H. pylori* son conocidos para el experto



en la materia e incluyen el uso de medios físicos que producen bacterias celulares muertas no desnaturalizadas, es decir, en condiciones no desnaturalizantes, como las descritas en Laemmli y col., 1970, Nature, 277, 680-, tales como, por ejemplo, el uso de la así llamada "prensa celular de presión francesa" (Kelemen y col., 1979, J. Cell Sci. 35:431-141).

De manera alternativa, se puede aplicar la ultrasonificación y otros procedimientos, tal como la liofilización extendida, los ciclos repetidos de congelación y descongelación, liofilización, técnicas de homogeneización y otras técnicas de alteración celular que usan fuerzas físicas, siempre y cuando preserven las proteínas de *H. pylori* en forma nativa, como se describe en Bhaduri y col., 1983, Appl. Environ. Microbiol., 46 (4): 941-3).

En otro aspecto adicional, la presente invención proporciona los polipéptidos VacA de la invención en la forma de un extracto de células bacterianas de *H. pylori* que puede obtenerse mediante un procedimiento que comprende las etapas de:

- (i) cosechar un cultivo de células de bacterias vivas;
- (ii) someter las bacterias cosechadas a varios ciclos de congelación/descongelación en agua o una solución acuosa de una sal;
- (iii) alterar las células bacterianas bajo alta presión, por ejemplo, usando una prensa celular de presión francesa;
- (iv) recolectar el extracto celular.

En otro aspecto adicional, la presente invención proporciona los polipéptidos VacA de la invención en la forma de un extracto de células bacterianas de *H. pylori* que pueden obtenerse mediante un procedimiento tal como se describió antes, el cual comprende una etapa adicional de eliminar el residuo celular después de o al recolectar el extracto celular.

En otro aspecto, la presente invención proporciona los polipéptidos VacA de la invención en la forma de un polipéptido VacA purificado.

En otro aspecto adicional, la presente invención proporciona los polipéptidos VacA de la invención en la forma de un polipéptido VacA purificado recombinante.

En otro aspecto adicional, la presente invención proporciona los polipéptidos VacA de la invención en la forma de una composición de polipéptidos VacA esencialmente pura, es decir, esencialmente libres de otros componentes de antígenos de extracto nativo como CagA y/o NAP (proteína de activación de neutrófilos). Por ejemplo, dicha composición de polipéptidos VacA esencialmente pura puede obtenerse de cepas de *H. pylori* mutadas que tienen los otros genes de componentes desactivados, por ejemplo, donde el gen CagA está desactivado.

La preparación del polipéptido VacA, según la invención, de manera recombinante, se puede lograr mediante varias técnicas conocidas en la técnica.

La secuencia de codificación ácido nucleico para dicho polipéptido VacA, del mismo, puede insertarse en el vector de expresión recombinante mediante los procedimientos bien conocidos para un experto en la materia, tales como, por ejemplo, los que se describen en MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL, Sambrook y col., 4ta Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y., 2001.

La introducción del vector recombinante en una célula huésped puede realizarse según procedimientos que se conocen bien por un experto en la materia, tales como los descritos en BASIC METHODS IN MOLECULAR BIOLOGY, Davis y col., 2ª ed., McGraw-Hill Professional Publishing, 1995, y MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL, *supra*, tal como transfección por fosfato de calcio, transfección por DEAE dextrano, transfección, microinyección, transfección por lípidos catiónicos, electroporación, transducción o infección.

La célula huésped puede ser, por ejemplo, células bacterianas tales como *E. coli*, células de hongos tal como las células de levaduras y células de *Aspergillus*, *Streptomyces*, células de insectos, células de ovario de hámster chino (CHO), la línea celular de ratón C127, la línea celular BHK de células de hámster sirio y células de riñón embrionario humano 293 (HEK 293). En una realización particular, la célula huésped es una célula CHO o una célula HEK 293.

Las células huésped pueden usarse, por ejemplo, para expresar un polipéptido de la invención. Después de la purificación por procedimientos estándar, el polipéptido de la invención puede usarse en un procedimiento descrito posteriormente en el presente documento.

Por ejemplo, cuando se emplean sistemas de expresión que secretan la proteína recombinante, el medio de cultivo puede concentrarse primero usando un filtro de concentración de proteína disponible comercialmente, por ejemplo, una unidad de ultrafiltración. Después de la etapa de concentración, el concentrado se puede aplicar a una matriz de purificación tal como un medio de filtración en gel. Como alternativa, se puede emplear un intercambio aniónico y/o una resina de afinidad. Las matrices pueden ser acrilamida, agarosa, dextrano, celulosa u otros tipos comúnmente empleados en la purificación de proteínas. Como alternativa, se puede emplear una etapa de intercambio catiónico.

Algunas o todas las etapas de purificación anteriores, en diversas combinaciones, se conocen bien y pueden emplearse para proporcionar una proteína recombinante sustancialmente homogénea.

5 Los polipéptidos recombinantes producidos en un cultivo bacteriano pueden aislarse mediante la alteración inicial de las células huésped, la centrifugación, la extracción de los gránulos celulares si se trata de un polipéptido insoluble, o del líquido sobrenadante si se trata de un polipéptido soluble, seguida de una o más etapas de concentración, desalado, intercambio iónico, purificación por afinidad o cromatografía de exclusión por tamaño. Las células microbianas pueden interrumpirse por cualquier procedimiento conveniente, incluido el ciclo de congelación-descongelación, sonicación, interrupción mecánica, o el uso de otros agentes de lisis celular química o física,  
10 incluyendo detergentes.

En otro aspecto, el polipéptido VacA de la invención se puede preparar de manera recombinante como una proteína de longitud completa, como se describe en McClain y col., 2003, J. Biol. Chem., 278:12101-12108, o a través de la reconstitución de sus dos dominios, p33 y p55, en la presencia de detergentes, como se describe en Gonzalez-Rivera  
15 y col., 2010, Biochemistry 49:5743-5752 y Gangwer y col., 2007, PNAS, 104(41):16293-8.

En otro aspecto, la presente invención proporciona los polipéptidos VacA descritos en esta invención. El polipéptido abarcado por la presente invención exhibirá típicamente al menos alrededor del 90, el 91, el 92, el 93, el 94, el 95, el 96, el 97, el 98 o el 99% o más identidad (determinada como se describe a continuación), a lo largo de su longitud,  
20 con secuencias de polipéptidos establecidas en esta invención.

En otro aspecto, los polipéptidos VacA se pueden usar asociados con una sal farmacéuticamente aceptable o una combinación de sales farmacéuticamente aceptables.

25 *Composiciones*

La invención proporciona polipéptidos VacA, composiciones farmacéuticas de los mismos, que son útiles para tratar un sujeto, en particular, un mamífero, y, más particularmente, un paciente humano que sufre de una hipersensibilidad a un alérgeno/antígeno o que está en riesgo de desarrollar hipersensibilidad a un antígeno/alérgeno, en particular,  
30 asma atópica o inducida por alérgenos o una alergia alimentaria.

Según otro aspecto, la invención proporciona polipéptidos VacA, composiciones farmacéuticas de los mismos, que son útiles para controlar la hipersensibilidad a un antígeno/alérgeno en un sujeto, en particular, para inducir una tolerancia a dicho antígeno/alérgeno.  
35

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden contener al menos un polipéptido VacA según la invención en cualquier forma descrita en esta invención. Según un aspecto particular, las composiciones farmacéuticas de la invención son composiciones tolerogénicas. En un aspecto particular, las composiciones farmacéuticas de la invención son composiciones tolerogénicas capaces de inducir una tolerancia periférica y disminuir la respuesta inmune a los  
40 antígenos a través de la inmunoregulación en una realización particular, las composiciones farmacéuticas de la invención comprenden al menos un polipéptido VacA, una variante o fragmento del mismo que se encuentra esencialmente libre de componentes inmunogénicos tales como el epítope o alérgeno inmunogénico.

En otro aspecto particular, las composiciones farmacéuticas de la invención son composiciones tolerogénicas que comprenden al menos un polipéptido VacA, en combinación con alérgenos conocidos, tales como alérgenos alimentarios, como los que derivan de la leche, el maní, el pescado o los mariscos, el trigo (gluten), la soja, el huevo o similares.  
45

En otro aspecto particular, las composiciones farmacéuticas de la invención son composiciones tolerogénicas que comprenden al menos un polipéptido VacA en combinación con alérgenos conocidos, tales como los alérgenos derivados del polen como los del polen del pasto, de los árboles, la maleza y similares. Según un aspecto particular, las composiciones tolerogénicas tienen la capacidad de inducir tolerancia inmune específicas de alérgenos y disminuir la respuesta inmune a través de la inmunoregulación (conocida como desensibilización o hiposensibilización, o inmunoterapia.  
50

Según un aspecto particular, al menos un polipéptido VacA de la invención se administra en combinación con alérgenos conocidos, en particular, alérgenos alimentarios. La combinación puede lograrse mediante la administración concomitante de dicho al menos un polipéptido VacA y del alérgeno o la administración de dicho al menos un polipéptido VacA y el alérgeno dentro de la misma formulación simple o la administración de dicho al menos un polipéptido VacA cuando está covalentemente enlazado a algún componente inmunogénico de dicho alérgeno.  
55

Las composiciones de esta invención pueden comprender además uno o más ingredientes adicionales farmacéuticamente aceptables, tales como alumbre, estabilizantes, agentes antimicrobianos, tampones, agentes colorantes, agentes saporíferos, adyuvantes y similares.  
60

Las composiciones según la invención, junto con un adyuvante, vehículo, diluyente o excipiente empleado  
65

convencionalmente, pueden colocarse en forma de composiciones farmacéuticas y dosis unitarias de los mismos, y en dicha forma pueden emplearse como sólidos, tales como comprimidos o cápsulas cargadas o líquidos tales como soluciones, suspensiones, emulsiones, elixires o cápsulas cargadas con los mismos, todo para su uso oral, o en forma de soluciones inyectables estériles para uso parenteral (incluso subcutáneo) mediante inyección o infusión continua.

5 Las composiciones inyectables se basan típicamente en una solución salina estéril inyectable o una solución salina tamponada con fosfato, u otros vehículos inyectables conocidos en la técnica. Dichas composiciones farmacéuticas y formas de dosificación unitarias de las mismas comprenden ingredientes en proporciones convencionales, con o sin compuestos o principios activos adicionales, y dichas formas de dosificación unitarias pueden contener cualquier cantidad eficaz adecuada del principio activo proporcional al intervalo de dosis diaria prevista que se va a emplear.

10 Según una realización particular, las composiciones según la invención son inyectables.

Las composiciones de esta invención pueden ser formulaciones líquidas incluyendo, entre otras, suspensiones acuosas u oleosas, soluciones, emulsiones, jarabes y elixires. Las composiciones también pueden formularse como un producto seco para su reconstitución con agua u otro vehículo adecuado antes de su uso. Tales preparaciones

15 líquidas pueden contener aditivos incluyendo, entre otros, agentes de suspensión, agentes emulsionantes, vehículos no acuosos y conservantes. Los agentes de suspensión incluyen, entre otros, jarabe de sorbitol, metil celulosa, jarabe de glucosa/azúcar, gelatina, hidroxietilcelulosa, carboximetil celulosa, gel de estearato de aluminio y grasas comestibles hidrogenadas. Los agentes emulsionantes incluyen, entre otros, lecitina, monooleato de sorbitán y goma arábica. Los conservantes incluyen, entre otros, p-hidroxibenzoato de metilo o propilo y ácido sórbico. Los agentes de dispersión o humectantes incluyen, entre otros, poli(etilen glicol), glicerol, albúmina de suero bovino, Tween®, Span®.

20

Materiales adicionales, así como técnicas de procesamiento de la formulación y similares, se exponen en la Parte 5, de *Part 5* del documento de Remington "The Science and Practice of Pharmacy", 22da Edición, 2012, Universidad de Ciencias de Filadelfia, Lippincott Williams & Wilkins.

25

Las composiciones de esta invención también se pueden formular como una preparación de liberación lenta, que se puede administrar por implante o mediante inyección intramuscular.

Las composiciones sólidas de esta invención pueden estar en forma de comprimidos o pastillas para chupar formuladas de manera convencional. Por ejemplo, los comprimidos y cápsulas para administración por vía oral pueden contener excipientes convencionales, incluyendo, entre otros, agentes de unión, cargas, lubricantes, disgregantes y agentes humectantes. Los agentes de unión incluyen, entre otros, jarabe, goma arábica, gelatina, sorbitol, tragacanto, mucilago de almidón y polivinilpirrolidona. Las cargas incluyen, entre otras, lactosa, azúcar, celulosa microcristalina, almidón de maíz, fosfato de calcio y sorbitol. Los lubricantes incluyen, entre otros, estearato de magnesio, ácido esteárico, talco, polietilenglicol y sílice. Los disgregantes incluyen, entre otros, almidón de patata y glicolato de almidón

30

35

sódico. Los agentes humectantes incluyen, entre otros, laurilsulfato sódico. Los comprimidos pueden estar recubiertos según los procedimientos bien conocidos en la técnica.

40

Las composiciones de esta invención también se pueden formular para inhalación, que pueden estar en una forma que incluye, entre otras, una disolución, suspensión o emulsión que se pueden administrar como un polvo en seco o en forma de aerosol o rocío usando un propulsor. Los compuestos de esta invención también se pueden administrar en formas de liberación sostenida o de sistemas de administración de fármacos de liberación sostenida.

45

En ciertas realizaciones, el o los compuestos terapéuticos se administran directamente como un aerosol presurizado o una formulación nebulizada para los pulmones del paciente mediante inhalación. Dichas formulaciones pueden contener cualquiera de una variedad de propulsores de aerosol conocidos útiles para la administración endopulmonar y/o inhalación intranasal. Además, puede haber agua presente, con o sin una variedad de cosolventes, tensoactivos, estabilizadores (por ejemplo, antioxidantes, agentes quelantes, gases inertes y búferes). Para las composiciones a ser administradas desde múltiples contenedores de dosis, típicamente se añaden agentes antimicrobianos. Dichas composiciones también se filtran y esterilizan generalmente, y pueden liofilizarse para proporcionar una estabilidad

50

realizada y mejorar la solubilidad.

55

La composición farmacéutica de la invención puede consistir en unidades de dosificación que se pueden administrar como un aerosol. El término aerosol se usaron para denotar una variedad de sistemas que van desde aquellos de naturaleza coloidal a sistemas que consisten en paquetes presurizados. El suministro puede ser mediante un gas licuado o comprimido o efectuarse mediante un sistema de bomba adecuado que dispensa los ingredientes activos. Los aerosoles de los compuestos de la invención se pueden suministrar en sistemas de una sola fase, bifásicos o trifásicos, a fin de suministrar el o los ingredientes activos. El suministro del aerosol incluye los contenedores, activadores, válvulas, subcontenedores y similares, que son necesarios y juntos forman un kit. Una persona con conocimientos ordinarios en la técnica, sin la experimentación indebida, puede determinar los aerosoles preferidos. Según un aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica oral. Según un aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica inyectable.

60

Según un aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica inyectable.

65

Como se describe en otra parte de esta invención, en ciertas realizaciones, una dosis profiláctica/terapéuticamente

efectiva de un polipéptido VacA, una composición farmacéutica de la misma, como se usa en esta invención, es una dosis suficiente para inducir tolerancia a un antígeno/alérgeno medido usando cualquiera de una variedad de procedimientos, como se describe en esta invención. En una realización adicional, la dosis profiláctica/terapéuticamente efectiva de un polipéptido VacA, una composición farmacéutica de la misma, como se usa en esta invención, es una dosis suficiente para inducir tolerancia de las células T a un antígeno/alérgeno según se haya medido usando cualquiera de una variedad de procedimientos como se describen en esta invención, como ensayos de liberación de citocinas, tinción de citocinas intracelulares y citometría de flujo, y similares. También se pueden usar ensayos de células T funcionales, ensayos de supresión de células T que miden la supresión de la proliferación o la secreción de citocinas mediante células T efectoras conjuntamente cultivadas.

#### 10 *Modo de administración*

Los polipéptidos y composiciones de esta invención se pueden administrar de cualquier manera, incluyendo su inyección intravenosa, intraperitoneal, subcutánea, por vía oral, administración intranasal, instilación intrapulmonar o mediante inhalación. En ciertas realizaciones, también se puede usar una composición de diferentes rutas.

La dosis exacta de polipéptidos y composiciones es determinada directamente por un experto en la materia en función de estas demostraciones, junto con la potencia del polipéptido y la composición específicos, la edad, el peso, el sexo y la condición fisiológica del sujeto.

A modo de ejemplo, en varias realizaciones, la dosificación de un polipéptido y composición tolerizantes requeridas para lograr (o mantener) la tolerancia en un sujeto es baja en relación con los regímenes de tolerización tradicional. Por ejemplo, tan poco como una o unas pocas dosis (por ejemplo, menos de alrededor de tres, menos de alrededor de cinco dosis) de agente pueden ser suficientes para inducir la tolerancia. A modo de ejemplo, una dosis semanal de alrededor de 5 a alrededor de 500 mg puede usarse para lograr los efectos de tolerización.

Según una realización, los polipéptidos y las composiciones de la invención se administran antes o al inicio de la aparición de los síntomas alérgicos o la exposición a la provocación de alérgenos. Por ejemplo, los polipéptidos y las composiciones de la invención son administrados antes de que el sujeto se someta al o los alérgenos, típicamente en el caso de pacientes en riesgo de sufrir un trastorno alérgico estacional, como alergia al polen, o antes de que el paciente ya haya desarrollado síntomas alérgicos, como en el caso de infantes en riesgo de sufrir un trastorno alérgico (por ejemplo, riesgo genético o ambiental), como el asma atópica. La administración durante la preñez (por vía oral, intranasal o cualquier otra vía) a madres preñadas en riesgo de atopía también se puede prever, ya sea sola o en combinación con el tratamiento continuado del infante recién nacido, como se describe en Pfefferie y col., 2013, J. Allergy Clin. Immunol., 131(6):1453-63.

Según una realización adicional, los polipéptidos y composiciones de la invención se administran al menos dos semanas (por ejemplo, desde alrededor de dos a alrededor de 12 semanas) antes del período usual de exposición a alérgenos. Según una realización adicional, los polipéptidos y composiciones de la invención se administran mediante administraciones repetidas antes y/o hasta y/o a lo largo de la exposición a alérgenos, como, por ejemplo, desde alrededor de una o dos veces a la semana a alrededor de una dos veces al mes. En el caso de la administración a madres preñadas con el objetivo de reducir el asma y el riesgo alérgico en el recién nacido, la administración debería iniciarse temprano, idealmente ya en el primer trimestre (*Pfefferie y col., 2013, supra*).

#### 45 *Combinación*

Según la invención, un polipéptido Vac A y las formulaciones farmacéuticas del mismo pueden administrarse solos o en combinación con un coagente útil en la prevención y/o el tratamiento de la hipersensibilidad, en particular, trastornos alérgicos tales como el asma atópica, por ejemplo, un coagente seleccionado de entre un broncodilatador, un alérgeno administrado de manera conjunta usado para la hiposensibilización con un coagente útil en la tolerización a un antígeno/alérgeno, por ejemplo, anticuerpos u otros reactivos que interfieren con la coestimulación o la inhibición conjunta (por ejemplo, mediante PD1, CTLA-4, CD28, CD40 y otros expresados en linfocitos y otras células inmunes).

La invención abarca la administración de un polipéptido Vac A y formulaciones farmacéuticas del mismo a un individuo antes de, de manera simultánea o secuencialmente con otros regímenes terapéuticos/profilácticos/inmunoterapéuticos o coagentes en la prevención o el tratamiento de la hipersensibilidad al antígeno/alérgeno, en particular, trastornos alérgicos tales como el asma atópica (por ejemplo, el régimen de tolerización combinado), en una cantidad terapéuticamente efectiva. Un polipéptido Vac A, la formulación farmacéutica del mismo que se administra simultáneamente con dichos coagentes, se puede administrar en la(s) misma(s) o en diferentes composiciones y mediante la(s) misma(s) o diferentes vías de administración.

Según otro aspecto, los polipéptidos Vac A según la invención se pueden usar en un régimen de inmunoterapia en el que los polipéptidos de Vac A según la invención se asocian con al menos un antígeno de una amplia variedad de antígenos (alérgenos). El extracto de *H. pylori* o los polipéptidos VacA podrían mezclarse y administrarse con alérgenos de ácaros del polvo del hogar, alérgenos derivados del polen o cualquiera de os alérgenos alimentarios antes enumerados (derivados de maní, leche, soja u otros) o cualquier otro alérgeno, a fin de promover la

desensibilización (hiposensibilización) de una manera específica para los alérgenos (Khinchi y col., 2004, *Allergy*, 59(1):45-53).

5 Según una realización, se proporciona una formulación farmacéutica que comprende un polipéptido Vac A combinado con al menos un coagente útil en la prevención y/o el tratamiento de la hipersensibilidad, en particular, trastornos alérgicos tales como el asma atópica, y al menos un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 La dosis administrada, como dosis únicas o múltiples, a un individuo variará dependiendo de una diversidad de factores, incluyendo las propiedades farmacocinéticas, las condiciones y características del paciente (sexo, edad, peso corporal, salud, tamaño), la magnitud de los síntomas, tratamientos simultáneos, frecuencia de tratamiento, y el efecto deseado.

15 *Pacientes*

En una realización, los pacientes según la invención son pacientes que sufren de un trastorno seleccionado de un trastorno alérgico tal como el asma inducida por alérgenos o atópica (eccema), la dermatitis atópica (fiebre del heno), la rinitis atópica, la conjuntivitis alérgica, alergia alimentaria, alergia ocupacional, aspergilosis broncopulmonar alérgica y la neumonitis por hipersensibilidad.

20 En otra realización, los pacientes según la invención son pacientes en riesgo de sufrir un trastorno alérgico.

En otra realización adicional, los pacientes según la invención sufren de asma atópica o inducida por alérgenos.

25 En otra realización, los pacientes según la invención son pacientes en riesgo de sufrir un trastorno alérgico estacional tal como alergia al polen, incluyendo la alergia al polen de los alimentos.

En otra realización adicional, los pacientes según la invención son niños o infantes, por ejemplo, infantes antes de la edad de alrededor de tres años.

30 En otra realización adicional, los pacientes según la invención son madres preñadas con un alto riesgo de atopia o madres preñadas de niños con un alto riesgo de atopia, que pueden tratarse durante la preñez.

35 En otra realización adicional, los pacientes según la invención sufren un trastorno alérgico seleccionado de entre dermatitis atópica, rinitis atópica y conjuntivitis alérgica.

En otra realización adicional, los pacientes según la invención sufren una alergia alimentaria.

40 *Uso según la invención*

Según un aspecto de la presente invención, los polipéptidos de la invención son útiles en un procedimiento para tolerizar a un sujeto o inducir una respuesta de tolerización en dicho sujeto a al menos un antígeno/alérgeno mediante el uso de un polipéptido o una formulación o combinación como en esta invención. El polipéptido, la formulación o la combinación según la invención se puede administrar en una cantidad y según un régimen de dosificación efectivos para inducir tolerancia en un sujeto.

En una realización de la invención el trastorno alérgico es asma atópica.

50 En una realización adicional de la invención, los polipéptidos según la invención son útiles para un sujeto predispuesto o en riesgo de desarrollar un trastorno alérgico, en particular, asma atópica, por ejemplo, en función de una historia familiar, un estado de sobrepeso o la edad.

55 Según otra realización, la invención se refiere a una formulación farmacéutica que comprende un polipéptido seleccionado de entre una proteína Vac A, combinada con al menos un coagente útil en la prevención, represión y/o tratamiento de un trastorno alérgico, en particular, asma atópica y/o para inducir una respuesta de tolerización a un alérgeno, y al menos un vehículo, un diluyente o un excipiente farmacéuticamente aceptable.

En otra realización, se proporciona un uso o un procedimiento según la invención, en la que un polipéptido o una combinación de la invención se usarán en combinación con un alérgeno.

60 En otra realización, se proporciona un polipéptido o una composición según la invención, en la que un polipéptido o una composición del mismo se administrará por vía oral, intranasal, intrapulmonar, parenteral o sistémica. En otra realización, se proporciona un polipéptido o una composición según la invención, en la que VacA es VacA s1m1.

65 En otra realización, se proporciona un polipéptido o una composición según la invención, en la que VacA es VacA s2m2.

En otra realización, se proporciona un polipéptido o una composición según la invención, en la que una proteína Vac A es una proteína Vac A que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre las SEQ ID NO: 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 y 11.

5 En otra realización, se proporciona un polipéptido o una composición según la invención, en la que una proteína Vac A tiene una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 o que tiene al menos el 90% de identidad con la misma.

En otra realización, se proporciona un polipéptido o una composición según la invención, en la que una proteína Vac A tiene una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2 o que tiene al menos el 90% de identidad con la misma.

10 Los ejemplos que ilustran la invención se describirán en lo sucesivo de manera más detallada y en referencia a las realizaciones representadas en las Figuras.

## EJEMPLOS

15 Las siguientes abreviaturas se refieren respectivamente a las definiciones que se indican a continuación:

20 **BALF** (fluido de lavado broncoalveolar), **BCA** (ensayo ácido bicinónico), **EDTA** (ácido etileno-diaminotetraacético), **FCS** (suero fetal bovino), **GM-CSF** (factor de estimulación de colonias de granulocitos-macrófagos), **H&E** (hematoxilina y eosina, **i.p.** (intraperitonealmente), **MCTP1** (proteasa de mastocitos PI), **MLN** (nódulo linfático mesentérico), **PAS** (ácido peryódico de Schiff), **PBS** (tampón fosfato salino), **RPMI** (Royal Park Memorial Institute (medio de cultivo).

### Ejemplo 1: Extracto de células muertas de *H. pylori* en asma inducida por alérgenos

25 *Para evaluar si la administración regular de composiciones de la invención proporcionada en la forma de un extracto de células muertas de *H. pylori* protege contra respuestas inducidas por alérgenos, como el asma, se usó el siguiente modelo: a los ratones se les administraron dosis semanales por vía intragástrica de extracto de células muertas enteras (preparadas como se describe a continuación) a partir del día 7 de edad en adelante, antes de someterlos a la sensibilización con ovoalbúmina y a la provocación con ovoalbúmina con alumbre como adyuvante, como se describe a continuación. Los ratones de control que habían recibido ovoalbúmina, pero no el extracto de células muertas de *H. pylori*, desarrollaron hiporresponsividad de las vías respiratorias a la metacolina (Fig. 1A,B), infiltración celular inmune broncoalveolar y eosinofilia, según se midió mediante la tinción y la cuantificación de las células cosechadas por lavado broncoalveolar (Fig. 1C,D), así como también inflamación pulmonar histológicamente evidente y metaplasia de células calciformes, según se determinó mediante la evaluación histológica y la puntuación de las secciones de parafina teñidas con H&E y PAS (Fig. 1 E-G). La reestimulación de las preparaciones pulmonares de células individuales con ovoalbúmina indujo la producción de altos niveles de las citocinas Th2 IL-5 e IL-13, según se midió mediante un ELISA y una matriz de esferas citométricas (siguiendo las instrucciones del fabricante, R&D Biosystems; BD Biosciences) (Fig. 1H,I). En cambio, los ratones que recibieron el extracto de células muertas de *H. pylori* fueron protegidas contra la hiperresponsividad de las vías respiratorias (Fig. 1A,B), y mostraron niveles significativamente más bajos de inflamación broncoalveolar y pulmonar, eosinofilia y metaplasia de las células calciformes (Fig. 1C-G). La producción de citocinas Th2 tras la reestimulación de ELISA de las preparaciones pulmonares y la matriz de esferas citométricas también se redujeron (Fig. 1H,I). El hecho de que los ratones tratados con el extracto de células muertas no desarrollaran síntomas de asma inducida por alérgenos no se debió a una respuesta principal deteriorada al alérgeno, ya que los niveles IgE en suero específicos de ovoalbúmina, según la medición con ELISA, fue similar en todos los ratones sensibilizados.*

50 Para abordar la especificidad de los efectos observados y elucidar los requisitos previos claves de la protección, se investigaron varias vías y regímenes de administración, así como también las edades de aparición del tratamiento y extractos de otros patógenos gastrointestinales. De manera interesante, la administración sistémica (intraperitoneal) de extracto de células muertas de *H. pylori* fue eficiente como la vía intragástrica a la hora de otorgar protección contra el asma inducida por alérgenos. El tratamiento intragástrico fue menos efectivo cuando se inició en ratones adultos, en comparación con los neonatos. El extracto de *H. pylori* inactivado por calor, así como también cantidades idénticas de extractos generados a partir de los cultivos de *E. coli* o *Salmonella typhimurium*, no otorgaron protección contra las características examinadas de la enfermedad de las vías respiratorias alérgicas.

55 En conclusión, los efectos beneficiosos del tratamiento con extracto de células muertas son específicos para *H. pylori* y requieren un componente de las bacterias que es sensible al calor, y son más pronunciados si el tratamiento se inicia en ratones jóvenes.

60 *Preparación del extracto de células muertas de *H. pylori* y purificación de GGT y VacA*

65 La cepa de *H. pylori* PMSS1 (Arnold y col. 2011, *supra*) que secreta VacA s2m2 se cultivó en un caldo de *Brucella* complementado con un 10% de FCS, se granuló mediante centrifugación y se lavó una vez con PBS. Las bacterias se sometieron a ciclos de congelación/descongelación y se alteraron mediante tres pases a través de una prensa celular de presión francesa (Stansted Fluid Power, Homogeneizador de presión celular) a 30.000 bares. Los residuos celulares se eliminaron mediante centrifugación y el sobrenadante se filtró a través de un filtro de 2 mm que llevó a los

extractos de células muertas usados en los presentes ejemplos. Las concentraciones de proteína se determinaron usando el Kit de proteína BCA (R&D systems).

La VacA de *H. pylori* se purificó de los sobrenadantes del cultivo de *H. pylori* usando los procedimientos previamente publicados (Cover y col., 1992, J. Biol. Chem., 267:10570-1057; Cover y col., 1997, J. Cell. Biol., 138:759-769), con las siguientes modificaciones ligeras. La cepa de *H. pylori* ATCC 49503/60190 que se describió por primera vez en 1990 (Cover y col., 1990, Infect. Immun. 58: 603-610) se cultivó en un caldo de Brucella libre de sulfitos que contenía ya sea colesterol o carbón al 0,5%. Después de la centrifugación del cultivo, las proteínas sobrenadantes se precipitaron con un 50% de solución saturada de sulfato de amonio. La forma oligomérica de VacA se aisló mediante cromatografía de filtración en gel con una columna Superosa 6 HR 16/50 en una PBS que contenía un 0,02% de azida sódica y 1mM de EDTA.

#### *Experimentación animal*

Se infectó a ratones C57BL/6 y BL/6.BATF3-/- (Jackson Labs) oralmente con la cepa de *H. pylori* PMSS1 como se describió (Arnold y col., 2011, *supra*), o los mismos recibieron ya sea una dosis oral o i.p. una vez a la semana de 200 mg de extracto de células muertas (preparadas como se describió antes) del tipo salvaje de *H. pylori* PMSS1 o la cepa mutante, que carecía del gen Vac A (PMSS1 $\Delta$ vacA) (descrita en Oertli y col., 2013, *supra*), *Salmonella typhimurium*, o *E. coli* o dosis i.p. una vez a la semana de 25 mg de VacA tipo s1m1 (SEQ ID NO: 1) -el tipo salvaje, producido como se explicó anteriormente, o la variante eliminada  $\Delta$ 6-27 purificada de la cepa de *H. pylori* ATCC 49503/0190 de la SEQ ID NO: 3 como se describe en Vinion-Dubiel y col., 1999, J. Biol. Chem., 274:37736-37742.

Los ratones se sensibilizaron mediante inyección intraperitoneal con ovoalbúmina con alumbre como adyuvante (20 mg de ovoalbúmina, Sigma-Aldrich, emulsionados en 2,25 mg de hidróxido de aluminio (Alum Imject; Pierce)) en las semanas 8 y 10 de edad y se desafió con un 1% de ovoalbúmina aerosolizada usando un nebulizador ultrasónico (NE-U17; Omron) durante 20 min a diario, los días 31, 32 y 33 después de la sensibilización inicial. Los ratones no sensibilizados se usaron como controles negativos. Un grupo recibió dosis una vez a la semana de 200 mg de extracto muerto de *H. pylori* intragástricamente desde el día 7 de edad hasta la segunda sensibilización.

Las mediciones de resistencia de las vías respiratorias se efectuaron en ratones bajo anestesia, intubados y con respiración mecánica y la resistencia de las vías respiratorias (según la medición usando el Sistema FinePointe de resistencia y conformidad, Buxco Electronics) se registró en respuesta a dosis en aumento de metacolina inhalada.

El bloqueo *in vivo* de la señalización de IL-10 según se describió en el Ejemplo 2 se logró mediante tres inyecciones i.p. de 250 mg de anticuerpo anti-IL-10R (clon 1B1.3A, BioXCell) durante la fase de provocación. Los pulmones se lavaron mediante la tráquea con 1 ml de PBS. Las células del fluido de lavado broncoalveolar (BALF) se contaron usando la exclusión de tinte azul de tripano. Los conteos de células diferenciales de macrófagos, linfocitos, neutrófilos y eosinófilos se efectuaron en preparaciones citocentrifugadas teñidas con el Conjunto Microscopy Hemacolor® (Merck). Para la histopatología pulmonar, los pulmones se fijaron mediante la inflación e inmersión en un 10% de formalina y se incrustaron en parafina. Las secciones de tejido se tiñeron con H&E y ácido peryódico de Schiff y se examinaron a ciegas en un microscopio BX40 Olympus. La inflamación peribronquial se puntuó en una escala del 0 al 4. Las células calciformes positivas para PAS se cuantificaron por 1 mm de membrana basal.

#### **Ejemplo 2: Rol de los extractos celulares en la producción IL-10**

Se sabe que el *H. pylori* induce la producción de IL-10 en varios compartimentos de células inmunes (Sayi y col., 2011, J. Immunol., 186:878-890) y altos niveles gástricos de IL-10 aseguran la persistencia del *H. pylori*, así como también promueven la tolerancia inmune específica de *H. pylori* (Arnold y col., 2011, *supra*).

A fin de evaluar si las DC producen IL-10 en respuesta al extracto muerto de *H. pylori*, las DC derivadas de la médula ósea (MO) murina cultivadas se trataron con concentraciones crecientes de extracto de células muertas preparado como se describió anteriormente. En efecto, las DC de la MO produjeron y secretaron grandes cantidades de IL-10 y esto dependió de la señalización de TLR2 y MyD88 (Fig. 2A). Una clara secreción de IL-10 dependiente de la dosis también se pudo observar en DC derivadas de sangre humana de seis donantes independientes cultivadas con el extracto de células muertas de *H. pylori* (Fig. 2B). Para abordar si se requiere la IL-10 para la protección contra el asma otorgada por la tolerización con el extracto muerto, se administraron dos dosis de anticuerpo neutralizador del receptor de IL-10 (IL-10R) durante la fase de provocación del protocolo para ratones que recibían ya sea el extracto de células muertas desde el período neonatal en adelante y se mostró que la señalización de IL-10 era necesaria para la protección contra el asma (Fig. 2C-F)

En resumen, los extractos de células muertas de *H. pylori* son capaces de inducir la producción de IL-10 tanto el DC murinas como humanas y los efectos beneficiosos del tratamiento con el extracto de células muertas en el asma alérgica dependen de la competencia de señalización de IL-10 del huésped.

*Preparación del ELISA de DC e IL-10 murinas y humanas*

Para la generación de DC de la médula ósea murina, la médula ósea aislada de las patas traseras de ratones donantes (ratones BL/6.TLR2<sup>-/-</sup>, BL/6.TLR4<sup>-/-</sup>, BL/6.MyD88<sup>-/-</sup>, todos de Jackson Labs) se sembró en 50.000 células por pocillo en placas de 96 pocillos en RPMI/10% de FCS y 4 ng/ml de GM-CSF y se procedió al cultivo durante 5 días. Las DC se estimularon con las cantidades indicadas del extracto de *H. pylori* PMSS1 como se describió anteriormente durante 16 h y los sobrenadantes se sometieron a un ELISA mL-10 (BD Pharmingen). Las células dendríticas derivadas de monocitos humanos se generaron a partir de células mononucleares de sangre periférica, como se indica a continuación. Se extrajo sangre de las venas de 6 voluntarios saludables según los protocolos aprobados por la Junta de Revisión Institucional del Centro Médico de la Universidad Leiden. Las células se recolectaron después de la centrifugación de gradiente de densidad en Ficoll y los monocitos CD14<sup>+</sup> se aislaron positivamente mediante clasificación celular activada magnéticamente (MACS) usando microesferas CD14 (Miltenyi Biotec). Las células se cultivaron en RPMI-1640 (Invitrogen) complementado con penicilina (100 U/ml, Astellas Pharma), estreptomina (100 mg/ml, Sigma), piruvato (1 mM, Sigma), glutamato (2 mM, Sigma), 10% de suero fetal bovino (FCS), 20 ng/ml de factor de estimulación de colonias de granulocitos-macrófagos recombinantes humanos (rGM-CSF, Invitrogen/Life Technologies) y 0,86 ng/ml de rIL-4 humana (R&D Systems) durante 6 días. El día 3, el medio y los complementos fueron renovados. Las DC derivadas de monocitos se estimularon con el extracto de células muertas de *H. pylori* durante 48 horas. La Secreción de IL-10 por las DC en el sobrenadante se midió mediante ELISA (Sanquin).

La susceptibilidad diferencial para la tolerización exitosa de neonatos y adultos puede atribuirse a la parcialidad tolerogénica general del sistema inmune neonatal inmaduro, con sus proporciones más altas de Treg/células efectoras y respuestas predominantes de Treg a antígenos extraños (Arnold y col., 2005, Trends Immunol 26:406-411). En humanos, se han informado observaciones paralelas: Los niños infectados con *H. pylori*, pero no los adultos, se caracterizan por respuestas de células T específicas de *H. pylori* gástrico predominante de Treg (Harris y col., 2008, Gastroenterology 134:491-4). Los niños se benefician más de hospedar *H. pylori* que los adultos en términos de su riesgo de asma (Chen y col., 2007, Arch Intern Med 167:821-827); de manera similar, el asma de aparición temprana en adolescentes y adultos jóvenes se correlaciona de manera inversa más fuertemente con la seropositividad de *H. pylori* que el asma de aparición en adultos (Chen y col., 2008, J. Infect. Dis., 198:553-560). Los datos epidemiológicos y experimentales disponibles, por consiguiente, sugieren que la adquisición en la niñez de *H. pylori*, y las respuestas inmunes predominantes de Treg asociadas a la adquisición en la vida temprana, median los riesgos reducidos de sufrir asma y otras manifestaciones de enfermedades alérgicas mediante la supresión de respuestas de las células T específicas de alérgenos.

Los datos presentados en esta invención implican que los niños con alto riesgo de desarrollar asma tienen mayor probabilidad que los adultos de beneficiarse a partir de las estrategias de tolerización de la invención.

### **Ejemplo 3: Rol del polipéptido Vac A y la variante truncada del mismo en la forma purificada de la invención**

A fin de apoyar que la VacA en la forma de un polipéptido purificado pueda contribuir por sí sola a la protección contra el asma otorgada por la tolerización con el extracto, se compararon las propiedades protectoras de los extractos bacterianos (preparados como se describió anteriormente) de las bacterias de tipo salvaje y los mutantes isogénicos deficientes de VacA (como se describió anteriormente). Lo que resulta interesante es que los extractos mutantes fueron consistentemente menos eficientes que el extracto de tipo salvaje a la hora de proteger a ratones sensibles a y desafiados por alérgenos contra la inflamación broncoalveolar y pulmonar, la eosinofilia y la metaplasia de células calciformes (Fig. 3A-D). *A fin de examinar si la VacA sola es suficiente para proporcionar protección, la VacA oligomérica purificada de sobrenadantes de cultivo de H. pylori, como se describió antes, se administró intraperitonealmente, una vez a la semana, desde el día 7 de edad en adelante.* No se observó ningún efecto adverso en ninguno de los ratones, a pesar de su joven edad al momento de las primeras dosis. Sorprendentemente, la VacA proporcionó un nivel de protección contra el asma que era comparable con la protección otorgada por el tratamiento con el extracto (Fig. 3A-D).

Una proteína VacA de control negativo eliminada a la que le falta la región hidrofóbica aminoterminal de tres tándems que se describen como esenciales para la actividad citotóxica de VacA (Vinion-Dubiel y col., 1999, supra), es decir, de la SEQ ID NO: 3 (Figura 5) no ofrece protección contra el asma (Fig. 3A-D).

### **Ejemplo 4: Rol del polipéptido Vac A en la forma purificada de la invención en varias concentraciones y vías de administración**

A fin de dilucidar la dosis mínima efectiva, el número de dosis requeridas y la vía de administración óptima, la VacA purificada según se prescribió anteriormente se administró ya sea intraperitonealmente o intragástricamente en varias concentraciones e intervalos en ratones, como se describió antes. 5 mg de VacA administrados intraperitonealmente en intervalos semanales desde la edad del día 7 en adelante hasta 2 semanas antes de la provocación (según se indica mediante el subíndice "a" en la Figura 4) resultaron tan efectivos como 20 mg de VacA a la hora de impedir la inflamación broncoalveolar y la eosinofilia (Figura 4 A,B). La VacA administrada intragástricamente (per os, p.o.) (de nuevo, suministrada semanalmente desde el día 7 hasta 2 semanas antes de la provocación) también proporcionó una protección significativa (Figura 4A,B). Tres dosis de VacA suministrada intraperitonealmente (suministrada en las semanas 1, 2 y 3 de vida, denotadas con el subíndice "b" en la Figura 4) fueron insuficientes a fin de proporcionar protección total (Figura 4A,B). El bloqueo de la señalización de IL-10 con dos dosis de un anticuerpo neutralizante



administradas intraperitonealmente durante la provocación de ovoalbúmina anuló la protección (Figura 4A,B).

Esos datos apoyan que, de manera inesperada, la administración de VacA sola en forma purificada es capaz de inducir una protección contra el asma que es comparable con todo el extracto celular y, por lo tanto, pueden administrarse en forma purificada a fin de impedir el asma alérgica,

Estos hallazgos son particularmente inesperados, ya que se creía que solo los extractos de *H. pylori* vivos exhibían la capacidad de inducir Tregs y no se esperaba que la VacA sola fuese suficiente para la protección contra el asma, ya que, en particular, se ha observado que los mutantes que carecen del gen *ggt* son incapaces de colonizar ratones de manera persistente y este fenotipo ha sido atribuido a la tolerización de DC mediante GGT *in vitro* e *in vivo* (Oertli y col., 2013, *supra*).

Todos juntos, estos datos muestran que la protección contra el asma de las composiciones de la invención fue altamente específica y no fue otorgada por el extracto de otros enteropatógenos gram-negativos como *E. coli* o *Salmonella typhimurium*. El tratamiento fue particularmente exitoso cuando se inició en ratones jóvenes en relación con ratones adultos. Por lo tanto, la VacA y las composiciones de la misma pueden explotarse para fines terapéuticos como una estrategia de tolerización viable para la prevención y el tratamiento del asma en individuos con alto riesgo.

**Ejemplo 5: Rol del extracto de células muertas de *H. pylori* y del polipéptido VacA de la invención en la forma purificada en un modelo preclínico de alergia alimentaria**

A fin de evaluar un efecto protector del extracto de célula completa de *H. pylori* o de la VacA purificada en el desarrollo de la alergia alimentaria, se sensibilizaron ratones con dos dosis intraperitoneales de ovoalbúmina con alumbre como adyuvante antes de la inyección intragástrica de ovoalbúmina, como se describirá a continuación. Los síntomas de alergia alimentaria se midieron mediante puntuación clínica en un suero mediante un ELISA de proteasa de mastocitos y un ELISA de IgG1 e IgE específico de ovoalbúmina. Las citocinas Th2 se cuantificaron en MLN reestimulado con ovoalbúmina o cultivos celulares individuales del bazo.

Los ratones se sensibilizaron dos veces i.p. en 2 intervalos semanales con ovoalbúmina con alumbre como adyuvante y se desafiaron con ovoalbúmina suministrada intragástricamente en tres días consecutivos comenzando 2 semanas después de la última sensibilización. Un grupo de ratones recibió dosis una vez a la semana de 200 mg de extracto del tipo salvaje de la cepa de *H. pylori* PMSS1 intragástricamente a partir del día 7 de edad en adelante ("extracto *per os*"). Otro grupo recibió dosis una vez a la semana de 20 mg de HpVacA purificada de la cepa de *H. pylori* ATCC 49503/60190. Todos los ratones se observaron durante 40 min después de la última provocación y se puntuaron con respecto a rascarse, hinchazón de ojos, boca y nariz, así como también otros síntomas de anafilaxis, tal como los descritos en Sun y col., 2007, *J. Immunol.*, 179:6696-6703. Las puntuaciones obtenidas se representan en la Figura 6A. La IgE e IgG1 específicas de ovoalbúmina, y la proteasa de mastocitos MCPT1 se cuantificaron en el suero mediante un ELISA y los niveles correspondientes se representan en las Figuras 6B a D. Los esplenocitos se reestimularon con el alérgeno anterior durante tres días y la producción y secreción de las citocinas Th2 IL-5 e IL-13 se midieron con ELISA y los niveles correspondientes se representan en las Figuras

6E y F). Los datos de MCPT1 están normalizados para los controles negativos. El grupo de datos de tres estudios se muestra para todos los grupos, excepto para el grupo tratado con VacA.

Todos juntos, aquellos datos obtenidos en un modelo de alergia alimentaria sugieren fuertemente los efectos protectores del extracto de *H. pylori*, así como también el tratamiento con proteínas VacA.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> CENTRO MÉDICO UNIVERSITARIO DE LA UNIVERSITAT ZURICH LEIDEN

5 <120> COMPOSICIONES QUE COMPRENDEN TOLERÓGENOS Y USOS DE LAS MISMAS <130> P1757PC00

<150> EP14153365.3

<151> 2014-01-31

10 <160> 11

<170> PatentIn versión 3.3

<210> 1

15 <211> 980

<212> PRT

<213> Cepa de Helicobacter pylori ATCC 49503/60190

20 <400> 1

Ala Phe Phe Thr Thr Val Ile Ile Pro Ala Ile Val Gly Gly Ile Ala  
1 5 10 15

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

Lys Gln Ala Glu Glu Ala Asn Lys Thr Pro Asp Lys Pro Asp Lys Val  
35 40 45

Trp Arg Ile Gln Ala Gly Lys Gly Phe Asn Glu Phe Pro Asn Lys Glu  
50 55 60

Tyr Asp Leu Tyr Lys Ser Leu Leu Ser Ser Lys Ile Asp Gly Gly Trp  
65 70 75 80

Asp Trp Gly Asn Ala Ala Thr His Tyr Trp Ile Lys Gly Gly Gln Trp  
85 90 95

Asn Lys Leu Glu Val Asp Met Lys Asp Ala Val Gly Thr Tyr Lys Leu  
100 105 110

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

Lys Ala Thr Leu Arg Leu Gly Gln Phe Asn Gly Asn Ser Phe Thr Ser  
130 135 140

Tyr Lys Asp Ser Ala Asp Arg Thr Thr Arg Val Asp Phe Asn Ala Lys  
145 150 155 160

ES 2 806 773 T3

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

ES 2 806 773 T3

Gly Pro Leu Arg Val Asn Asn Gln Val Gly Gly Tyr Ala Leu Ala Gly  
420 425 430

Ser Ser Ala Asn Phe Glu Phe Lys Ala Gly Val Asp Thr Lys Asn Gly  
435 440 445

Thr Ala Thr Phe Asn Asn Asp Ile Ser Leu Gly Arg Phe Val Asn Leu  
450 455 460

Lys Val Asp Ala His Thr Ala Asn Phe Lys Gly Ile Asp Thr Gly Asn  
465 470 475 480

Gly Gly Phe Asn Thr Leu Asp Phe Ser Gly Val Thr Asn Lys Val Asn  
485 490 495

Ile Asn Lys Leu Ile Thr Ala Ser Thr Asn Val Ala Val Lys Asn Phe  
500 505 510

Asn Ile Asn Glu Leu Ile Val Lys Thr Asn Gly Val Ser Val Gly Glu  
515 520 525

Tyr Thr His Phe Ser Glu Asp Ile Gly Ser Gln Ser Arg Ile Asn Thr  
530 535 540

Val Arg Leu Glu Thr Gly Thr Arg Ser Ile Phe Ser Gly Gly Val Lys  
545 550 555 560

Phe Lys Ser Gly Glu Lys Leu Val Ile Asp Glu Phe Tyr Tyr Ser Pro  
565 570 575

Trp Asn Tyr Phe Asp Ala Arg Asn Ile Lys Asn Val Glu Ile Thr Arg  
580 585 590

Lys Phe Ala Ser Ser Thr Pro Glu Asn Pro Trp Gly Thr Ser Lys Leu  
595 600 605

Met Phe Asn Asn Leu Thr Leu Gly Gln Asn Ala Val Met Asp Tyr Ser  
610 615 620

Gln Phe Ser Asn Leu Thr Ile Gln Gly Asp Phe Ile Asn Asn Gln Gly  
625 630 635 640

Thr Ile Asn Tyr Leu Val Arg Gly Gly Lys Val Ala Thr Leu Asn Val  
645 650 655

Gly Asn Ala Ala Ala Met Met Phe Asn Asn Asp Ile Asp Ser Ala Thr  
660 665 670

ES 2 806 773 T3

Gly Phe Tyr Lys Pro Leu Ile Lys Ile Asn Ser Ala Gln Asp Leu Ile  
675 680 685

Lys Asn Thr Glu His Val Leu Leu Lys Ala Lys Ile Ile Gly Tyr Gly  
690 695 700

Asn Val Ser Thr Gly Thr Asn Gly Ile Ser Asn Val Asn Leu Glu Glu  
705 710 715 720

Gln Phe Lys Glu Arg Leu Ala Leu Tyr Asn Asn Asn Asn Arg Met Asp  
725 730 735

Thr Cys Val Val Arg Asn Thr Asp Asp Ile Lys Ala Cys Gly Met Ala  
740 745 750

Ile Gly Asn Gln Ser Met Val Asn Asn Pro Asp Asn Tyr Lys Tyr Leu  
755 760 765

Ile Gly Lys Ala Trp Lys Asn Ile Gly Ile Ser Lys Thr Ala Asn Gly  
770 775 780

Ser Lys Ile Ser Val Tyr Tyr Leu Gly Asn Ser Thr Pro Thr Glu Asn  
785 790 795 800

Gly Gly Asn Thr Thr Asn Leu Pro Thr Asn Thr Thr Asn Asn Ala Arg  
805 810 815

Phe Ala Ser Tyr Ala Leu Ile Lys Asn Ala Pro Phe Ala His Ser Ala  
820 825 830

Thr Pro Asn Leu Val Ala Ile Asn Gln His Asp Phe Gly Thr Ile Glu  
835 840 845

Ser Val Phe Glu Leu Ala Asn Arg Ser Lys Asp Ile Asp Thr Leu Tyr  
850 855 860

Ala Asn Ser Gly Ala Gln Gly Arg Asp Leu Leu Gln Thr Leu Leu Ile  
865 870 875 880

Asp Ser His Asp Ala Gly Tyr Ala Arg Thr Met Ile Asp Ala Thr Ser  
885 890 895

Ala Asn Glu Ile Thr Lys Gln Leu Asn Thr Ala Thr Thr Thr Leu Asn  
900 905 910

Asn Ile Ala Ser Leu Glu His Lys Thr Ser Ser Leu Gln Thr Leu Ser

ES 2 806 773 T3

915

920

925

Leu Ser Asn Ala Met Ile Leu Asn Ser Arg Leu Val Asn Leu Ser Arg  
 930 935 940

Arg His Thr Asn Asn Ile Asp Ser Phe Ala Lys Arg Leu Gln Ala Leu  
 945 950 955 960

Lys Asp Gln Arg Phe Ala Ser Leu Glu Ser Ala Ala Glu Val Leu Tyr  
 965 970 975

Gln Phe Ala Pro  
 980

<210> 2

<211> 1309

5 <212> PRT

<213> Cepa de Helicobacter pylori Tx30a

<400> 2

10

Met Glu Ile Gln Gln Thr His Arg Lys Ile Asn Arg Pro Ile Ile Ser  
 1 5 10 15

Leu Ala Leu Val Gly Val Leu Met Gly Thr Glu Leu Gly Ala Asn Thr  
 20 25 30

Pro Asn Asp Pro Ile His Ser Glu Ser Arg Ala Phe Phe Thr Thr Val  
 35 40 45

Ile Ile Pro Ala Ile Val Gly Gly Ile Ala Thr Gly Ala Ala Val Gly  
 50 55 60

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

Asn Lys Ala Pro Asp Lys Pro Asp Lys Val Trp Arg Ile Gln Ala Gly  
 85 90 95

Arg Gly Phe Asp Asn Phe Pro His Lys Gln Tyr Asp Leu Tyr Lys Ser  
 100 105 110

Leu Leu Ser Ser Lys Ile Asp Gly Gly Trp Asp Trp Gly Asn Ala Ala  
 115 120 125

Arg His Tyr Trp Val Lys Asp Gly Gln Trp Asn Lys Leu Glu Val Asp  
 130 135 140

Met Gln Asn Ala Val Gly Thr Tyr Asn Leu Ser Gly Leu Ile Asn Phe

ES 2 806 773 T3

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

ES 2 806 773 T3

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



ES 2 806 773 T3

Gly Leu Met Phe Asn Asn Leu Thr Leu Asn Ser Asn Ala Ser Met Asp  
660 665 670

Tyr Gly Lys Asp Leu Asp Leu Thr Ile Gln Gly His Phe Thr Asn Asn  
675 680 685

Gln Gly Thr Met Asn Leu Phe Val Gln Asp Gly Arg Val Ala Thr Leu  
690 695 700

Asn Ala Gly His Gln Ala Ser Met Ile Phe Asn Asn Leu Val Asp Ser  
705 710 715 720

Thr Thr Gly Phe Tyr Lys Pro Leu Ile Lys Ile Asn Asn Ala Gln Asn  
725 730 735

Leu Thr Lys Asn Lys Glu His Val Leu Val Lys Ala Arg Asn Ile Asp  
740 745 750

Tyr Asn Leu Val Gly Val Gln Gly Ala Ser Tyr Asp Asn Ile Ser Ala  
755 760 765

Ser Asn Thr Asn Leu Gln Glu Gln Phe Lys Glu Arg Leu Ala Leu Tyr  
770 775 780

Asn Asn Asn Asn Arg Met Asp Thr Cys Val Val Arg Lys Asp Asn Leu  
785 790 795 800

Asn Asp Ile Lys Ala Cys Gly Met Ala Ile Gly Asn Gln Ser Met Val  
805 810 815

Asn Asn Pro Glu Asn Tyr Lys Tyr Leu Glu Gly Lys Ala Trp Lys Asn  
820 825 830

Thr Gly Ile Asn Lys Thr Ala Asn Asn Thr Thr Ile Ala Val Asn Leu  
835 840 845

Gly Asn Asn Ser Thr Pro Thr Asn Ser Thr Thr Asp Thr Thr Asn Leu  
850 855 860

Pro Thr Asn Thr Thr Asn Asn Ala Arg Phe Ala Ser Tyr Ala Leu Ile  
865 870 875 880

Lys Asn Ala Pro Phe Ala His Ser Ala Thr Pro Asn Leu Val Ala Ile  
885 890 895

Asn Gln His Asp Phe Gly Thr Ile Glu Ser Val Phe Glu Leu Ala Asn  
900 905 910

ES 2 806 773 T3

Arg Ser Ser Asp Ile Asp Thr Leu Tyr Ala Asn Ser Gly Ala Gln Gly  
 915 920 925

Arg Asp Leu Leu Gln Thr Leu Leu Ile Asp Ser His Asp Ala Gly Tyr  
 930 935 940

Ala Arg Thr Met Ile Asp Ala Thr Ser Ala Asn Glu Ile Thr Gln Gln  
 945 950 955 960

Leu Asn Ala Ala Thr Thr Thr Leu Asn Asn Ile Ala Ser Leu Glu His  
 965 970 975

Lys Thr Ser Gly Leu Gln Thr Leu Ser Leu Ser Asn Ala Met Ile Leu  
 980 985 990

Asn Ser Arg Leu Val Asn Leu Ser Arg Lys His Thr Asn His Ile Asp  
 995 1000 1005

Ser Phe Ala Lys Arg Leu Gln Ala Leu Lys Asp Gln Arg Phe Ala  
 1010 1015 1020

Ser Leu Glu Ser Ala Ala Glu Val Leu Tyr Gln Phe Ala Pro Lys  
 1025 1030 1035

Tyr Glu Lys Pro Thr Asn Val Trp Ala Asn Ala Ile Gly Gly Thr  
 1040 1045 1050

Ser Leu Asn Asn Gly Ser Asn Ala Ser Leu Tyr Gly Thr Ser Ala  
 1055 1060 1065

Gly Val Asp Ala Tyr Leu Asn Gly Glu Val Glu Ala Ile Val Gly  
 1070 1075 1080

Gly Phe Gly Ser Tyr Gly Tyr Ser Ser Phe Ser Asn Gln Ala Asn  
 1085 1090 1095

Ser Leu Asn Ser Gly Ala Asn Asn Thr Asn Phe Gly Val Tyr Ser  
 1100 1105 1110

Arg Ile Phe Ala Asn Gln His Glu Phe Asp Phe Glu Ala Gln Gly  
 1115 1120 1125

Ala Leu Gly Ser Asp Gln Ser Ser Leu Asn Phe Lys Ser Ala Leu  
 1130 1135 1140

Leu Gln Asp Leu Asn Gln Ser Tyr His Tyr Leu Ala Tyr Ser Ala

ES 2 806 773 T3

1145							1150									1155
Thr	Thr	Arg	Ala	Ser	Tyr	Gly	Tyr	Asp	Phe	Ala	Phe	Phe	Arg	Asn		
1160						1165						1170				
Ala	Leu	Val	Leu	Lys	Pro	Ser	Val	Gly	Val	Ser	Tyr	Asn	His	Leu		
1175						1180					1185					
Gly	Ser	Thr	Asn	Phe	Lys	Ser	Asn	Ser	Asn	Gln	Val	Ala	Leu	Ser		
1190						1195					1200					
Asn	Gly	Ser	Ser	Ser	Gln	His	Leu	Phe	Asn	Ala	Asn	Ala	Asn	Val		
1205						1210					1215					
Glu	Ala	Arg	Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Asp	Thr	Ser	Tyr	Phe	Tyr	Met	Asn		
1220						1225					1230					
Ala	Gly	Val	Leu	Gln	Glu	Phe	Ala	Arg	Phe	Gly	Ser	Asn	Asn	Ala		
1235						1240					1245					
Val	Ser	Leu	Asn	Thr	Phe	Lys	Val	Asn	Ala	Thr	Arg	Asn	Pro	Leu		
1250						1255					1260					
Asn	Thr	His	Ala	Arg	Val	Met	Met	Gly	Gly	Glu	Leu	Gln	Leu	Ala		
1265						1270					1275					
Lys	Glu	Val	Phe	Leu	Asn	Leu	Gly	Val	Val	Tyr	Leu	His	Asn	Leu		
1280						1285					1290					
Ile	Ser	Asn	Ala	Ser	His	Phe	Ala	Ser	Asn	Leu	Gly	Met	Arg	Tyr		
1295						1300					1305					

Ser

5 <210> 3  
 <211> 957  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Variante de eliminación de 6-27 VacA

<400> 3

ES 2 806 773 T3

Ala Phe Phe Thr Thr Leu Gly Trp Gly Leu Lys Gln Ala Glu Glu Ala  
1 5 10 15

Asn Lys Thr Pro Asp Lys Pro Asp Lys Val Trp Arg Ile Gln Ala Gly  
20 25 30

Lys Gly Phe Asn Glu Phe Pro Asn Lys Glu Tyr Asp Leu Tyr Lys Ser  
35 40 45

Leu Leu Ser Ser Lys Ile Asp Gly Gly Trp Asp Trp Gly Asn Ala Ala  
50 55 60

Thr His Tyr Trp Ile Lys Gly Gly Gln Trp Asn Lys Leu Glu Val Asp  
65 70 75 80

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

Thr Gly Gly Asp Leu Asp Val Asn Met Gln Lys Ala Thr Leu Arg Leu  
100 105 110

Gly Gln Phe Asn Gly Asn Ser Phe Thr Ser Tyr Lys Asp Ser Ala Asp  
115 120 125

Arg Thr Thr Arg Val Asp Phe Asn Ala Lys Asn Ile Leu Ile Asp Asn  
130 135 140

Phe Leu Glu Ile Asn Asn Arg Val Gly Ser Gly Ala Gly Arg Lys Ala  
145 150 155 160

Ser Ser Thr Val Leu Thr Leu Gln Ala Ser Glu Gly Ile Thr Ser Ser  
165 170 175

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

Ser Asn Ser Val Lys Leu Asn Gly Asn Val Trp Met Gly Arg Leu Gln  
195 200 205

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

Lys Val Thr Gly Glu Val Asn Phe Asn His Leu Thr Val Gly Asp His  
225 230 235 240

Asn Ala Ala Gln Ala Gly Ile Ile Ala Ser Asn Lys Thr His Ile Gly  
245 250 255

Thr Leu Asp Leu Trp Gln Ser Ala Gly Leu Asn Ile Ile Ala Pro Pro  
260 265 270

Glu Gly Gly Tyr Lys Asp Lys Pro Asn Asn Thr Pro Ser Gln Ser Gly

ES 2 806 773 T3

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

ES 2 806 773 T3

Thr Arg Ser Ile Phe Ser Gly Gly Val Lys Phe Lys Ser Gly Glu Lys  
530 535 540

Leu Val Ile Asp Glu Phe Tyr Tyr Ser Pro Trp Asn Tyr Phe Asp Ala  
545 550 555 560

Arg Asn Ile Lys Asn Val Glu Ile Thr Arg Lys Phe Ala Ser Ser Thr  
565 570 575

Pro Glu Asn Pro Trp Gly Thr Ser Lys Leu Met Phe Asn Asn Leu Thr  
580 585 590

Leu Gly Gln Asn Ala Val Met Asp Tyr Ser Gln Phe Ser Asn Leu Thr  
595 600 605

Ile Gln Gly Asp Phe Ile Asn Asn Gln Gly Thr Ile Asn Tyr Leu Val  
610 615 620

Arg Gly Gly Lys Val Ala Thr Leu Asn Val Gly Asn Ala Ala Ala Met  
625 630 635 640

Met Phe Asn Asn Asp Ile Asp Ser Ala Thr Gly Phe Tyr Lys Pro Leu  
645 650 655

Ile Lys Ile Asn Ser Ala Gln Asp Leu Ile Lys Asn Thr Glu His Val  
660 665 670

Leu Leu Lys Ala Lys Ile Ile Gly Tyr Gly Asn Val Ser Thr Gly Thr  
675 680 685

Asn Gly Ile Ser Asn Val Asn Leu Glu Glu Gln Phe Lys Glu Arg Leu  
690 695 700

Ala Leu Tyr Asn Asn Asn Asn Arg Met Asp Thr Cys Val Val Arg Asn  
705 710 715

Thr Asp Asp Ile Lys Ala Cys Gly Met Ala Ile Gly Asn Gln Ser Met  
725 730 735

Val Asn Asn Pro Asp Asn Tyr Lys Tyr Leu Ile Gly Lys Ala Trp Lys  
740 745 750

Asn Ile Gly Ile Ser Lys Thr Ala Asn Gly Ser Lys Ile Ser Val Tyr  
755 760 765

Tyr Leu Gly Asn Ser Thr Pro Thr Glu Asn Gly Gly Asn Thr Thr Asn  
770 775 780

ES 2 806 773 T3

Leu Pro Thr Asn Thr Thr Asn Asn Ala Arg Phe Ala Ser Tyr Ala Leu  
 785 790 795 800

Ile Lys Asn Ala Pro Phe Ala His Ser Ala Thr Pro Asn Leu Val Ala  
 805 810 815

Ile Asn Gln His Asp Phe Gly Thr Ile Glu Ser Val Phe Glu Leu Ala  
 820 825 830

Asn Arg Ser Lys Asp Ile Asp Thr Leu Tyr Ala Asn Ser Gly Ala Gln  
 835 840 845

Gly Arg Asp Leu Leu Gln Thr Leu Leu Ile Asp Ser His Asp Ala Gly  
 850 855 860

Tyr Ala Arg Thr Met Ile Asp Ala Thr Ser Ala Asn Glu Ile Thr Lys  
 865 870 875 880

Gln Leu Asn Thr Ala Thr Thr Thr Leu Asn Asn Ile Ala Ser Leu Glu  
 885 890 895

His Lys Thr Ser Ser Leu Gln Thr Leu Ser Leu Ser Asn Ala Met Ile  
 900 905 910

Leu Asn Ser Arg Leu Val Asn Leu Ser Arg Arg His Thr Asn Asn Ile  
 915 920 925

Asp Ser Phe Ala Lys Arg Leu Gln Ala Leu Lys Asp Gln Arg Phe Ala  
 930 935 940

Ser Leu Glu Ser Ala Ala Glu Val Leu Tyr Gln Phe Ala  
 945 950 955

<210> 4  
 <211> 1293  
 5 <212> PRT  
 <213> Cepa de Helicobacter pylori G27  
 <400> 4

Met Glu Ile Gln Gln Thr His Arg Lys Met Asn Arg Pro Leu Val Ser  
 1 5 10 15

Leu Val Leu Ala Gly Ala Leu Ile Ser Ala Ile Pro Gln Glu Ser His  
 20 25 30

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

10

ES 2 806 773 T3

Ala Thr Gly Thr Ala Val Gly Thr Val Ser Gly Leu Leu Ser Trp Gly  
50 55 60

Leu Lys Gln Ala Glu Glu Ala Asn Lys Asn Pro Asp Lys Pro Asp Lys  
65 70 75 80

Val Trp Arg Ile Gln Ala Gly Lys Gly Phe Asn Glu Phe Pro Asn Lys  
85 90 95

Glu Tyr Asp Leu Tyr Lys Ser Leu Leu Ser Ser Lys Ile Asp Gly Gly  
100 105 110

Trp Asp Trp Gly Asn Ala Ala Arg His Tyr Trp Val Lys Gly Gly Gln  
115 120 125

Trp Asn Lys Leu Glu Val Asp Met Lys Asp Ala Val Gly Thr Tyr Lys  
130 135 140

Leu Ser Gly Leu Arg Asn Phe Thr Gly Gly Asp Leu Asp Val Asn Met  
145 150 155 160

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

Ser Tyr Lys Asp Ala Ala Asp Arg Thr Thr Arg Val Asn Phe Asn Ala  
180 185 190

Lys Asn Ile Ser Ile Asp Asn Phe Val Glu Ile Asn Asn Arg Val Gly  
195 200 205

Ser Gly Ala Gly Arg Lys Ala Ser Ser Thr Val Leu Thr Leu Gln Ala  
210 215 220

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

Gly Ala Thr Leu Asn Leu Ala Ser Ser Ser Val Lys Leu Met Gly Asn  
245 250 255

Val Trp Met Gly Arg Leu Gln Tyr Val Gly Ala Tyr Leu Ala Pro Ser  
260 265 270

Tyr Ser Thr Ile Asn Thr Ser Lys Val Thr Gly Glu Val Asn Phe Asn  
275 280 285

His Leu Thr Val Gly Asp Lys Asn Ala Ala Gln Ala Gly Ile Ile Ala  
290 295 300



ES 2 806 773 T3

Ser Asn Lys Thr His Ile Gly Thr Leu Asp Leu Trp Gln Ser Ala Gly  
 305 310 315 320  
 Leu Asn Ile Ile Ala Pro Pro Glu Gly Gly Tyr Lys Asp Lys Pro Asn  
 325 330 335  
 Asn Thr Pro Ser Gln Ser Gly Thr Lys Asn Asp Lys Asn Glu Ser Ala  
 340 345 350  
 Lys Asn Asp Lys Gln Glu Ser Ser Gln Asn Asn Ser Asn Thr Gln Val  
 355 360 365  
 Ile Asn Pro Pro Asn Ser Thr Gln Lys Thr Glu Ile Gln Pro Thr Gln  
 370 375 380  
 Val Ile Asp Gly Pro Phe Ala Gly Gly Lys Asp Thr Val Val Asn Ile  
 385 390 395 400  
 Asn Arg Ile Asn Thr Asn Ala Asp Gly Thr Ile Arg Val Gly Gly Phe  
 405 410 415  
 Lys Ala Ser Leu Thr Thr Asn Ala Ala His Leu His Ile Gly Lys Gly  
 420 425 430  
 Gly Val Asn Leu Ser Asn Gln Ala Ser Gly Arg Thr Leu Leu Val Glu  
 435 440 445  
 Asn Leu Thr Gly Asn Ile Thr Val Asp Gly Pro Leu Arg Val Asn Asn  
 450 455 460  
 Gln Val Gly Gly Tyr Ala Leu Ala Gly Ser Ser Ala Asn Phe Glu Phe  
 465 470 475 480  
 Lys Ala Gly Val Asp Thr Lys Asn Gly Thr Ala Thr Phe Asn Asn Asp  
 485 490 495  
 Ile Ser Leu Gly Arg Phe Val Asn Leu Lys Val Asp Ala His Thr Ala  
 500 505 510  
 Asn Phe Lys Gly Ile Asp Thr Gly Asn Gly Gly Phe Asn Thr Leu Asp  
 515 520 525  
 Phe Ser Gly Val Thr Asp Lys Val Asn Ile Asn Lys Leu Ile Thr Ala  
 530 535 540  
 Ser Thr Asn Val Ala Val Lys Asn Phe Asn Ile Asn Glu Leu Ile Val

ES 2 806 773 T3

545																		
Lys	Thr	Asn	Gly	Ile	Ser	Val	Gly	Glu	Tyr	Thr	His	Phe	Ser	Glu	Asp			
				565					570					575				
Ile	Gly	Ser	Gln	Ser	Arg	Ile	Asn	Thr	Val	Arg	Leu	Glu	Thr	Gly	Thr			
			580					585					590					
Arg	Ser	Ile	Phe	Ser	Gly	Gly	Val	Lys	Phe	Lys	Ser	Gly	Glu	Lys	Leu			
		595					600					605						
Val	Ile	Asp	Glu	Phe	Tyr	Tyr	Ser	Pro	Trp	Asn	Tyr	Phe	Asp	Ala	Arg			
	610					615					620							
Asn	Val	Lys	Asn	Val	Glu	Ile	Thr	Arg	Lys	Phe	Ala	Ser	Ser	Thr	Pro			
	625				630					635					640			
Glu	Asn	Pro	Trp	Gly	Thr	Ser	Lys	Leu	Met	Phe	Asn	Asn	Leu	Thr	Leu			
				645					650					655				
Gly	Gln	Asn	Ala	Val	Met	Asp	Tyr	Ser	Gln	Phe	Ser	Asn	Leu	Thr	Ile			
			660				665						670					
Gln	Gly	Asp	Phe	Ile	Asn	Asn	Gln	Gly	Thr	Ile	Asn	Tyr	Leu	Val	Arg			
		675					680					685						
Gly	Gly	Lys	Val	Ala	Thr	Leu	Ser	Val	Gly	Asn	Ala	Ala	Ala	Met	Met			
	690					695					700							
Phe	Asn	Asn	Asp	Ile	Asp	Ser	Ala	Thr	Gly	Phe	Tyr	Lys	Pro	Leu	Ile			
	705				710					715					720			
Lys	Ile	Asn	Ser	Ala	Gln	Asp	Leu	Ile	Lys	Asn	Thr	Glu	His	Val	Leu			
				725					730					735				
Leu	Lys	Ala	Lys	Ile	Ile	Gly	Tyr	Gly	Asn	Val	Ser	Thr	Gly	Thr	Asn			
			740					745					750					
Ser	Ile	Ser	Asn	Val	Asn	Leu	Glu	Glu	Gln	Phe	Lys	Glu	Arg	Leu	Ala			
		755					760					765						
Leu	Tyr	Asn	Asn	Asn	Asn	Arg	Met	Asp	Thr	Cys	Val	Val	Arg	Asn	Thr			
	770					775						780						
Asp	Asp	Ile	Lys	Ala	Cys	Gly	Met	Ala	Ile	Gly	Asn	Gln	Ser	Met	Val			
	785				790					795					800			

ES 2 806 773 T3

Asn Asn Pro Asp Asn Tyr Lys Tyr Leu Ile Gly Lys Ala Trp Lys Asn  
 805 810 815  
 Ile Gly Ile Ser Lys Thr Ala Asn Gly Ser Lys Ile Ser Val Tyr Tyr  
 820 825 830  
 Leu Gly Asn Ser Thr Pro Thr Glu Asn Gly Gly Asn Thr Thr Asn Leu  
 835 840 845  
 Pro Thr Asn Thr Thr Asn Asn Ala Arg Ser Ala Asn Tyr Ala Leu Val  
 850 855 860  
 Lys Asn Ala Pro Phe Ala His Ser Ala Thr Pro Asn Leu Val Ala Ile  
 865 870 875 880  
 Asn Gln His Asp Phe Gly Thr Ile Glu Ser Val Phe Glu Leu Ala Asn  
 885 890 895  
 Arg Ser Lys Asp Ile Asp Thr Leu Tyr Thr His Ser Gly Val Gln Gly  
 900 905 910  
 Arg Asp Leu Leu Gln Thr Leu Leu Ile Asp Ser His Asp Ala Gly Tyr  
 915 920 925  
 Ala Arg Gln Met Ile Asp Asn Thr Ser Thr Gly Glu Ile Thr Lys Gln  
 930 935 940  
 Leu Asn Ala Ala Thr Asp Ala Leu Asn Asn Ile Ala Ser Leu Glu His  
 945 950 955 960  
 Lys Thr Ser Gly Leu Gln Thr Leu Ser Leu Ser Asn Ala Met Ile Leu  
 965 970 975  
 Asn Ser Arg Leu Val Asn Leu Ser Arg Lys His Thr Asn His Ile Asp  
 980 985 990  
 Ser Phe Ala Gln Arg Leu Gln Ala Leu Lys Gly Gln Arg Phe Ala Ser  
 995 1000 1005  
 Leu Glu Ser Ala Ala Glu Val Leu Tyr Gln Phe Ala Pro Lys Tyr  
 1010 1015 1020  
 Glu Lys Pro Thr Asn Val Trp Ala Asn Ala Ile Gly Gly Ala Ser  
 1025 1030 1035  
 Leu Asn Asn Gly Gly Asn Ala Ser Leu Tyr Gly Thr Ser Ala Gly  
 1040 1045 1050

ES 2 806 773 T3

Val Asp Ala Tyr Leu Asn Gly Glu Val Glu Ala Ile Val Gly Gly  
 1055 1060 1065

Phe Gly Ser Tyr Gly Tyr Ser Ser Phe Ser Asn Arg Ala Asn Ser  
 1070 1075 1080

Leu Asn Ser Gly Ala Asn Asn Ala Asn Phe Gly Val Tyr Ser Arg  
 1085 1090 1095

Ile Phe Ala Asn Gln His Glu Phe Asp Phe Glu Ala Gln Gly Ala  
 1100 1105 1110

Leu Gly Ser Asp Gln Ser Ser Leu Asn Phe Lys Ser Ala Leu Leu  
 1115 1120 1125

Gln Asp Leu Asn Gln Ser Tyr His Tyr Leu Ala Tyr Ser Ala Ala  
 1130 1135 1140

Thr Arg Ala Ser Tyr Gly Tyr Asp Phe Ala Phe Phe Arg Asn Ala  
 1145 1150 1155

Leu Val Leu Lys Pro Ser Val Gly Val Ser Tyr Asn His Leu Gly  
 1160 1165 1170

Ser Thr Asn Phe Lys Ser Ser Ser Asn Gln Val Ala Leu Lys Asn  
 1175 1180 1185

Gly Ser Ser Ser Gln His Leu Phe Asn Ala Asn Ala Asn Val Glu  
 1190 1195 1200

Ala Arg Tyr Tyr Tyr Gly Asp Thr Ser Tyr Phe Tyr Met Asn Ala  
 1205 1210 1215

Gly Val Leu Gln Glu Phe Ala Arg Phe Gly Ser Asn Asn Ala Ala  
 1220 1225 1230

Ser Leu Asn Thr Phe Lys Val Asn Thr Ala Arg Asn Pro Leu Asn  
 1235 1240 1245

Thr His Ala Arg Val Met Met Gly Gly Glu Leu Gln Leu Ala Lys  
 1250 1255 1260

Glu Val Phe Leu Asn Leu Gly Val Val Tyr Leu His Asn Leu Ile  
 1265 1270 1275

Ser Asn Ile Gly His Phe Ala Ser Asn Leu Gly Met Arg Tyr Ser  
 1280 1285 1290

<210> 5  
 <211> 1287  
 <212> PRT  
 <213> Ceba de Helicobacter pylori 60190

5

ES 2 806 773 T3

<400> 5

Met Glu Ile Gln Gln Thr His Arg Lys Ile Asn Arg Pro Leu Val Ser  
 1 5 10 15

Leu Ala Leu Val Gly Ala Leu Val Ser Ile Thr Pro Gln Gln Ser His  
 20 25 30

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

Ala Thr Gly Thr Ala Val Gly Thr Val Ser Gly Leu Leu Gly Trp Gly  
 50 55 60

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

Val Trp Arg Ile Gln Ala Gly Lys Gly Phe Asn Glu Phe Pro Asn Lys  
 85 90 95

Glu Tyr Asp Leu Tyr Lys Ser Leu Leu Ser Ser Lys Ile Asp Gly Gly  
 100 105 110

Trp Asp Trp Gly Asn Ala Ala Thr His Tyr Trp Ile Lys Gly Gly Gln  
 115 120 125

Trp Asn Lys Leu Glu Val Asp Met Lys Asp Ala Val Gly Thr Tyr Lys  
 130 135 140

Leu Ser Gly Leu Arg Asn Phe Thr Gly Gly Asp Leu Asp Val Asn Met  
 145 150 155 160

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

Ser Tyr Lys Asp Ser Ala Asp Arg Thr Thr Arg Val Asp Phe Asn Ala  
 180 185 190

Lys Asn Ile Leu Ile Asp Asn Phe Leu Glu Ile Asn Asn Arg Val Gly  
 195 200 205

Ser Gly Ala Gly Arg Lys Ala Ser Ser Thr Val Leu Thr Leu Gln Ala  
 210 215 220

5

ES 2 806 773 T3

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

Gly Ala Thr Leu Asn Leu Ala Ser Asn Ser Val Lys Leu Asn Gly Asn  
 245 250 255

Val Trp Met Gly Arg Leu Gln Tyr Val Gly Ala Tyr Leu Ala Pro Ser  
 260 265 270

Tyr Ser Thr Ile Asn Thr Ser Lys Val Thr Gly Glu Val Asn Phe Asn  
 275 280 285

His Leu Thr Val Gly Asp His Asn Ala Ala Gln Ala Gly Ile Ile Ala  
 290 295 300

Ser Asn Lys Thr His Ile Gly Thr Leu Asp Leu Trp Gln Ser Ala Gly  
 305 310 315 320

Leu Asn Ile Ile Ala Pro Pro Glu Gly Gly Tyr Lys Asp Lys Pro Asn  
 325 330 335

Asn Thr Pro Ser Gln Ser Gly Ala Lys Asn Asp Lys Gln Glu Ser Ser  
 340 345 350

Gln Asn Asn Ser Asn Thr Gln Val Ile Asn Pro Pro Asn Ser Thr Gln  
 355 360 365

Lys Thr Glu Val Gln Pro Thr Gln Val Ile Asp Gly Pro Phe Ala Gly  
 370 375 380

Gly Lys Asp Thr Val Val Asn Ile Asp Arg Ile Asn Thr Lys Ala Asp  
 385 390 395 400

Gly Thr Ile Lys Val Gly Gly Phe Lys Ala Ser Leu Thr Thr Asn Ala  
 405 410 415

Ala His Leu Asn Ile Gly Lys Gly Gly Val Asn Leu Ser Asn Gln Ala  
 420 425 430

Ser Gly Arg Thr Leu Leu Val Glu Asn Leu Thr Gly Asn Ile Thr Val  
 435 440 445

Asp Gly Pro Leu Arg Val Asn Asn Gln Val Gly Gly Tyr Ala Leu Ala  
 450 455 460

Gly Ser Ser Ala Asn Phe Glu Phe Lys Ala Gly Val Asp Thr Lys Asn

ES 2 806 773 T3

465					470						475				480
Gly	Thr	Ala	Thr	Phe	Asn	Asn	Asp	Ile	Ser	Leu	Gly	Arg	Phe	Val	Asn
				485					490					495	
Leu	Lys	Val	Asp	Ala	His	Thr	Ala	Asn	Phe	Lys	Gly	Ile	Asp	Thr	Gly
			500					505					510		
Asn	Gly	Gly	Phe	Asn	Thr	Leu	Asp	Phe	Ser	Gly	Val	Thr	Asn	Lys	Val
		515					520					525			
Asn	Ile	Asn	Lys	Leu	Ile	Thr	Ala	Ser	Thr	Asn	Val	Ala	Val	Lys	Asn
	530					535					540				
Phe	Asn	Ile	Asn	Glu	Leu	Ile	Val	Lys	Thr	Asn	Gly	Val	Ser	Val	Gly
545					550					555					560
Glu	Tyr	Thr	His	Phe	Ser	Glu	Asp	Ile	Gly	Ser	Gln	Ser	Arg	Ile	Asn
				565					570					575	
Thr	Val	Arg	Leu	Glu	Thr	Gly	Thr	Arg	Ser	Ile	Phe	Ser	Gly	Gly	Val
			580					585					590		
Lys	Phe	Lys	Ser	Gly	Glu	Lys	Leu	Val	Ile	Asp	Glu	Phe	Tyr	Tyr	Ser
		595					600					605			
Pro	Trp	Asn	Tyr	Phe	Asp	Ala	Arg	Asn	Ile	Lys	Asn	Val	Glu	Ile	Thr
	610					615						620			
Arg	Lys	Phe	Ala	Ser	Ser	Thr	Pro	Glu	Asn	Pro	Trp	Gly	Thr	Ser	Lys
625					630					635					640
Leu	Met	Phe	Asn	Asn	Leu	Thr	Leu	Gly	Gln	Asn	Ala	Val	Met	Asp	Tyr
				645					650					655	
Ser	Gln	Phe	Ser	Asn	Leu	Thr	Ile	Gln	Gly	Asp	Phe	Ile	Asn	Asn	Gln
			660					665					670		
Gly	Thr	Ile	Asn	Tyr	Leu	Val	Arg	Gly	Gly	Lys	Val	Ala	Thr	Leu	Asn
		675					680					685			
Val	Gly	Asn	Ala	Ala	Ala	Met	Met	Phe	Asn	Asn	Asp	Ile	Asp	Ser	Ala
	690					695					700				
Thr	Gly	Phe	Tyr	Lys	Pro	Leu	Ile	Lys	Ile	Asn	Ser	Ala	Gln	Asp	Leu
705					710					715					720

ES 2 806 773 T3

Ile Lys Asn Thr Glu His Val Leu Leu Lys Ala Lys Ile Ile Gly Tyr  
725 730 735

Gly Asn Val Ser Thr Gly Thr Asn Gly Ile Ser Asn Val Asn Leu Glu  
740 745 750

Glu Gln Phe Lys Glu Arg Leu Ala Leu Tyr Asn Asn Asn Asn Arg Met  
755 760 765

Asp Thr Cys Val Val Arg Asn Thr Asp Asp Ile Lys Ala Cys Gly Met  
770 775 780

Ala Ile Gly Asn Gln Ser Met Val Asn Asn Pro Asp Asn Tyr Lys Tyr  
785 790 795 800

Leu Ile Gly Lys Ala Trp Lys Asn Ile Gly Ile Ser Lys Thr Ala Asn  
805 810 815

Gly Ser Lys Ile Ser Val Tyr Tyr Leu Gly Asn Ser Thr Pro Thr Glu  
820 825 830

Asn Gly Gly Asn Thr Thr Asn Leu Pro Thr Asn Thr Thr Asn Asn Ala  
835 840 845

Arg Phe Ala Ser Tyr Ala Leu Ile Lys Asn Ala Pro Phe Ala His Ser  
850 855 860

Ala Thr Pro Asn Leu Val Ala Ile Asn Gln His Asp Phe Gly Thr Ile  
865 870 875 880

Glu Ser Val Phe Glu Leu Ala Asn Arg Ser Lys Asp Ile Asp Thr Leu  
885 890 895

Tyr Ala Asn Ser Gly Ala Gln Gly Arg Asp Leu Leu Gln Thr Leu Leu  
900 905 910

Ile Asp Ser His Asp Ala Gly Tyr Ala Arg Thr Met Ile Asp Ala Thr  
915 920 925

Ser Ala Asn Glu Ile Thr Lys Gln Leu Asn Thr Ala Thr Thr Thr Leu  
930 935 940

Asn Asn Ile Ala Ser Leu Glu His Lys Thr Ser Ser Leu Gln Thr Leu  
945 950 955 960

Ser Leu Ser Asn Ala Met Ile Leu Asn Ser Arg Leu Val Asn Leu Ser  
965 970 975



ES 2 806 773 T3

Arg Arg His Thr Asn Asn Ile Asp Ser Phe Ala Lys Arg Leu Gln Ala  
980 985 990

Leu Lys Asp Gln Arg Phe Ala Ser Leu Glu Ser Ala Ala Glu Val Leu  
995 1000 1005

Tyr Gln Phe Ala Pro Lys Tyr Glu Lys Pro Thr Asn Val Trp Ala  
1010 1015 1020

Asn Ala Ile Gly Gly Ala Ser Leu Asn Asn Gly Gly Asn Ala Ser  
1025 1030 1035

Leu Tyr Gly Thr Ser Ala Gly Val Asp Ala Tyr Leu Asn Gly Gln  
1040 1045 1050

Val Glu Ala Ile Val Gly Gly Phe Gly Ser Tyr Gly Tyr Ser Ser  
1055 1060 1065

Phe Asn Asn Gln Ala Asn Ser Leu Asn Ser Gly Ala Asn Asn Thr  
1070 1075 1080

Asn Phe Gly Val Tyr Ser Arg Ile Phe Ala Asn Gln His Glu Phe  
1085 1090 1095

Asp Phe Glu Ala Gln Gly Ala Leu Gly Ser Asp Gln Ser Ser Leu  
1100 1105 1110

Asn Phe Lys Ser Ala Leu Leu Arg Asp Leu Asn Gln Ser Tyr Asn  
1115 1120 1125

Tyr Leu Ala Tyr Ser Ala Ala Thr Arg Ala Ser Tyr Gly Tyr Asp  
1130 1135 1140

Phe Ala Phe Phe Arg Asn Ala Leu Val Leu Lys Pro Ser Val Gly  
1145 1150 1155

Val Ser Tyr Asn His Leu Gly Ser Thr Asn Phe Lys Ser Asn Ser  
1160 1165 1170

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

Phe Asn Ala Ser Ala Asn Val Glu Ala Arg Tyr Tyr Tyr Gly Asp  
1190 1195 1200

Thr Ser Tyr Phe Tyr Met Asn Ala Gly Val Leu Gln Glu Phe Ala  
1205 1210 1215

ES 2 806 773 T3

Asn Phe Gly Ser Ser Asn Ala Val Ser Leu Asn Thr Phe Lys Val  
 1220 1225 1230

Asn Ala Thr Arg Asn Pro Leu Asn Thr His Ala Arg Val Met Met  
 1235 1240 1245

Gly Gly Glu Leu Lys Leu Ala Lys Glu Val Phe Leu Asn Leu Gly  
 1250 1255 1260

Val Val Tyr Leu His Asn Leu Ile Ser Asn Ile Gly His Phe Ala  
 1265 1270 1275

Ser Asn Leu Gly Met Arg Tyr Ser Phe  
 1280 1285

<210> 6  
 <211> 1290  
 5 <212> PRT  
 <213> Cepa de Helicobacter pylori 26695  
 <400> 6

Met Glu Ile Gln Gln Thr His Arg Lys Ile Asn Arg Pro Leu Val Ser  
 1 5 10 15

Leu Ala Leu Val Gly Ala Leu Val Ser Ile Thr Pro Gln Gln Ser His  
 20 25 30

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

Ala Thr Gly Ala Ala Val Gly Thr Val Ser Gly Leu Leu Gly Trp Gly  
 50 55 60

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

Val Trp Arg Ile Gln Ala Gly Lys Gly Phe Asn Glu Phe Pro Asn Lys  
 85 90 95

Glu Tyr Asp Leu Tyr Arg Ser Leu Leu Ser Ser Lys Ile Asp Gly Gly  
 100 105 110

Trp Asp Trp Gly Asn Ala Ala Thr His Tyr Trp Val Lys Gly Gly Gln  
 115 120 125

Trp Asn Lys Leu Glu Val Asp Met Lys Asp Ala Val Gly Thr Tyr Asn  
 130 135 140

10

ES 2 806 773 T3

Leu Ser Gly Leu Arg Asn Phe Thr Gly Gly Asp Leu Asp Val Asn Met  
 145 150 155 160

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

Ser Tyr Lys Asp Ser Ala Asp Arg Thr Thr Arg Val Asp Phe Asn Ala  
 180 185 190

Lys Asn Ile Leu Ile Asp Asn Phe Leu Glu Ile Asn Asn Arg Val Gly  
 195 200 205

Ser Gly Ala Gly Arg Lys Ala Ser Ser Thr Val Leu Thr Leu Gln Ala  
 210 215 220

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

Gly Ala Thr Leu Asn Leu Ala Ser Asn Ser Val Lys Leu Met Gly Asn  
 245 250 255

Val Trp Met Gly Arg Leu Gln Tyr Val Gly Ala Tyr Leu Ala Pro Ser  
 260 265 270

Tyr Ser Thr Ile Asn Thr Ser Lys Val Thr Gly Glu Val Asn Phe Asn  
 275 280 285

His Leu Thr Val Gly Asp His Asn Ala Ala Gln Ala Gly Ile Ile Ala  
 290 295 300

Ser Asn Lys Thr His Ile Gly Thr Leu Asp Leu Trp Gln Ser Ala Gly  
 305 310 315 320

Leu Asn Ile Ile Ala Pro Pro Glu Gly Gly Tyr Lys Asp Lys Pro Lys  
 325 330 335

Asp Lys Pro Ser Asn Thr Thr Gln Asn Asn Ala Asn Asn Asn Gln Gln  
 340 345 350

Asn Ser Ala Gln Asn Asn Ser Asn Thr Gln Val Ile Asn Pro Pro Asn  
 355 360 365

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

Phe Ala Gly Gly Lys Asp Thr Val Val Asn Ile Asp Arg Ile Asn Thr

ES 2 806 773 T3

```

385                               390                               395                               400

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

Thr Asn Ala Ala His Leu His Ile Gly Lys Gly Gly Ile Asn Leu Ser
                               420                               425                               430

Asn Gln Ala Ser Gly Arg Thr Leu Leu Val Glu Asn Leu Thr Gly Asn
                               435                               440                               445

Ile Thr Val Asp Gly Pro Leu Arg Val Asn Asn Gln Val Gly Gly Tyr
                               450                               455                               460

Ala Leu Ala Gly Ser Ser Ala Asn Phe Glu Phe Lys Ala Gly Thr Asp
465                               470                               475                               480

Thr Lys Asn Gly Thr Ala Thr Phe Asn Asn Asp Ile Ser Leu Gly Arg
                               485                               490                               495

Phe Val Asn Leu Lys Val Asp Ala His Thr Ala Asn Phe Lys Gly Ile
                               500                               505                               510

Asp Thr Gly Asn Gly Gly Phe Asn Thr Leu Asp Phe Ser Gly Val Thr
                               515                               520                               525

Gly Lys Val Asn Ile Asn Lys Leu Ile Thr Ala Ser Thr Asn Val Ala
                               530                               535                               540

Val Lys Asn Phe Asn Ile Asn Glu Leu Val Val Lys Thr Asn Gly Val
545                               550                               555                               560

Ser Val Gly Glu Tyr Thr His Phe Ser Glu Asp Ile Gly Ser Gln Ser
                               565                               570                               575

Arg Ile Asn Thr Val Arg Leu Glu Thr Gly Thr Arg Ser Ile Phe Ser
                               580                               585                               590

Gly Gly Val Lys Phe Lys Ser Gly Glu Lys Leu Val Ile Asp Glu Phe
                               595                               600                               605

Tyr Tyr Ser Pro Trp Asn Tyr Phe Asp Ala Arg Asn Ile Lys Asn Val
610                               615                               620

Glu Ile Thr Arg Lys Phe Ala Ser Ser Thr Pro Glu Asn Pro Trp Gly
625                               630                               635                               640

```

ES 2 806 773 T3

Thr Ser Lys Leu Met Phe Asn Asn Leu Thr Leu Gly Gln Asn Ala Val  
 645 650 655  
 Met Asp Tyr Ser Gln Phe Ser Asn Leu Thr Ile Gln Gly Asp Phe Ile  
 660 665 670  
 Asn Asn Gln Gly Thr Ile Asn Tyr Leu Val Arg Gly Gly Gln Val Ala  
 675 680 685  
 Thr Leu Asn Val Gly Asn Ala Ala Ala Met Phe Phe Ser Asn Asn Val  
 690 695 700  
 Asp Ser Ala Thr Gly Phe Tyr Gln Pro Leu Met Lys Ile Asn Ser Ala  
 705 710 715 720  
 Gln Asp Leu Ile Lys Asn Lys Glu His Val Leu Leu Lys Ala Lys Ile  
 725 730 735  
 Ile Gly Tyr Gly Asn Val Ser Leu Gly Thr Asn Ser Ile Ser Asn Val  
 740 745 750  
 Asn Leu Ile Glu Gln Phe Lys Glu Arg Leu Ala Leu Tyr Asn Asn Asn  
 755 760 765  
 Asn Arg Met Asp Ile Cys Val Val Arg Asn Thr Asp Asp Ile Lys Ala  
 770 775 780  
 Cys Gly Thr Ala Ile Gly Asn Gln Ser Met Val Asn Asn Pro Asp Asn  
 785 790 795 800  
 Tyr Lys Tyr Leu Ile Gly Lys Ala Trp Lys Asn Ile Gly Ile Ser Lys  
 805 810 815  
 Thr Ala Asn Gly Ser Lys Ile Ser Val Tyr Tyr Leu Gly Asn Ser Thr  
 820 825 830  
 Pro Thr Glu Lys Gly Gly Asn Thr Thr Asn Leu Pro Thr Asn Thr Thr  
 835 840 845  
 Ser Asn Val Arg Ser Ala Asn Asn Ala Leu Ala Gln Asn Ala Pro Phe  
 850 855 860  
 Ala Gln Pro Ser Ala Thr Pro Asn Leu Val Ala Ile Asn Gln His Asp  
 865 870 875 880  
 Phe Gly Thr Ile Glu Ser Val Phe Glu Leu Ala Asn Arg Ser Lys Asp  
 885 890 895

ES 2 806 773 T3

Ile Asp Thr Leu Tyr Ala Asn Ser Gly Ala Gln Gly Arg Asp Leu Leu  
 900 905 910

Gln Thr Leu Leu Ile Asp Ser His Asp Ala Gly Tyr Ala Arg Gln Met  
 915 920 925

Ile Asp Asn Thr Ser Thr Gly Glu Ile Thr Lys Gln Leu Asn Ala Ala  
 930 935 940

Thr Thr Thr Leu Asn Asn Ile Ala Ser Leu Glu His Lys Thr Ser Ser  
 945 950 955 960

Leu Gln Thr Leu Ser Leu Ser Asn Ala Met Ile Leu Asn Ser Arg Leu  
 965 970 975

Val Asn Leu Ser Arg Arg His Thr Asn Asn Ile Asp Ser Phe Ala Gln  
 980 985 990

Arg Leu Gln Ala Leu Lys Asp Gln Lys Phe Ala Ser Leu Glu Ser Ala  
 995 1000 1005

Ala Glu Val Leu Tyr Gln Phe Ala Pro Lys Tyr Glu Lys Pro Thr  
 1010 1015 1020

Asn Val Trp Ala Asn Ala Ile Gly Gly Thr Ser Leu Asn Asn Gly  
 1025 1030 1035

Gly Asn Ala Ser Leu Tyr Gly Thr Ser Ala Gly Val Asp Ala Tyr  
 1040 1045 1050

Leu Asn Gly Glu Val Glu Ala Ile Val Gly Gly Phe Gly Ser Tyr  
 1055 1060 1065

Gly Tyr Ser Ser Phe Asn Asn Gln Ala Asn Ser Leu Asn Ser Gly  
 1070 1075 1080

Ala Asn Asn Thr Asn Phe Gly Val Tyr Ser Arg Ile Phe Ala Asn  
 1085 1090 1095

Gln His Glu Phe Asp Phe Glu Ala Gln Gly Ala Leu Gly Ser Asp  
 1100 1105 1110

Gln Ser Ser Leu Asn Phe Lys Ser Ala Leu Leu Arg Asp Leu Asn  
 1115 1120 1125

Gln Ser Tyr Asn Tyr Leu Ala Tyr Ser Ala Ala Thr Arg Ala Ser  
 1130 1135 1140

ES 2 806 773 T3

Tyr Gly Tyr Asp Phe Ala Phe Phe Arg Asn Ala Leu Val Leu Lys  
 1145 1150 1155

Pro Ser Val Gly Val Ser Tyr Asn His Leu Gly Ser Thr Asn Phe  
 1160 1165 1170

Lys Ser Asn Ser Asn Gln Val Ala Leu Lys Asn Gly Ser Ser Ser  
 1175 1180 1185

Gln His Leu Phe Asn Ala Ser Ala Asn Val Glu Ala Arg Tyr Tyr  
 1190 1195 1200

Tyr Gly Asp Thr Ser Tyr Phe Tyr Met Asn Ala Gly Val Leu Gln  
 1205 1210 1215

Glu Phe Ala Asn Phe Gly Ser Ser Asn Ala Val Ser Leu Asn Thr  
 1220 1225 1230

Phe Lys Val Asn Ala Ala His Asn Pro Leu Ser Thr His Ala Arg  
 1235 1240 1245

Val Met Met Gly Gly Glu Leu Lys Leu Ala Lys Glu Val Phe Leu  
 1250 1255 1260

Asn Leu Gly Phe Val Tyr Leu His Asn Leu Ile Ser Asn Ile Gly  
 1265 1270 1275

His Phe Ala Ser Asn Leu Gly Met Arg Tyr Ser Phe  
 1280 1285 1290

<210> 7  
 <211> 1288  
 5 <212> PRT  
 <213> Cepa de Helicobacter pylori J99

<400> 7

Met Glu Ile Gln Gln Thr His Arg Lys Ile Asn Arg Pro Leu Val Ser  
 1 5 10 15

Leu Val Leu Ala Gly Ala Leu Ile Ser Ala Ile Pro Gln Glu Ser His  
 20 25 30

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

Ala Thr Gly Thr Ala Val Gly Thr Val Ser Gly Leu Leu Ser Trp Gly  
 50 55 60

10

ES 2 806 773 T3

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



ES 2 806 773 T3

305						310						315				320
Leu	Asn	Ile	Ile	Ala	Pro	Pro	Glu	Gly	Gly	Tyr	Lys	Asp	Lys	Pro	Asn	
				325					330					335		
Ser	Thr	Thr	Ser	Gln	Ser	Gly	Thr	Lys	Asn	Asp	Lys	Lys	Glu	Ile	Ser	
			340					345					350			
Gln	Asn	Asn	Asn	Ser	Asn	Thr	Glu	Val	Ile	Asn	Pro	Pro	Asn	Asn	Thr	
		355					360					365				
Gln	Lys	Thr	Glu	Thr	Glu	Pro	Thr	Gln	Val	Ile	Asp	Gly	Pro	Phe	Ala	
	370					375					380					
Gly	Gly	Lys	Asp	Thr	Val	Val	Asn	Ile	Phe	His	Leu	Asn	Thr	Lys	Ala	
385					390					395					400	
Asp	Gly	Thr	Ile	Lys	Val	Gly	Gly	Phe	Lys	Ala	Ser	Leu	Thr	Thr	Asn	
				405					410					415		
Ala	Ala	His	Leu	Asn	Ile	Gly	Lys	Gly	Gly	Val	Asn	Leu	Ser	Asn	Gln	
			420					425					430			
Ala	Ser	Gly	Arg	Thr	Leu	Leu	Val	Glu	Asn	Leu	Thr	Gly	Asn	Ile	Thr	
		435					440					445				
Val	Asp	Gly	Pro	Leu	Arg	Val	Asn	Asn	Gln	Val	Gly	Gly	Tyr	Ala	Leu	
	450					455					460					
Ala	Gly	Ser	Ser	Ala	Asn	Phe	Glu	Phe	Lys	Ala	Gly	Val	Asp	Thr	Lys	
465					470					475					480	
Asn	Gly	Thr	Ala	Thr	Phe	Asn	Asn	Asp	Ile	Ser	Leu	Gly	Arg	Phe	Val	
				485					490					495		
Asn	Leu	Lys	Val	Asp	Ala	His	Thr	Ala	Asn	Phe	Lys	Gly	Ile	Asp	Thr	
			500					505					510			
Gly	Asn	Gly	Gly	Phe	Asn	Thr	Leu	Asp	Phe	Ser	Gly	Val	Thr	Asp	Lys	
		515					520					525				
Val	Asn	Ile	Asn	Lys	Leu	Ile	Thr	Ala	Ser	Thr	Asn	Val	Ala	Val	Lys	
	530					535					540					
Asn	Phe	Asn	Ile	Asn	Glu	Leu	Ile	Val	Lys	Thr	Asn	Gly	Ile	Ser	Val	
545					550					555					560	

ES 2 806 773 T3

Gly Glu Tyr Thr His Phe Ser Glu Asp Ile Gly Ser Gln Ser Arg Ile  
565 570 575

Asn Thr Val Arg Leu Glu Thr Gly Thr Arg Ser Ile Phe Ser Gly Gly  
580 585 590

Val Lys Phe Lys Ser Gly Glu Lys Leu Val Ile Asn Asp Phe Tyr Tyr  
595 600 605

Ser Pro Trp Asn Tyr Phe Asp Ala Arg Asn Val Lys Asn Val Glu Ile  
610 615 620

Thr Arg Lys Phe Ala Ser Ser Thr Pro Glu Asn Pro Trp Gly Thr Ser  
625 630 635 640

Lys Leu Met Phe Asn Asn Leu Thr Leu Gly Gln Asn Ala Val Met Asp  
645 650 655

Tyr Ser Gln Phe Ser Asn Leu Thr Ile Gln Gly Asp Phe Ile Asn Asn  
660 665 670

Gln Gly Thr Ile Asn Tyr Leu Val Arg Gly Gly Lys Val Ala Thr Leu  
675 680 685

Asn Val Gly Asn Ala Ala Ala Met Met Phe Asn Asn Asp Ile Asp Ser  
690 695 700

Ala Thr Gly Phe Tyr Lys Pro Leu Ile Lys Ile Asn Ser Ala Gln Asp  
705 710 715 720

Leu Ile Lys Asn Thr Glu His Val Leu Leu Lys Ala Lys Ile Ile Gly  
725 730 735

Tyr Gly Asn Val Ser Thr Gly Thr Asn Gly Ile Ser Asn Val Asn Leu  
740 745 750

Glu Glu Gln Phe Lys Glu Arg Leu Ala Leu Tyr Asn Asn Asn Asn Arg  
755 760 765

Met Asp Thr Cys Val Val Arg Asn Thr Asp Asp Ile Lys Ala Cys Gly  
770 775 780

Met Ala Ile Gly Asn Gln Ser Met Val Asn Asn Pro Asp Asn Tyr Lys  
785 790 795 800

Tyr Leu Ile Gly Lys Ala Trp Arg Asn Ile Gly Ile Ser Lys Thr Ala  
805 810 815

ES 2 806 773 T3

Asn Gly Ser Lys Ile Ser Val Tyr Tyr Leu Gly Asn Ser Thr Pro Thr  
820 825 830

Glu Asn Gly Gly Asn Thr Thr Asn Leu Pro Thr Asn Thr Thr Asn Asn  
835 840 845

Ala His Ser Ala Asn Tyr Ala Leu Val Lys Asn Ala Pro Phe Ala His  
850 855 860

Ser Ala Thr Pro Asn Leu Val Ala Ile Asn Gln His Asp Phe Gly Thr  
865 870 875 880

Ile Glu Ser Val Phe Glu Leu Ala Asn Arg Ser Lys Asp Ile Asp Thr  
885 890 895

Leu Tyr Thr His Ser Gly Ala Gln Gly Arg Asp Leu Leu Gln Thr Leu  
900 905 910

Leu Ile Asp Ser His Asp Ala Gly Tyr Ala Arg Gln Met Ile Asp Asn  
915 920 925

Thr Ser Thr Gly Glu Ile Thr Lys Gln Leu Asn Ala Ala Thr Asp Ala  
930 935 940

Leu Asn Asn Val Ala Ser Leu Glu His Lys Gln Ser Gly Leu Gln Thr  
945 950 955 960

Leu Ser Leu Ser Asn Ala Met Ile Leu Asn Ser Arg Leu Val Asn Leu  
965 970 975

Ser Arg Lys His Thr Asn His Ile Asn Ser Phe Ala Gln Arg Leu Gln  
980 985 990

Ala Leu Lys Gly Gln Glu Phe Ala Ser Leu Glu Ser Ala Ala Glu Val  
995 1000 1005

Leu Tyr Gln Phe Ala Pro Lys Tyr Glu Lys Pro Thr Asn Val Trp  
1010 1015 1020

Ala Asn Ala Ile Gly Gly Ala Ser Leu Asn Ser Gly Ser Asn Ala  
1025 1030 1035

Ser Leu Tyr Gly Thr Ser Ala Gly Val Asp Ala Phe Leu Asn Gly  
1040 1045 1050

Asn Val Glu Ala Ile Val Gly Gly Phe Gly Ser Tyr Gly Tyr Ser  
1055 1060 1065

ES 2 806 773 T3

Ser Phe Ser Asn Gln Ala Asn Ser Leu Asn Ser Gly Ala Asn Asn  
 1070 1075 1080

Ala Asn Phe Gly Val Tyr Ser Arg Phe Phe Ala Asn Gln His Glu  
 1085 1090 1095

Phe Asp Phe Glu Ala Gln Gly Ala Leu Gly Ser Asp Gln Ser Ser  
 1100 1105 1110

Leu Asn Phe Lys Ser Thr Leu Leu Gln Asp Leu Asn Gln Ser Tyr  
 1115 1120 1125

Asn Tyr Leu Ala Tyr Ser Ala Thr Ala Arg Ala Ser Tyr Gly Tyr  
 1130 1135 1140

Asp Phe Ala Phe Phe Arg Asn Ala Leu Val Leu Lys Pro Ser Val  
 1145 1150 1155

Gly Val Ser Tyr Asn His Leu Gly Ser Thr Asn Phe Lys Ser Asn  
 1160 1165 1170

Ser Gln Ser Gln Val Ala Leu Lys Asn Gly Ala Ser Ser Gln His  
 1175 1180 1185

Leu Phe Asn Ala Asn Ala Asn Val Glu Ala Arg Tyr Tyr Tyr Gly  
 1190 1195 1200

Asp Thr Ser Tyr Phe Tyr Leu His Ala Gly Val Leu Gln Glu Phe  
 1205 1210 1215

Ala His Phe Gly Ser Asn Asp Val Ala Ser Leu Asn Thr Phe Lys  
 1220 1225 1230

Ile Asn Ala Ala Arg Ser Pro Leu Ser Thr Tyr Ala Arg Ala Met  
 1235 1240 1245

Met Gly Gly Glu Leu Gln Leu Ala Lys Glu Val Phe Leu Asn Leu  
 1250 1255 1260

Gly Val Val Tyr Leu His Asn Leu Ile Ser Asn Ala Ser His Phe  
 1265 1270 1275

Ala Ser Asn Leu Gly Met Arg Tyr Ser Phe  
 1280 1285

<210> 8

<211> 1290

5 <212> PRT

<213> Cepa de Helicobacter pylori NCTC 11637

<400> 8

ES 2 806 773 T3

Met Glu Ile Gln Gln Thr His Arg Lys Ile Asn Arg Pro Leu Val Ser  
1 5 10 15

Leu Ala Leu Val Gly Ala Leu Val Ser Ile Thr Pro Gln Gln Ser His  
20 25 30

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

Ala Thr Gly Ala Ala Val Gly Thr Val Ser Gly Leu Leu Ser Trp Gly  
50 55 60

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

Val Trp Arg Ile Gln Ala Gly Arg Gly Phe Asn Asn Phe Pro His Lys  
85 90 95

Glu Tyr Asp Leu Tyr Lys Ser Leu Leu Ser Ser Lys Ile Asp Gly Gly  
100 105 110

Trp Asp Trp Gly Asn Ala Ala Arg His Tyr Trp Val Lys Gly Gly Gln  
115 120 125

Trp Asn Lys Leu Glu Val Asp Met Lys Asp Ala Val Gly Thr Tyr Lys  
130 135 140

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

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

Ser Tyr Lys Asp Ser Ala Asp Arg Thr Thr Arg Val Asp Phe Asn Ala  
180 185 190

Lys Asn Ile Leu Ile Asp Asn Phe Leu Glu Ile Asn Asn Arg Val Gly  
195 200 205

Ser Gly Ala Gly Arg Lys Ala Ser Ser Thr Val Leu Thr Leu Gln Ala  
210 215 220

Ser Glu Gly Ile Thr Ser Ser Lys Asn Ala Glu Ile Ser Leu Tyr Asp



ES 2 806 773 T3

Thr Lys Asn Gly Thr Ala Thr Phe Asn Asn Asp Ile Ser Leu Gly Arg  
485 490 495

Phe Val Asn Leu Lys Val Asp Ala His Thr Ala Asn Phe Lys Gly Ile  
500 505 510

Asp Thr Gly Asn Gly Gly Phe Asn Thr Leu Asp Phe Ser Gly Val Thr  
515 520 525

Asp Lys Val Asn Ile Asn Lys Leu Ile Thr Ala Ser Thr Asn Val Ala  
530 535 540

Ile Lys Asn Phe Asn Ile Asn Glu Leu Leu Val Lys Thr Asn Gly Val  
545 550 555 560

Ser Val Gly Glu Tyr Thr His Phe Ser Glu Asp Ile Gly Ser Gln Ser  
565 570 575

Arg Ile Asn Thr Val Arg Leu Glu Thr Gly Thr Arg Ser Ile Phe Ser  
580 585 590

Gly Gly Val Lys Phe Lys Ser Gly Glu Lys Leu Val Ile Asp Glu Phe  
595 600 605

Tyr Tyr Ser Pro Trp Asn Tyr Phe Asp Ala Arg Asn Ile Lys Asn Val  
610 615 620

Glu Ile Thr Arg Lys Phe Ala Ser Ser Thr Pro Glu Asn Pro Trp Gly  
625 630 635 640

Thr Ser Lys Leu Met Phe Asn Asn Leu Thr Leu Gly Gln Asn Ala Val  
645 650 655

Met Asp Tyr Ser Gln Phe Ser Asn Leu Thr Ile Gln Gly Asp Phe Ile  
660 665 670

Asn Asn Gln Gly Thr Ile Asn Tyr Leu Val Arg Gly Gly Lys Val Ala  
675 680 685

Thr Leu Asn Val Gly Asn Ala Ala Ala Met Met Phe Asn Asn Asp Ile  
690 695 700

Asp Ser Ala Thr Gly Phe Tyr Lys Pro Leu Ile Lys Ile Asn Ser Ala  
705 710 715 720

Gln Asp Leu Ile Lys Asn Thr Glu His Val Leu Leu Lys Ala Lys Ile  
725 730 735

ES 2 806 773 T3

Ile Gly Tyr Gly Asn Val Ser Thr Gly Thr Asn Gly Ile Ser Asn Val  
740 745 750

Asn Leu Glu Glu Gln Phe Lys Glu Arg Leu Ala Leu Tyr Asn Asn Asn  
755 760 765

Asn Arg Met Asp Thr Cys Val Val Arg Asn Thr Asp Asp Ile Lys Ala  
770 775 780

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

Tyr Lys Tyr Leu Ile Gly Lys Ala Trp Lys Asn Ile Gly Ile Ser Lys  
805 810 815

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

Pro Thr Glu Asn Gly Gly Asn Thr Thr Asn Leu Pro Thr Asn Thr Thr  
835 840 845

Asn Asn Ala Arg Ser Ala Asn Tyr Ala Leu Val Lys Asn Ala Pro Phe  
850 855 860

Ala His Ser Ala Thr Pro Asn Leu Val Ala Ile Asn Gln His Asp Phe  
865 870 875 880

Gly Thr Ile Glu Ser Val Phe Glu Leu Ala Asn Arg Ser Lys Asp Ile  
885 890 895

Asp Thr Leu Tyr Thr His Ser Gly Ala Lys Gly Arg Asp Leu Leu Gln  
900 905 910

Thr Leu Leu Ile Asp Ser His Asp Ala Gly Tyr Ala Arg Gln Met Ile  
915 920 925

Asp Asn Thr Ser Thr Gly Glu Ile Thr Lys Gln Leu Asn Ala Ala Thr  
930 935 940

Thr Thr Leu Asn Asn Ile Ala Ser Leu Glu His Lys Thr Ser Ser Leu  
945 950 955 960

Gln Thr Leu Ser Leu Ser Asn Ala Met Ile Leu Asn Ser Arg Leu Val  
965 970 975

Asn Leu Ser Arg Lys His Thr Asn Asn Ile Asp Ser Phe Ala Lys Arg  
980 985 990



ES 2 806 773 T3

Leu Gln Ala Leu Lys Asp Gln Arg Phe Ala Ser Leu Glu Ser Ala Ala  
 995 1000 1005

Glu Val Leu Tyr Gln Phe Ala Pro Lys Tyr Glu Lys Pro Thr Asn  
 1010 1015 1020

Val Trp Ala Asn Ala Ile Gly Gly Ala Ser Leu Asn Asn Gly Ser  
 1025 1030 1035

Asn Ala Ser Leu Tyr Gly Thr Ser Ala Gly Val Asp Ala Tyr Leu  
 1040 1045 1050

Asn Gly Gln Val Glu Ala Ile Val Gly Gly Phe Gly Ser Tyr Gly  
 1055 1060 1065

Tyr Ser Ser Phe Ser Asn Arg Ala Asn Ser Leu Asn Ser Gly Ala  
 1070 1075 1080

Asn Asn Thr Asn Phe Gly Val Tyr Ser Arg Ile Phe Ala Asn Gln  
 1085 1090 1095

His Glu Phe Asp Phe Glu Ala Gln Gly Ala Leu Gly Ser Asp Gln  
 1100 1105 1110

Ser Ser Leu Asn Phe Lys Ser Ala Leu Leu Gln Asp Leu Asn Gln  
 1115 1120 1125

Ser Tyr Asn Tyr Leu Ala Tyr Ser Ala Ala Thr Arg Ala Ser Tyr  
 1130 1135 1140

Gly Tyr Asp Phe Ala Phe Phe Lys Asn Ala Leu Val Leu Lys Pro  
 1145 1150 1155

Ser Val Gly Val Ser Tyr Asn His Leu Gly Ser Thr Asn Phe Lys  
 1160 1165 1170

Ser Asn Ser Thr Asn Lys Val Ala Leu Ser Asn Gly Ser Ser Ser  
 1175 1180 1185

Gln His Leu Phe Asn Ala Ser Ala Asn Val Glu Ala Arg Tyr Tyr  
 1190 1195 1200

Tyr Gly Asp Thr Ser Tyr Phe Tyr Met Asn Ala Gly Val Leu Gln  
 1205 1210 1215

Glu Phe Ala Asn Phe Gly Ser Ser Asn Ala Val Ser Leu Asn Thr

ES 2 806 773 T3

1220 1225 1230

Phe Lys Val Asn Ala Ala Arg Asn Pro Leu Asn Thr His Ala Arg  
 1235 1240 1245

Val Met Met Gly Gly Glu Leu Gln Leu Ala Lys Glu Val Phe Leu  
 1250 1255 1260

Asn Leu Gly Phe Val Tyr Leu His Asn Leu Ile Ser Asn Ile Gly  
 1265 1270 1275

His Phe Ala Ser Asn Leu Gly Met Arg Tyr Ser Phe  
 1280 1285 1290

<210> 9  
 <211> 1296  
 5 <212> PRT  
 <213> Helicobacter pylori P12  
 <400> 9

10 Met Glu Ile Gln Gln Thr His Arg Lys Ile Asn Arg Pro Leu Val Ser  
 1 5 10 15

Leu Ala Leu Val Gly Ala Leu Val Ser Ile Thr Pro Gln Gln Ser His  
 20 25 30

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

Ala Ser Gly Ala Ala Val Gly Thr Val Ser Gly Leu Leu Gly Trp Gly  
 50 55 60

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

Val Trp Arg Ile Gln Ala Gly Lys Gly Phe Asn Glu Phe Pro Asn Lys  
 85 90 95

Glu Tyr Asp Leu Tyr Arg Ser Leu Leu Ser Ser Lys Ile Asp Gly Gly  
 100 105 110

Trp Asp Trp Gly Asn Ala Ala Thr His Tyr Trp Val Lys Gly Gly Gln  
 115 120 125

Trp Asn Lys Leu Glu Val Asp Met Lys Asp Ala Val Gly Thr Tyr Asn  
 130 135 140

Leu Ser Gly Leu Arg Asn Phe Thr Gly Gly Asp Leu Asp Val Asn Met

ES 2 806 773 T3

145                                    150                                    155                                    160

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

Ser Tyr Lys Asp Ser Ala Asp Arg Thr Thr Arg Val Asp Phe Asn Ala  
    180                                    185                                    190

Lys Asn Ile Ser Ile Asp Asn Phe Leu Glu Ile Asn Asn Arg Val Gly  
    195                                    200                                    205

Ser Gly Ala Gly Arg Lys Ala Ser Ser Thr Val Leu Thr Leu Gln Ala  
    210                                    215                                    220

Ser Glu Gly Ile Thr Ser Ser Lys Asn Ala Glu Ile Ser Leu Tyr Asp  
225                                    230                                    235

Gly Ala Thr Leu Asn Leu Ala Ser Ser Ser Val Lys Leu Met Gly Asn  
    245                                    250                                    255

Val Trp Met Gly Arg Leu Gln Tyr Val Gly Ala Tyr Leu Ala Pro Ser  
    260                                    265                                    270

Tyr Ser Thr Ile Asn Thr Ser Lys Val Thr Gly Glu Val Asn Phe Asn  
    275                                    280                                    285

His Leu Thr Val Gly Asp Arg Asn Ala Ala Gln Ala Gly Ile Ile Ala  
    290                                    295                                    300

Ser Asn Lys Thr His Ile Gly Thr Leu Asp Leu Trp Gln Ser Ala Gly  
305                                    310                                    315

Leu Asn Ile Ile Ala Pro Pro Glu Gly Gly Tyr Lys Asp Lys Pro Asn  
    325                                    330                                    335

Asn Thr Pro Ser Gln Ser Gly Ala Lys Asn Asp Lys Asn Glu Ser Ala  
    340                                    345                                    350

Lys Asn Asp Lys Gln Glu Ser Ser Gln Asn Asn Ser Asn Thr Gln Val  
    355                                    360                                    365

Ile Asn Pro Pro Asn Ser Ala Gln Lys Thr Glu Val Gln Pro Thr Gln  
    370                                    375                                    380

Val Ile Asp Gly Pro Phe Ala Gly Gly Lys Asp Thr Val Val Asn Ile  
385                                    390                                    395                                    400

ES 2 806 773 T3

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

ES 2 806 773 T3

Gly Gln Asn Ala Val Met Asp Tyr Ser Gln Phe Ser Asn Leu Thr Ile  
660 665 670

Gln Gly Asp Phe Val Asn Asn Gln Gly Thr Ile Asn Tyr Leu Val Arg  
675 680 685

Gly Gly Gln Val Ala Thr Leu Asn Val Gly Asn Ala Ala Ala Met Phe  
690 695 700

Phe Asn Asn Asn Val Asp Ser Ala Thr Gly Phe Tyr Gln Pro Leu Met  
705 710 715 720

Lys Ile Asn Ser Ala Gln Asp Leu Ile Lys Asn Lys Glu His Val Leu  
725 730 735

Leu Lys Ala Lys Ile Ile Gly Tyr Gly Asn Val Ser Ala Gly Thr Asn  
740 745 750

Ser Ile Ser Asn Val Asn Leu Ile Glu Gln Phe Lys Glu Arg Leu Ala  
755 760 765

Leu Tyr Glu His Asn Asn Arg Met Asp Ile Cys Val Val Arg Asn Thr  
770 775 780

Asp Asp Ile Lys Ala Cys Gly Thr Ala Ile Gly Asn Gln Ser Met Val  
785 790 795 800

Asn Asn Pro Asp Asn Tyr Lys Tyr Leu Ile Gly Lys Ala Trp Lys Asn  
805 810 815

Ile Gly Ile Ser Lys Thr Ala Asn Gly Ser Lys Ile Ser Val His Tyr  
820 825 830

Leu Gly Asn Ser Thr Pro Thr Glu Asn Ser Gly Asn Thr Thr Asn Leu  
835 840 845

Pro Thr Asn Thr Thr Ser Asn Ala Arg Ser Ala Lys Asn Ala Leu Ala  
850 855 860

Gln Asn Ala Pro Phe Ala Gln Pro Ser Ala Thr Pro Ser Leu Val Ala  
865 870 875 880

Ile Asn Gln His Asp Phe Gly Thr Ile Glu Ser Val Phe Glu Leu Ala  
885 890 895

Asn Arg Ser Lys Asp Ile Asp Thr Leu Tyr Thr His Ser Gly Ala Gln  
900 905 910

ES 2 806 773 T3

Gly Arg Asn Leu Leu Gln Thr Leu Leu Ile Asp Ser His Asp Ala Gly  
 915 920 925

Tyr Ala Arg Gln Met Ile Asp Asn Thr Ser Thr Gly Glu Ile Ile Lys  
 930 935 940

Gln Leu Asn Ala Ala Thr Thr Thr Leu Asn Asn Val Ala Ser Leu Glu  
 945 950 955 960

His Lys Gln Ser Gly Leu Gln Thr Leu Ser Leu Ser Asn Ala Met Ile  
 965 970 975

Leu Asn Ser Arg Leu Val Asn Leu Ser Arg Arg His Thr Asn Asn Ile  
 980 985 990

Asp Ser Phe Ala Gln Arg Leu Gln Ala Leu Lys Asp Gln Lys Phe Ala  
 995 1000 1005

Ser Leu Glu Ser Ala Ala Glu Val Leu Tyr Gln Phe Ala Pro Lys  
 1010 1015 1020

Tyr Glu Lys Pro Thr Asn Val Trp Ala Asn Ala Ile Gly Gly Thr  
 1025 1030 1035

Ser Leu Asn Asn Gly Gly Asn Ala Ser Leu Tyr Gly Thr Ser Ala  
 1040 1045 1050

Gly Val Asp Ala Tyr Leu Asn Gly Glu Val Glu Ala Ile Val Gly  
 1055 1060 1065

Gly Phe Gly Ser Tyr Gly Tyr Ser Ser Phe Ser Asn Gln Ala Asn  
 1070 1075 1080

Ser Leu Asn Ser Gly Ala Asn Asn Thr Asn Phe Gly Val Tyr Ser  
 1085 1090 1095

Arg Leu Phe Ala Asn Gln His Glu Phe Asp Phe Glu Ala Gln Gly  
 1100 1105 1110

Ala Leu Gly Ser Asp Gln Ser Ser Leu Asn Phe Lys Ser Ala Leu  
 1115 1120 1125

Leu Arg Asp Leu Asn Gln Ser Tyr Asn Tyr Leu Ala Tyr Ser Ala  
 1130 1135 1140

Ala Thr Arg Ala Ser Tyr Gly Tyr Asp Phe Ala Phe Phe Arg Asn

ES 2 806 773 T3

1145							1150									1155
Ala	Leu	Val	Leu	Lys	Pro	Ser	Val	Gly	Val	Ser	Tyr	Asn	His	Leu		
1160						1165					1170					
Gly	Ser	Thr	Asn	Phe	Lys	Ser	Asn	Ser	Thr	Asn	Gln	Val	Ala	Leu		
1175						1180					1185					
Lys	Asn	Gly	Ser	Ser	Ser	Gln	His	Leu	Phe	Asn	Ala	Ser	Ala	Asn		
1190						1195					1200					
Val	Glu	Ala	Arg	Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Asp	Thr	Ser	Tyr	Phe	Tyr	Met		
1205						1210					1215					
Asn	Ala	Gly	Val	Leu	Gln	Glu	Phe	Ala	Asn	Phe	Gly	Ser	Ser	Asn		
1220						1225					1230					
Ala	Val	Ser	Leu	Asn	Thr	Phe	Lys	Val	Asn	Ala	Ala	Arg	Asn	Pro		
1235						1240					1245					
Leu	Asn	Thr	His	Ala	Arg	Val	Met	Met	Gly	Gly	Glu	Leu	Lys	Leu		
1250						1255					1260					
Ala	Lys	Glu	Val	Phe	Leu	Asn	Leu	Gly	Phe	Val	Tyr	Leu	His	Asn		
1265						1270					1275					
Leu	Ile	Ser	Asn	Ile	Gly	His	Phe	Ala	Ser	Asn	Leu	Gly	Met	Arg		
1280						1285					1290					
Tyr	Ser	Phe														
1295																

- <210> 10
- <211> 1291
- 5 <212> PRT
- <213> Helicobacter pylori
- <400> 10

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

ES 2 806 773 T3

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



ES 2 806 773 T3

Ser Asn Lys Thr His Ile Gly Thr Leu Asp Leu Trp Gln Ser Ala Gly  
 305 310 315 320

Leu Asn Ile Ile Ala Pro Pro Glu Gly Gly Tyr Lys Asp Lys Pro Asn  
 325 330 335

Asp Lys Pro Ser Asn Thr Thr Gln Asn Asn Ala Lys Asn Asp Lys Gln  
 340 345 350

Glu Ser Ser Gln Asn Asn Ser Asn Thr Gln Val Ile Asn Pro Pro Asn  
 355 360 365

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

Phe Ala Gly Gly Lys Asn Thr Val Val Asn Ile Asn Arg Ile Asn Thr  
 385 390 395 400

Asn Ala Asp Gly Thr Ile Arg Val Gly Gly Phe Lys Ala Ser Leu Thr  
 405 410 415

Thr Asn Ala Ala His Leu His Ile Gly Lys Gly Gly Ile Asn Leu Ser  
 420 425 430

Asn Gln Ala Ser Gly Arg Ser Leu Leu Val Glu Asn Leu Thr Gly Asn  
 435 440 445

Ile Thr Val Asp Gly Pro Leu Arg Val Asn Asn Gln Val Gly Gly Tyr  
 450 455 460

Ala Leu Ala Gly Ser Ser Ala Asn Phe Glu Phe Lys Ala Gly Thr Asp  
 465 470 475 480

Thr Lys Asn Gly Thr Ala Thr Phe Asn Asn Asp Ile Ser Leu Gly Arg  
 485 490 495

Phe Val Asn Leu Lys Val Asp Ala His Thr Ala Asn Phe Lys Gly Ile  
 500 505 510

Asp Thr Gly Asn Gly Gly Phe Asn Thr Leu Asp Phe Ser Gly Val Thr  
 515 520 525

Asn Lys Val Asn Ile Asn Lys Leu Ile Thr Ala Ser Thr Asn Val Ala  
 530 535 540

Val Lys Asn Phe Asn Ile Asn Glu Leu Val Val Lys Thr Asn Gly Val  
 545 550 555 560

ES 2 806 773 T3

Ser Val Gly Glu Tyr Thr His Phe Ser Glu Asp Ile Gly Ser Gln Ser  
565 570 575

Arg Ile Asn Thr Val Arg Leu Glu Thr Gly Thr Arg Ser Ile Tyr Ser  
580 585 590

Gly Gly Val Lys Phe Lys Gly Gly Glu Lys Leu Val Ile Asn Asp Phe  
595 600 605

Tyr Tyr Ala Pro Trp Asn Tyr Phe Asp Ala Arg Asn Ile Lys Asn Val  
610 615 620

Glu Ile Thr Asn Lys Leu Ala Phe Gly Pro Gln Gly Ser Pro Trp Gly  
625 630 635 640

Thr Ala Lys Leu Met Phe Asn Asn Leu Thr Leu Gly Gln Asn Ala Val  
645 650 655

Met Asp Tyr Ser Gln Phe Ser Asn Leu Thr Ile Gln Gly Asp Phe Val  
660 665 670

Asn Asn Gln Gly Thr Ile Asn Tyr Leu Val Arg Gly Gly Gln Val Ala  
675 680 685

Thr Leu Asn Val Gly Asn Ala Ala Ala Met Phe Phe Ser Asn Asn Val  
690 695 700

Asp Ser Ala Thr Gly Phe Tyr Gln Pro Leu Met Lys Ile Asn Ser Ala  
705 710 715 720

Gln Asp Leu Ile Lys Asn Lys Glu His Val Leu Leu Lys Ala Lys Ile  
725 730 735

Ile Gly Tyr Gly Asn Val Ser Ala Gly Thr Asp Ser Ile Ala Asn Val  
740 745 750

Asn Leu Ile Glu Gln Phe Lys Glu Arg Leu Ala Leu Tyr Asn Asn Asn  
755 760 765

Asn Arg Met Asp Ile Cys Val Val Arg Asn Thr Asp Asp Ile Lys Ala  
770 775 780

Cys Gly Thr Ala Ile Gly Asn Gln Ser Met Val Asn Asn Pro Glu Asn  
785 790 795 800

Tyr Lys Tyr Leu Glu Gly Lys Ala Trp Lys Asn Ile Gly Ile Ser Lys  
805 810 815

ES 2 806 773 T3

Thr Ala Asn Gly Ser Lys Ile Ser Val His Tyr Leu Gly Asn Ser Thr  
820 825 830

Pro Thr Glu Asn Gly Gly Asn Thr Thr Asn Leu Pro Thr Asn Thr Thr  
835 840 845

Asn Lys Val Arg Phe Ala Ser Tyr Ala Leu Ile Lys Asn Ala Pro Phe  
850 855 860

Ala Arg Tyr Ser Ala Thr Pro Asn Leu Val Ala Ile Asn Gln His Asp  
865 870 875 880

Phe Gly Thr Ile Glu Ser Val Phe Glu Leu Ala Asn Arg Ser Asn Asp  
885 890 895

Ile Asp Thr Leu Tyr Ala Asn Ser Gly Ala Gln Gly Arg Asp Leu Leu  
900 905 910

Gln Thr Leu Leu Ile Asp Ser His Asp Ala Gly Tyr Ala Arg Thr Met  
915 920 925

Ile Asp Ala Thr Ser Ala Asn Glu Ile Thr Lys Gln Leu Asn Thr Ala  
930 935 940

Thr Thr Thr Leu Asn Asn Ile Ala Ser Leu Glu His Lys Thr Ser Gly  
945 950 955 960

Leu Gln Thr Leu Ser Leu Ser Asn Ala Met Ile Leu Asn Ser Arg Leu  
965 970 975

Val Asn Leu Ser Arg Arg His Thr Asn His Ile Asp Ser Phe Ala Lys  
980 985 990

Arg Leu Gln Ala Leu Lys Asp Gln Arg Phe Ala Ser Leu Glu Ser Ala  
995 1000 1005

Ala Glu Val Leu Tyr Gln Phe Ala Pro Lys Tyr Glu Lys Pro Thr  
1010 1015 1020

Asn Val Trp Ala Asn Ala Ile Gly Gly Thr Ser Leu Asn Ser Gly  
1025 1030 1035

Gly Asn Ala Ser Leu Tyr Gly Thr Ser Ala Gly Val Asp Ala Tyr  
1040 1045 1050

Leu Asn Gly Glu Val Glu Ala Ile Val Gly Gly Phe Gly Ser Tyr

ES 2 806 773 T3

1055							1060								1065
Gly	Tyr	Ser	Ser	Phe	Ser	Asn	Gln	Ala	Asn	Ser	Leu	Asn	Ser	Gly	
	1070					1075					1080				
Ala	Asn	Asn	Thr	Asn	Phe	Gly	Val	Tyr	Ser	Arg	Ile	Phe	Ala	Asn	
	1085					1090					1095				
Gln	His	Glu	Phe	Asp	Phe	Glu	Ala	Gln	Gly	Ala	Leu	Gly	Ser	Asp	
	1100					1105					1110				
Gln	Ser	Ser	Leu	Asn	Phe	Lys	Ser	Ala	Leu	Leu	Arg	Asp	Leu	Asn	
	1115					1120					1125				
Gln	Ser	Tyr	Asn	Tyr	Leu	Ala	Tyr	Ser	Ala	Ala	Thr	Arg	Ala	Ser	
	1130					1135					1140				
Tyr	Gly	Tyr	Asp	Phe	Ala	Phe	Phe	Arg	Asn	Ala	Leu	Val	Leu	Lys	
	1145					1150					1155				
Pro	Ser	Val	Gly	Val	Ser	Tyr	Asn	His	Leu	Gly	Ser	Thr	Asn	Phe	
	1160					1165					1170				
Lys	Ser	Asn	Ser	Asn	Gln	Lys	Val	Ala	Leu	Lys	Asn	Gly	Ala	Ser	
	1175					1180					1185				
Ser	Gln	His	Leu	Phe	Asn	Ala	Ser	Ala	Asn	Val	Glu	Ala	Arg	Tyr	
	1190					1195					1200				
Tyr	Tyr	Gly	Asp	Thr	Ser	Tyr	Phe	Tyr	Met	Asn	Ala	Gly	Val	Leu	
	1205					1210					1215				
Gln	Glu	Phe	Ala	Asn	Phe	Gly	Ser	Ser	Asn	Ala	Val	Ser	Leu	Asn	
	1220					1225					1230				
Thr	Phe	Lys	Val	Asn	Ala	Thr	Arg	Asn	Pro	Leu	Asn	Thr	His	Ala	
	1235					1240					1245				
Arg	Val	Met	Met	Gly	Gly	Glu	Leu	Lys	Leu	Ala	Lys	Glu	Val	Phe	
	1250					1255					1260				
Leu	Asn	Leu	Gly	Phe	Val	Tyr	Leu	His	Asn	Leu	Ile	Ser	Asn	Ile	
	1265					1270					1275				
Gly	His	Phe	Ala	Ser	Asn	Leu	Gly	Met	Arg	Tyr	Ser	Phe			
	1280					1285					1290				

<210> 11

<211> 1297

5 <212> PRT

<213> Helicobacter pylori NCTC 11638

<400> 11

ES 2 806 773 T3

Met Glu Ile Gln Gln Thr His Arg Lys Ile Asn Arg Pro Leu Val Ser  
1 5 10 15

Leu Ala Leu Val Gly Ala Leu Val Ser Ile Thr Pro Gln Gln Ser His  
20 25 30

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

Ala Thr Gly Thr Ala Val Gly Thr Val Ser Gly Leu Leu Ser Trp Gly  
50 55 60

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

Val Trp Arg Ile Gln Ala Gly Lys Gly Phe Asn Glu Phe Pro Asn Lys  
85 90 95

Glu Tyr Asp Leu Tyr Arg Ser Leu Leu Ser Ser Lys Ile Asp Gly Gly  
100 105 110

Trp Asp Trp Gly Asn Ala Ala Arg His Tyr Trp Val Lys Gly Gly Gln  
115 120 125

Gln Asn Lys Leu Glu Val Asp Met Lys Asp Ala Val Gly Thr Tyr Thr  
130 135 140

Leu Ser Gly Leu Arg Asn Phe Thr Gly Gly Asp Leu Asp Val Asn Met  
145 150 155 160

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

Ser Tyr Lys Asp Ser Ala Asp Arg Thr Thr Arg Val Asp Phe Asn Ala  
180 185 190

Lys Asn Ile Ser Ile Asp Asn Phe Val Glu Ile Asn Asn Arg Val Gly  
195 200 205

Ser Gly Ala Gly Arg Lys Ala Ser Ser Thr Val Leu Thr Leu Gln Ala  
210 215 220

ES 2 806 773 T3

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

Gly Ala Thr Leu Asn Leu Ala Ser Ser Ser Val Lys Leu Met Gly Asn  
245 250 255

Val Trp Met Gly Arg Leu Gln Tyr Val Gly Ala Tyr Leu Ala Pro Ser  
260 265 270

Tyr Ser Thr Ile Asn Thr Ser Lys Val Thr Gly Glu Val Asn Phe Asn  
275 280 285

His Leu Thr Val Gly Asp Lys Asn Ala Ala Gln Ala Gly Ile Ile Ala  
290 295 300

Asn Lys Lys Thr Asn Ile Gly Thr Leu Asp Leu Trp Gln Ser Ala Gly  
305 310 315 320

Leu Asn Ile Ile Ala Pro Pro Glu Gly Gly Tyr Lys Asp Lys Pro Asn  
325 330 335

Asn Thr Pro Ser Gln Ser Gly Ala Lys Asn Asp Lys Asn Glu Ser Ala  
340 345 350

Lys Asn Asp Lys Gln Glu Ser Ser Gln Asn Asn Ser Asn Thr Gln Val  
355 360 365

Ile Asn Pro Pro Asn Ser Ala Gln Lys Thr Glu Val Gln Pro Thr Gln  
370 375 380

Val Ile Asp Gly Pro Phe Ala Gly Gly Lys Asp Thr Val Val Asn Ile  
385 390 395 400

Asn Arg Ile Asn Thr Asn Ala Asp Gly Thr Ile Arg Val Gly Gly Phe  
405 410 415

Lys Ala Ser Leu Thr Thr Asn Ala Ala His Leu His Ile Gly Lys Gly  
420 425 430

Gly Val Asn Leu Ser Asn Gln Ala Ser Gly Arg Ser Leu Ile Val Glu  
435 440 445

Asn Leu Thr Gly Asn Ile Thr Val Asp Gly Pro Leu Arg Val Asn Asn  
450 455 460

Gln Val Gly Gly Tyr Ala Leu Ala Gly Ser Ser Ala Asn Phe Glu Phe  
465 470 475 480

ES 2 806 773 T3

Lys Ala Gly Thr Asp Thr Lys Asn Gly Thr Ala Thr Phe Asn Asn Asp  
 485 490 495  
 Ile Ser Leu Gly Arg Phe Val Asn Leu Lys Val Asp Ala His Thr Ala  
 500 505 510  
 Asn Phe Lys Gly Ile Asp Thr Gly Asn Gly Gly Phe Asn Thr Leu Asp  
 515 520 525  
 Phe Ser Gly Val Thr Asp Lys Val Asn Ile Asn Lys Leu Ile Thr Ala  
 530 535 540  
 Ser Thr Asn Val Ala Val Lys Asn Phe Asn Ile Asn Glu Leu Ile Val  
 545 550 555 560  
 Lys Thr Asn Gly Ile Ser Val Gly Glu Tyr Thr His Phe Ser Glu Asp  
 565 570 575  
 Ile Gly Ser Gln Ser Arg Ile Asn Thr Val Arg Leu Glu Thr Gly Thr  
 580 585 590  
 Arg Ser Leu Phe Ser Gly Gly Val Lys Phe Lys Gly Gly Glu Lys Leu  
 595 600 605  
 Val Ile Asp Glu Phe Tyr Tyr Ser Pro Trp Asn Tyr Phe Asp Ala Arg  
 610 615 620  
 Asn Ile Lys Asn Val Glu Ile Thr Asn Lys Leu Ala Phe Gly Pro Gln  
 625 630 635 640  
 Gly Ser Pro Trp Gly Thr Ser Lys Leu Met Phe Asn Asn Leu Thr Leu  
 645 650 655  
 Gly Gln Asn Ala Val Met Asp Tyr Ser Gln Phe Ser Asn Leu Thr Ile  
 660 665 670  
 Gln Gly Asp Phe Ile Asn Asn Gln Gly Thr Ile Asn Tyr Leu Val Arg  
 675 680 685  
 Gly Gly Lys Val Ala Thr Leu Ser Val Gly Asn Ala Ala Ala Met Met  
 690 695 700  
 Phe Asn Asn Asp Ile Asp Ser Ala Thr Gly Phe Tyr Lys Pro Leu Ile  
 705 710 715 720  
 Lys Ile Asn Ser Ala Gln Asp Leu Ile Lys Asn Thr Glu His Val Leu  
 725 730 735

ES 2 806 773 T3

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



ES 2 806 773 T3

			980							985						990
Asp	Ser	Phe	Ala	Lys	Arg	Leu	Gln	Ala	Leu	Lys	Asp	Gln	Lys	Phe	Ala	
		995					1000					1005				
Ser	Leu	Glu	Ser	Ala	Ala	Glu	Val	Leu	Tyr	Gln	Phe	Ala	Pro	Lys		
	1010					1015					1020					
Tyr	Glu	Lys	Pro	Thr	Asn	Val	Trp	Ala	Asn	Ala	Ile	Gly	Gly	Thr		
	1025					1030					1035					
Ser	Leu	Asn	Asn	Gly	Ser	Asn	Ala	Ser	Leu	Tyr	Gly	Thr	Ser	Ala		
	1040					1045					1050					
Gly	Val	Asp	Ala	Tyr	Leu	Asn	Gly	Gln	Val	Glu	Ala	Ile	Val	Gly		
	1055					1060					1065					
Gly	Phe	Gly	Ser	Tyr	Gly	Tyr	Ser	Ser	Phe	Asn	Asn	Arg	Ala	Asn		
	1070					1075					1080					
Ser	Leu	Asn	Ser	Gly	Ala	Asn	Asn	Thr	Asn	Phe	Gly	Val	Tyr	Ser		
	1085					1090					1095					
Arg	Ile	Phe	Ala	Asn	Gln	His	Glu	Phe	Asp	Phe	Glu	Ala	Gln	Gly		
	1100					1105					1110					
Ala	Leu	Gly	Ser	Asp	Gln	Ser	Ser	Leu	Asn	Phe	Lys	Ser	Ala	Leu		
	1115					1120					1125					
Leu	Gln	Asp	Leu	Asn	Gln	Ser	Tyr	His	Tyr	Leu	Ala	Tyr	Ser	Ala		
	1130					1135					1140					
Ala	Thr	Arg	Ala	Ser	Tyr	Gly	Tyr	Asp	Phe	Ala	Phe	Phe	Arg	Asn		
	1145					1150					1155					
Ala	Leu	Val	Leu	Lys	Pro	Ser	Val	Gly	Val	Ser	Tyr	Asn	His	Leu		
	1160					1165					1170					
Gly	Ser	Thr	Asn	Phe	Lys	Ser	Asn	Ser	Thr	Asn	Gln	Val	Ala	Leu		
	1175					1180					1185					
Lys	Asn	Gly	Ser	Ser	Ser	Gln	His	Leu	Phe	Asn	Ala	Ser	Ala	Asn		
	1190					1195					1200					
Val	Glu	Ala	Arg	Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Asp	Thr	Ser	Tyr	Phe	Tyr	Met		
	1205					1210					1215					

ES 2 806 773 T3

Asn Ala Gly Val Leu Gln Glu Phe Ala His Val Gly Ser Asn Asn  
1220 1225 1230

Ala Ala Ser Leu Asn Thr Phe Lys Val Asn Ala Ala Arg Asn Pro  
1235 1240 1245

Leu Asn Thr His Ala Arg Val Met Met Gly Gly Glu Leu Lys Leu  
1250 1255 1260

Ala Lys Glu Val Phe Leu Asn Leu Gly Val Val Tyr Leu His Asn  
1265 1270 1275

Leu Ile Ser Asn Ile Gly His Phe Ala Ser Asn Leu Gly Met Arg  
1280 1285 1290

Tyr Ser Phe Phe  
1295

## REIVINDICACIONES

1. Un polipéptido que consiste en una secuencia de aminoácidos de una proteína VacA seleccionada de entre las SEQ ID NO: 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 y 11, o una secuencia que tiene al menos el 90% de identidad con una proteína VacA seleccionada de entre las SEQ ID NO: 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 y 11 o una formulación de las mismas para su uso en la prevención y/o el tratamiento de un trastorno alérgico, donde dicha proteína VacA se encuentra esencialmente libre de un componente inmunogénico, en particular, de otros componentes de antígeno de *H. pylori*.
2. Un polipéptido para su uso según la reivindicación 1, donde el polipéptido se encuentra en la forma de extracto de células muertas de bacterias de *H. pylori* y la cepa de bacterias de *H. pylori* es la ATCC 49503/60190 y donde dicha proteína VacA se encuentra esencialmente libre de un componente inmunogénico, en particular, de otros componentes de antígeno de *H. pylori*.
3. Un polipéptido para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, donde la proteína VacA se purifica de los extractos de células bacterianas de *H. pylori* muertas no desnaturalizadas y donde dicha proteína VacA se encuentra esencialmente libre de un componente inmunogénico, en particular, de otros componentes de antígenos de *H. pylori*.
4. Un polipéptido para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 3, donde el extracto de células muertas de bacterias de *H. pylori* puede obtenerse mediante un procedimiento que comprende las etapas de:
- (i) cosechar un cultivo de células de bacterias vivas;
  - (ii) someter las bacterias cosechadas a varios ciclos de congelación/descongelación en agua o una solución acuosa de una sal;
  - (iii) alterar las células bacterianas bajo alta presión;
  - (iv) recolectar el extracto celular.
5. Un polipéptido para su uso según la reivindicación 1, donde la VacA es una VacA recombinante.
6. Un polipéptido que consiste en una secuencia de una proteína VacA seleccionada de entre las SEQ ID NO: 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 y 11, o una secuencia que tiene al menos el 90% de identidad con una proteína VacA seleccionada de entre las SEQ ID NO: 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 y 11 o una formulación de las mismas para su uso en la inducción de una respuesta de tolerización a un alérgeno.
7. Un polipéptido que consiste en una secuencia de una proteína VacA seleccionada de entre las SEQ ID NO: 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 y 11, o una secuencia que tiene al menos el 90% de identidad con una proteína VacA seleccionada de entre las SEQ ID NO: 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 y 11 o una formulación de las mismas para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde el polipéptido debe administrarse en una forma esencialmente libre de cualquier componente inmunogénico.
8. Un polipéptido para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, donde el trastorno alérgico es asma atópica.
9. Un polipéptido para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, donde el trastorno alérgico es una alergia alimentaria.
10. Un polipéptido para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, donde la composición debe administrarse por vía oral, intranasal, parenteral, intrapulmonar o sistémica.
11. Una formulación tolerogénica farmacéutica que comprende una proteína VacA que consiste en una secuencia seleccionada de entre las SEQ ID NO: 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 y 11, o una secuencia que tiene al menos el 90% de identidad con una proteína VacA seleccionada de entre las SEQ ID NO: 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 y 11 y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable, un diluyente o un excipiente del mismo, donde dicha proteína VacA se encuentra esencialmente libre de un componente inmunogénico, en particular, de otros componentes de antígeno de *H. pylori*.
12. Una formulación farmacéutica según la reivindicación 11, donde dicha proteína VacA se combina con al menos un coagente útil en la prevención y/o tratamiento de un trastorno alérgico o una respuesta alérgica o para inducir una respuesta de tolerización a un alérgeno.
13. Una composición según la reivindicación 12, donde la composición es una composición farmacéutica oral o una composición farmacéutica inyectable.
14. Una composición según la reivindicación 11 o 13, que comprende además un alérgeno, en particular, al menos un alérgeno alimenticio.

15. Una formulación para su uso según la reivindicación 1, donde la formulación es una formulación farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 11 a 14.

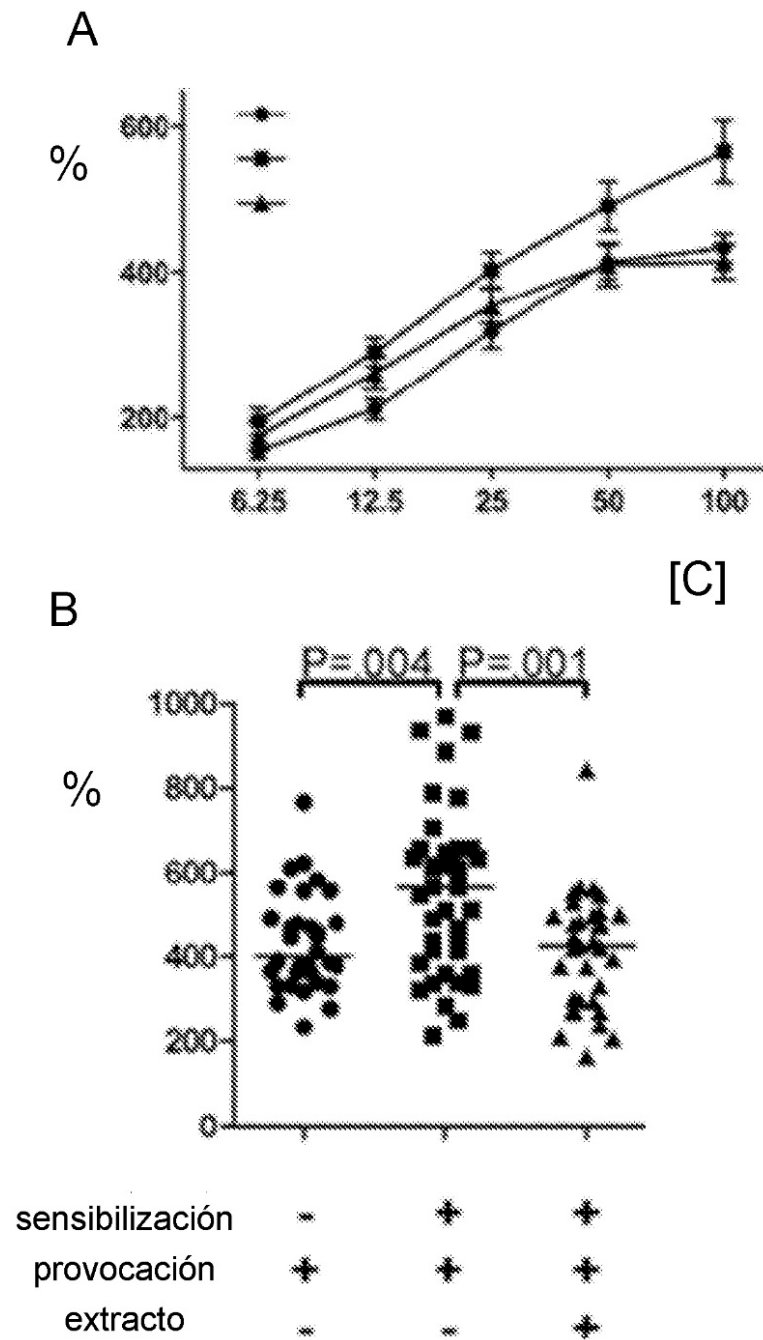


Figura 1

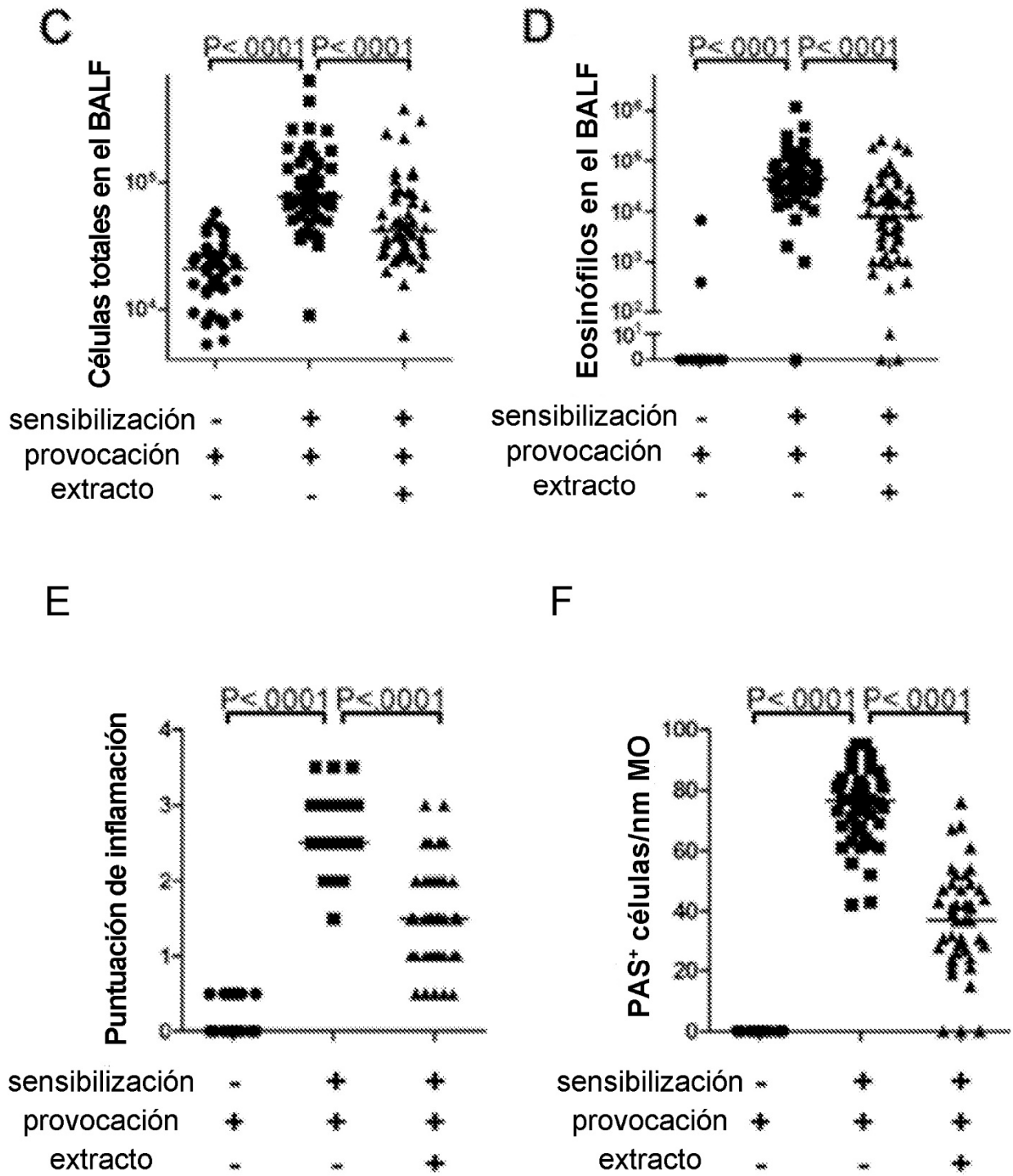


Figura 1 (continuación)

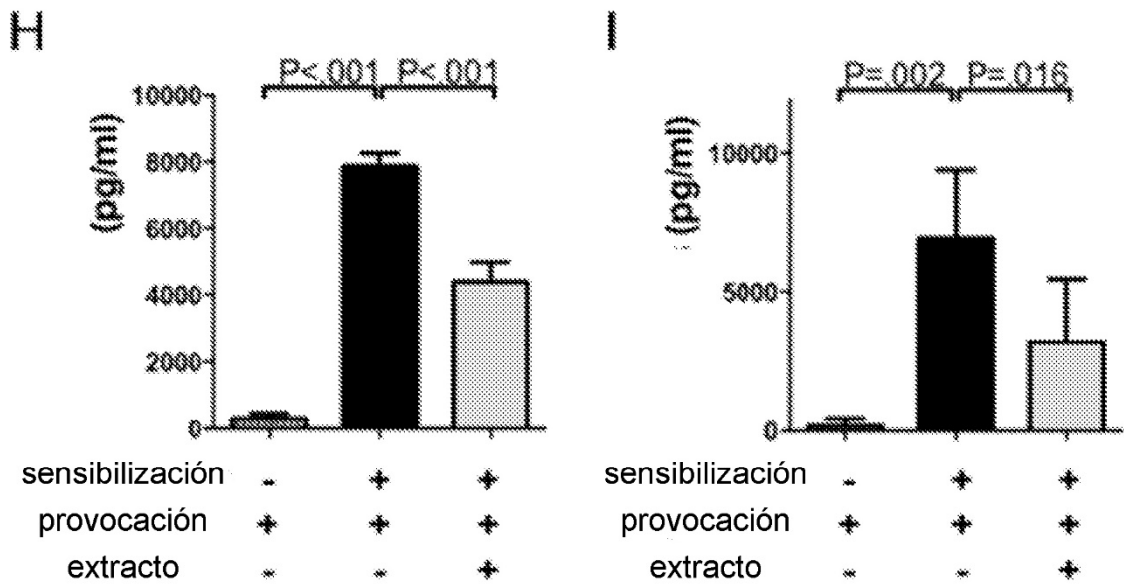
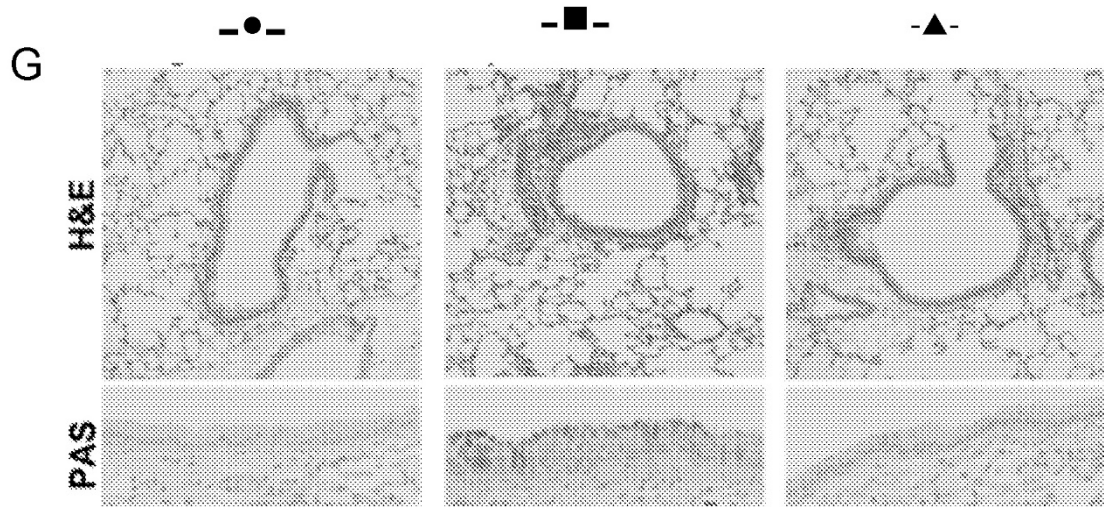


Figura 1 (continuación)

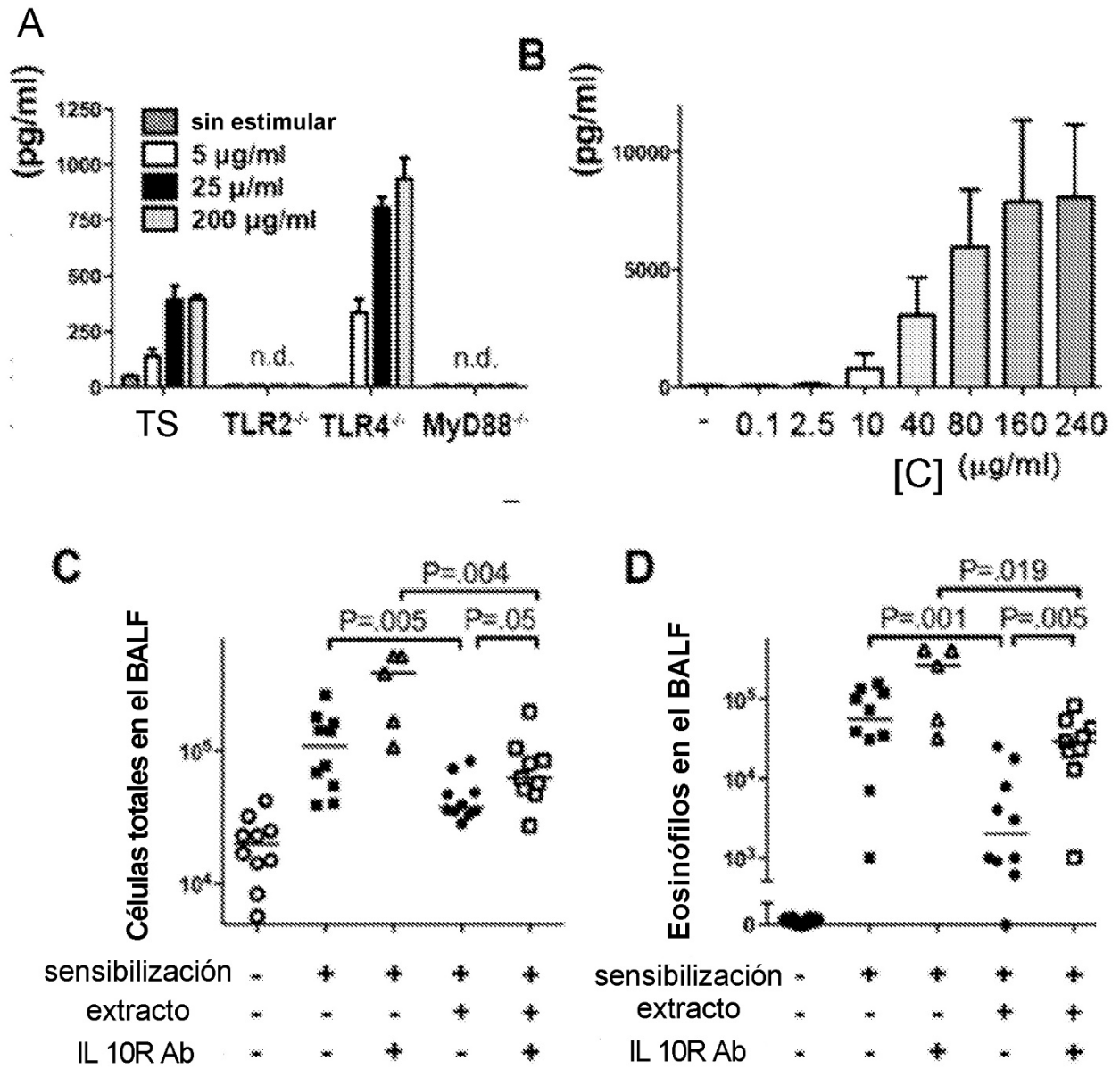


Figura 2



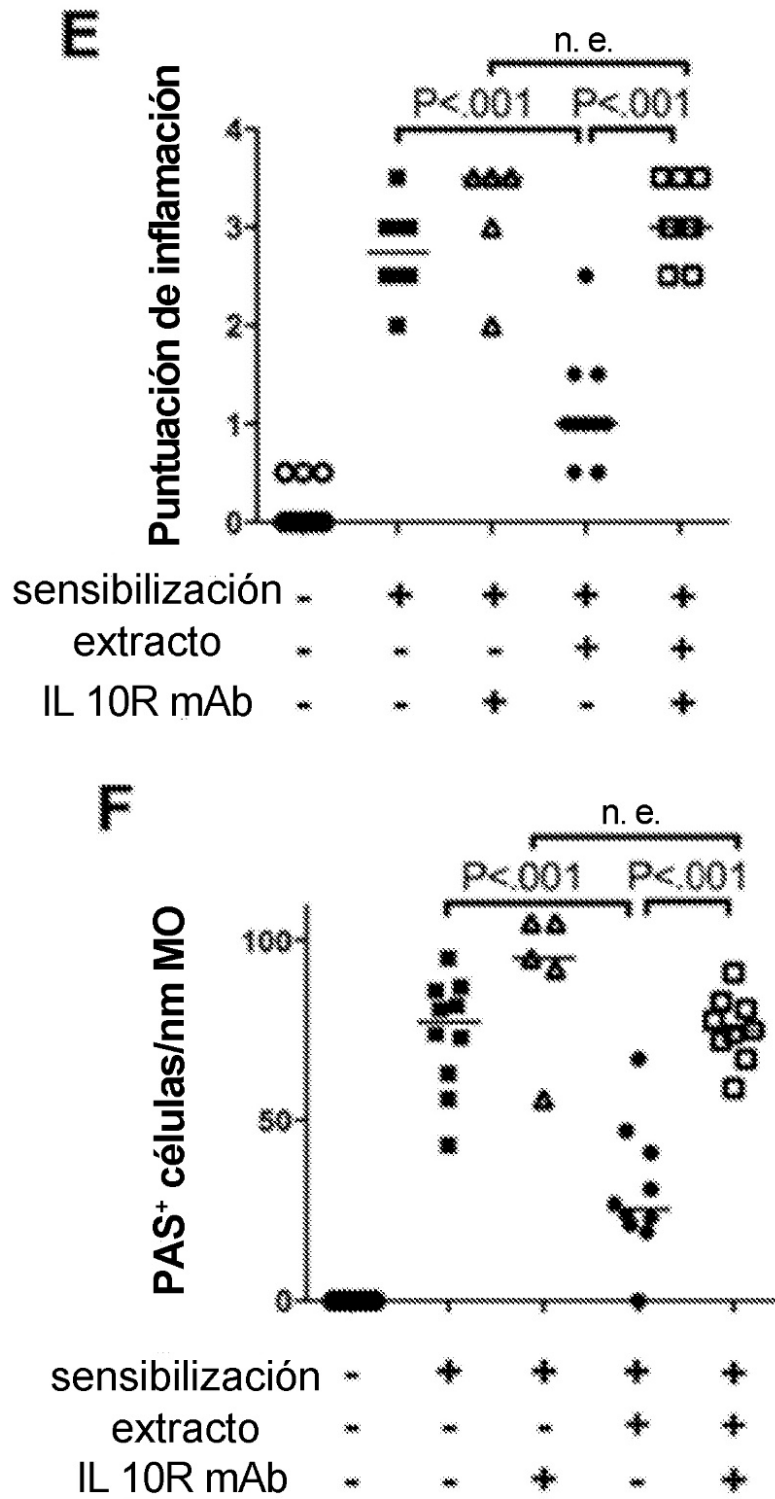


Figura 2 (continuación)

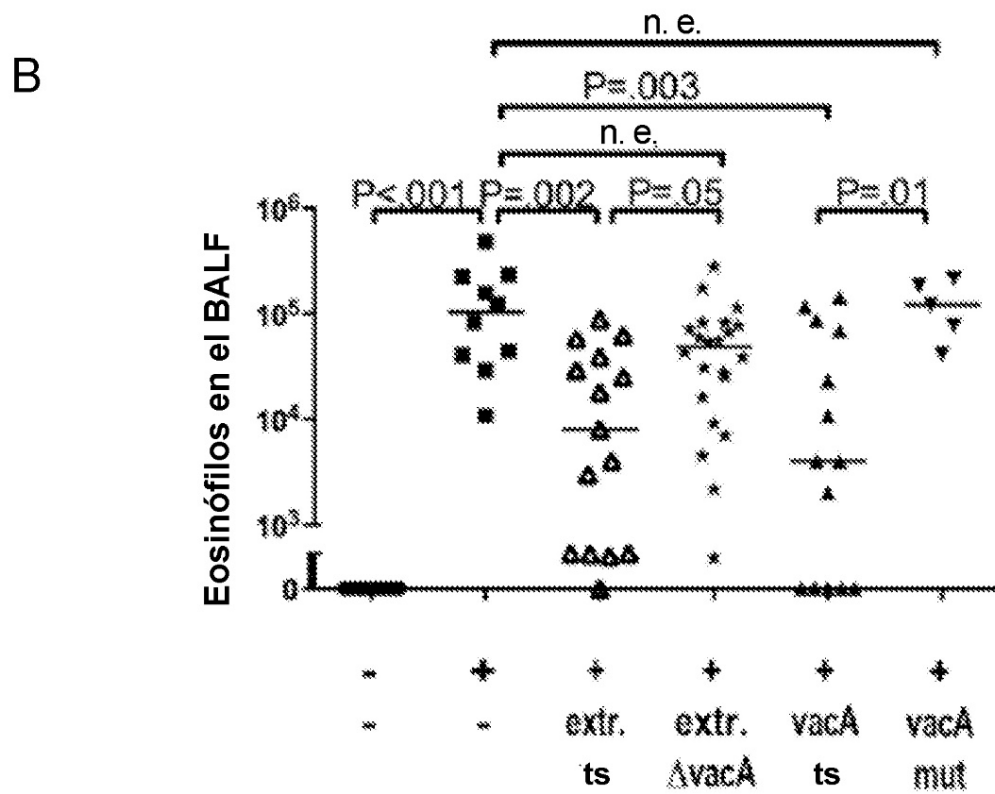
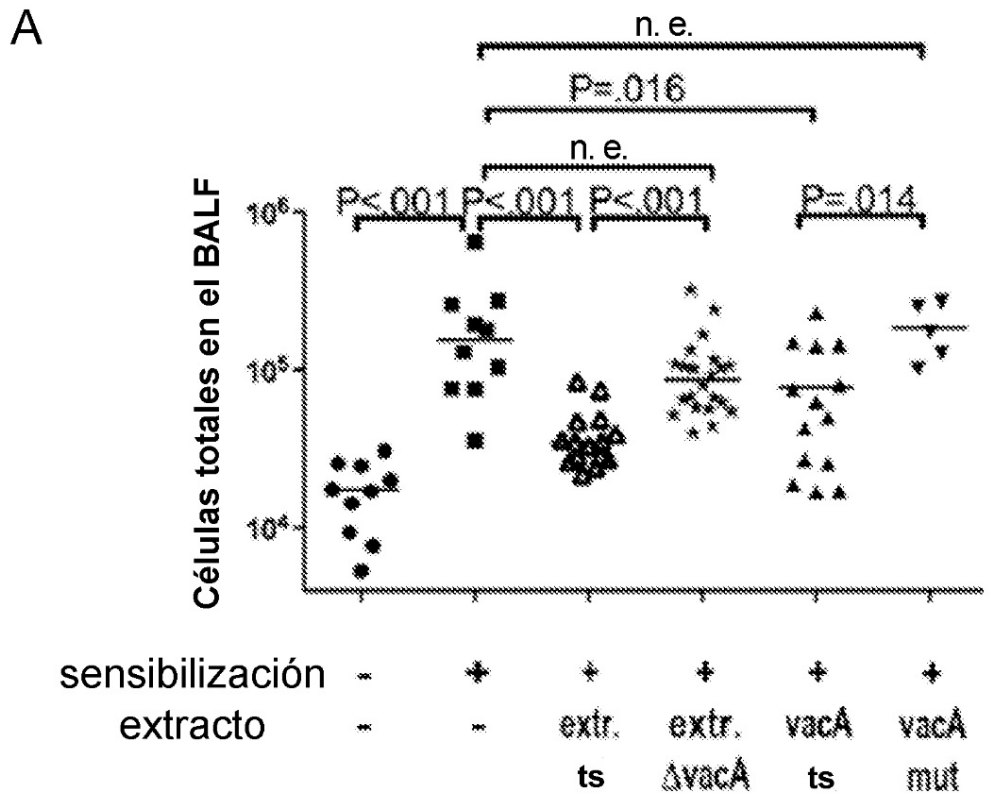
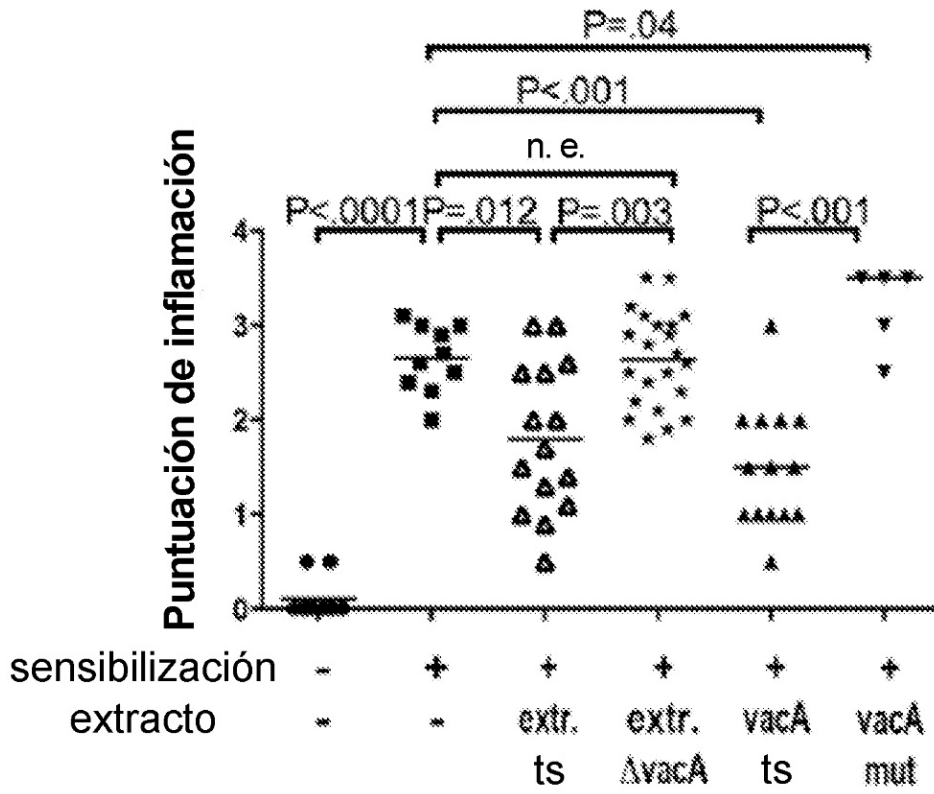


Figura 3

C



D

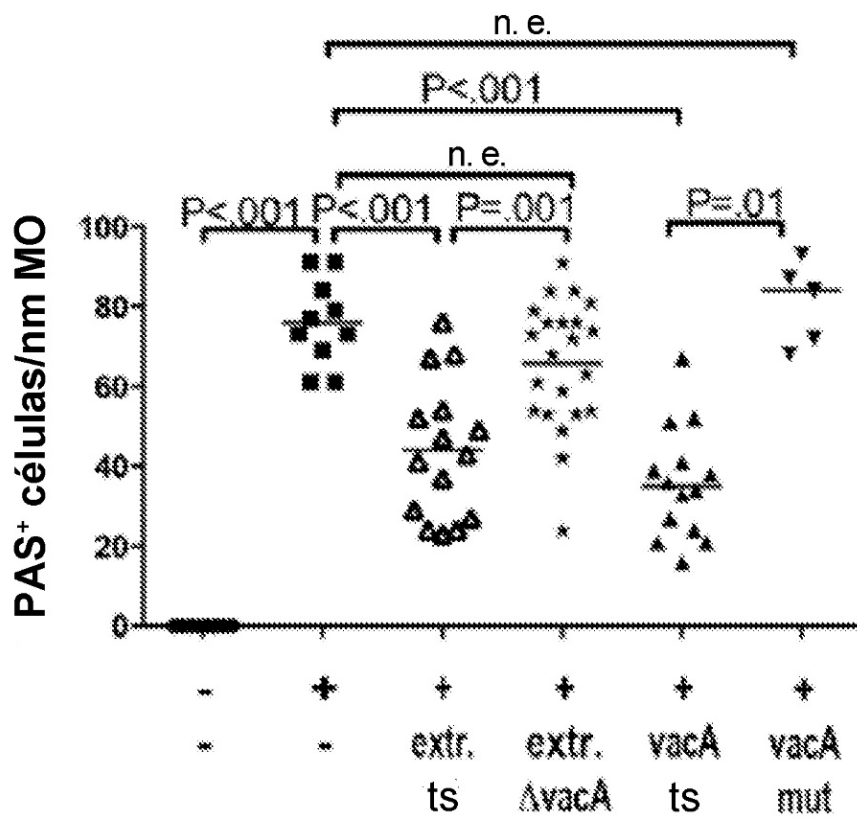


Figura 3 (continuación)



**A** Q48245 cepa de *H. pylori* ATCC 49503/60190 (*Cover y col., 1994*) (SEQ ID NO: 1)

AFFTTVIIPAIVGGIATGTAVGTVSGLLGWGLKQAEANKTPDKPDKVWRIQAGKGFNEFPN  
 KEYDLYKSLSSKIDGGWDWGNAATHYWIKGGQWNKLEVDMKDAVGTYKLSGLRNFTGG  
 DLDVNMQKATLRLGQFNGNSFTSYKDSADRTTRVDFNAKNILIDNFLEINNRVSGGAGRKA  
 SSTVLTQASEGITSSKNAEISLYDGATLNLASNSVKLNGNVWMMGRLQYVGAYLAPSYSTIN  
 TSKVTGEVNFNHLTVGDHNAQAAGIIASNKTHIGTLDLWQSAGLNIIAPPEGGYKDKPNNTP  
 SQSGAKNDKQESSQNSNTQVINPPNSTQKTEVQPTQVIDGPFAGGKDTVVNIDRINTKAD  
 GTIKVGGFKASLTTNAAHLNIGKGGVNLNQASGRLLVENLTGNITVDGPLRVNNQVGGYA  
 LAGSSANFEFKAGVDTKNGTATFNNDISLGRFVNLKVDHAHTANFKGIDTGNNGGFNTLDFSG  
 VTNKVNINKLITASTNVAVKNFNINELIVKTNGVSVGEYTHFSEDIGSQSRINTVRLETGTRSF  
 SGGVKFKSGEKLVIDEFYSPWNYFDARNIKNVEITRKFASSTPENPWGTSKLMFNNLTGQ  
 NAVMDYSQFSNLTIQGDFFINNQGTINYLVRRGGKVATLNVGNAAAMMFNNDIDSATGFYKPLI  
 KINSAQDLIKNTEHVLLKAKIIGYGNVSTGTNGISNVNLEEQFKERLALYNNNNRMDTCVVRN  
 TDDIKACGMAIGNQSMVNNPDNYKYLIGKAWKNIGISKTANGSKISVYYLGNSTPTENGGNT  
 TNLPTNTTNNARFASYALIKNAPFAHSATPNLVAINQHDFGTIESVFELANRSKDIDTLYANS  
 GAQGRDLLQTLIDSHDAGYARTMIDATSANEITKQLNTATTTLNNIASLEHKTSSLQTLSLSN  
 AMILNSRLVNLRRHTNNDISFAKRLQALKDQRFASLESAAEVLYQFAP

**B** VacA s2m2 de la cepa de *H. pylori* Tx30a (*Atherton y col., 1995, J. Biol. Chem.*  
 270 (30), 17771-17777) (SEQ ID NO: 2)

MEIQQTHRKINRPIISLALVGLMGTGELGANTPNDPIHSESRAFFTTVIIPAIVGGIATGAAVGT  
 VSGLLSWGLKQAEQANKAPDKPDKVWRIQAGRGFDNFPKQYDLYKSLSSKIDGGWDW  
 GNAARHYWVKDQWKNKLEVDMQNAVGTYNLSGLINFTGGDLVDVNMQKATLRLGQFNGNS  
 FTSFKDGANRTTRVNFDAKNILIDNFVEINNRVSGGAGRKASSTVLTLSSEKITSRENAEISL  
 YDGATLNLVSSSNQSDLYGKVVMMGRLQYVGAYLAPSYSTIDTSKVQGEMNFRHLAVGDQ  
 NAAQAGIIANKKTNIGTLDLWQSAGLSIITPEGGYESKTKDNPQNNPKNDAQKTEIQPTQVI  
 DGPFFAGGKDTVVNIFHLNLTADGTLRAGGFKASLSTNAAHLHIGEGGVNLSNQASGRLLV  
 ENLTGNITVEGTLRVNNQVGGAAIAGSSANFEFKAGEDTNNATATFNNDIHLGKAVNLRVDA  
 HTANFNGNIYLGKSTNLRVNGHTAHFKNIDATKSDNGLNTSTLDFSGVTDKVNINKLTTAAT  
 NVNIKNFDIKELVVTTTRVQSFQYTIFFGENIGDKSRIGVSLQTYSPAYSGGVTFKGGKLV  
 IDEIYHAPWNYFDARNVTDVEINKRILFGAPGNIAGKTGLMFNNLTLNSNASMDYGKDLDTI  
 QGHFTNNQGTMLNFVQDGRVATLNAGHQASMIFNNLVDSTTGFKYKPLIKINNAQNLTKNKE  
 HVLVKARNIDYNLVGVQGASYDNISASNTNLQEYKFKERLALYNNNNRMDTCVVRKDNLNDI  
 KACGMAIGNQSMVNNPENYKYLEGKAWKNTGINKTANNTTIAVNLGNSTPTNSTTDTTNL  
 PTNTTNNARFASYALIKNAPFAHSATPNLVAINQHDFGTIESVFELANRSSDIDTLYANSQAQ  
 GRDLLQTLIDSHDAGYARTMIDATSANEITQQLNAATTTLNNIASLEHKTSGLQTLSLSNAMI  
 LNSRLVNLRSKHTNHIDISFAKRLQALKDQRFASLESAAEVLYQFAPKYEKPTNVWANAIGGT  
 SLNNGSNASLYGTSAGVDAYLNGEVEAIVGGFGSYGYSSFSNQANSLNSGANNTNFGVYS  
 RIFANQHEFDFAQQALGSDQSSLNFKSALLQDLNQSYHYLAYSATTRASYGYDFAFFRNA  
 LVLKPSVGVSYNHLGSTNFKSNSNQVALSNGSSSQHLFNANANVEARYYYGDTSYFYMNA  
 GVLQEFARFGSNNAVSLNTFKVNATRNLNTHARVMMGGELQLAKEVFLNLGVVYLHNLIS  
 NASHFASNLGMRYSF

Figura 5

**C VacA mutante de control negativo ( $\Delta 6-27$ ) (SEQ ID NO: 3)**

AFFTTLWGLKQAEENKTPDKPDKVWRIQAGKGFNEFPNKEYDLYKSLSSKIDGGWD  
 WGNAATHYWIKGGQWNKLEVDMKDAVGTYKLSGLRNFTGGDLVDNMQKATLRLGQFNG  
 NSFTSYKDSADRTRVDFNAKNLIDNFLEINNRVGSAGRKASSTVLTQASEGITSSKNA  
 EISLYDGATLNLASNSVKNLGNVWVGRLQYVGAYLAPSYSTINTSKVTGEVNFNHLTVGD  
 HNAAQAGIIASNKTHIGTLDLWQSAGLNIIAPPEGGYKDKPNNTPSQSGAKNDKQESSQNN  
 SNTQVINPPNSTQKTEVQPTQVIDGPFAGGKDTVVNIDRINTKADGTIKVGGFKASLTTNAA  
 HLNIGKGGVNLNSQASGRTLLVENLTGNITVDGPLRVNNQVGGYALAGSSANFEFKAGVD  
 TKNGTATFNNDISLGRFVNLKVAHTANFKGIDTGNNGFNTLDFSGVTNKVNINKLITASTN  
 VAVKNFNINELIVKTNGVSVGEYTHFSEDIGSQSRINTVRLETGTRSIFSGGVKFKSGEKLV  
 DEFYSPWNYFDARNIKNVEITRKFASTPENPWGTSKLMFNNTLGQNAVMDYSQFSNL  
 TIQGFINNQGTINYLVRRGGKVATLVGNAAAMMFNNDIDSATGFYKPLIKINSAQDLIKNTE  
 HVLLKAKIIGYGNVSTGTNGISNVNLEEQFKERLALYNNNNRMDTCVVRNTDDIKACGMAI  
 GNQSMVNNPDNYKYLIGKAWKNIGISKANGSKISVYYLGNSTPTENGGNTTTLPTNTTNN  
 ARFASYALIKNAPFAHSATPNLVAINQHDFGTIESVFELANRSKDIDTLYANSGAQGRDLLQ  
 TLLIDSHDAGYARTMIDATSANEITKQLNTATTTLNNIASLEHKTSSLQTLSLSNAMILNSRLV  
 NLSRRHTNNIDSFARKLQALKDQRFASLESAAEVLYQFAP

**D VacA s1m1 de la cepa de H. pylori G27 (Baltrus y col., 2009, J. Bacteriol., 191(1):447-8) (SEQ ID NO: 4)**

MEIQQTHRKMNRPLVSLVLAGALISAIPQESHAAFFTTVIIPAIVGGIATGTAVGTVSGLLSWGL  
 KQAEENKPNPDKPDKVWRIQAGKGFNEFPNKEYDLYKSLSSKIDGGWDWGNAARHYWVK  
 GGQWNKLEVDMKDAVGTYKLSGLRNFTGGDLVDNMQKATLRLGQFNGNSFTSYKDAADR  
 TTRVNFNAKNISIDNFVEINNRVGSAGRKASSTVLTQASEGITSKNAEISLYDGATLNLAS  
 SSVKLMGNVWVGRLQYVGAYLAPSYSTINTSKVTGEVNFNHLTVGDKNAAQAGIIASNKTHI  
 GTLDLWQSAGLNIIAPPEGGYKDKPNNTPSQSGTKNDKNESAKNDKQESSQNNNSNTQVINP  
 PNSTQKTEIQPTQVIDGPFAGGKDTVNNINRINTNADGTIRVGGFKASLTTNAAHLHIGKGGV  
 NLSNQASGRTLLVENLTGNITVDGPLRVNNQVGGYALAGSSANFEFKAGVDTKNGTATFN  
 DISLGRFVNLKVAHTANFKGIDTGNNGFNTLDFSGVTDKVNINKLITASTNVAVKNFNINELI  
 VKTNGISVGEYTHFSEDIGSQSRINTVRLETGTRSIFSGGVKFKSGEKLVIDEFYSPWNYFD  
 ARNVKNVEITRKFASTPENPWGTSKLMFNNTLGQNAVMDYSQFSNLTIQGFINNQGTIN  
 YLVRRGGKVATLSVGNAAAMMFNNDIDSATGFYKPLIKINSAQDLIKNTEHVLLKAKIIGYGNV  
 TGTNSISNVNLEEQFKERLALYNNNNRMDTCVVRNTDDIKACGMAIGNQSMVNNPDNYKYL  
 GKAWKNIGISKANGSKISVYYLGNSTPTENGGNTTTLPTNTTNNARSANYALVKNAPFAHS  
 ATPNLVAINQHDFGTIESVFELANRSKDIDTLYTHSGVQGRDLLQTLIDSHDAGYARQMIDN  
 TSTGEITKQLNAATDALNNIASLEHKTSGLQTLSLSNAMILNSRLVNLRSRKHNTNIDSFAQLRQ  
 ALKGQRFASLESAAEVLYQFAPKYEKPTNVWANAIGGASLNNGGNASLYGTSAGVDAYLNG  
 EVEAIVGGFGSYGYSSFSNRANSLNSGANNANFGVYSRIFANQHEFDFAEQGALGSDQSSL  
 NFKSALLQDLNQSYHYLAYSAAATRASGYDFAFFRNALVLKPSVGVSYNHLGSTNFKSSSN  
 QVALKNGSSSQHLFNANANVEARYYYGDTSYFYMNAGVLQEFARFGSNNAASLNTFKVNT  
 ARNPLNTHARVMMGGELQLAKEVFLNLGVVYLHNLISNIGHFASNLGMRYSF

Figura 5 (continuación)

**E VacA s1m1 de la cepa de H. pylori 60190 (Cover y col., 1994, J. Biol. Chem., 269(14):10566-73) (SEQ ID NO: 5)**

MEIQQTHRKINRPLVSLALV GALVSITPQQSHAAFFTTVII PAIVGGIATGTAVGTVSGLLGWGL  
 KQAE EANKTPDKPKDVWRIQAGKGFNEFPNKEYDLYK SLLSSKIDGGWDWGNAATHYWIKG  
 GQWNKLEVDMKDAVGTYKLSGLRNFTGGDLVNMQKATLRLGQFNGNSFTSYKDSADRTT  
 RVD FNAKNILIDNFLEINNRVGSAGRKASSTVLT LQASEGITSSKNAEISLYDGATLNLASNSV  
 KLNGNVMMGRLQYVGAYLAPSYSTINTSKVTGEVNFNHLTVGDHNAQAAGIIASNKTHIGTLD  
 LWQSAGLNIIAPPEGGYKDKPNNTPSQSGAKNDKQESSQNNSTQVINPPNSTQKTEVQPT  
 QVIDGPFAGGKDTVVNIDRINTKADGTIKVGGFKASLT TNA AHLNIGKGGVNLNSQASGRTLLV  
 ENLTGNITVDGPLRVNNQVGGYALAGSSANFEFKAGVDTKNGTATFNNDISLGRFVNLKVDA  
 HTANFKGIDTGNGGFNTLDFSGVTNKVNINKLITASTNVAVKNFNINELIVKTNVSVGEYTHF  
 SEDIGSQRINTVRLETGTRSIFSGGVKFKS GEKLVIDEFYSPWNYFDARNIKNVEITRKFAS  
 STPENPWGTSKLMFNNTLGQNAVMDYSQFSNLTIQGD FINNQGTINYLVRRGGKVATLNVGN  
 AAAMMFNDIDSATGFYKPLIKINSAQDLIKNTEHVLLKAKIIGYGNVSTGTNGISNVNLEEQFK  
 ERLALYNNNRMDTCVVRNTDDIKACGMAIGNQSMVNNPDNYKYLIGKAWKNIGISKTANGS  
 KISVYYLGNSTPTENGGNTTNPNTTNNARFASYALIKNAPFAHSATPNLVAINQHDFGTIES  
 VFELANRSKDIDTLYANSGAQGRDLLQTLLIDSHDAGYARTMIDATSANEITKQLNTATTTLNNI  
 ASLEHKTSSLQTL SLSNAMILNSRLVNL SRRHTNNIDSFAKRLQALKDQRFASLESAAEVLYQF  
 APKYEKPTNVWANAIGGASLNNGGNASLYGTSAGV DAYLNGQVEAIVGGFGSYGYSSFNQ  
 ANSLNSGANNTNFGVYSRIFANQHEFDFAEQGALGSDQSSLNFKSALLRDLNQSYNLAYSA  
 ATRASYGYDFAFFRNALVLKPSVGVSYNHLGSTNFKSNSTNKVALSNGSSSQHLFNASANVE  
 ARYYYGDTSYFYMNA GVLQEFANFGSSNAVSLNTFKVNATRNP LNTHARVMMGGELKLAKE  
 VFLNLGVVYLHNLISNIGHFASNLGMRYSF

**VacA s1m1 de la cepa de H. pylori 26695 (Tomb y col., 1997, Nature, 388(6642):539-47) (SEQ ID NO: 6)**

**F** MEIQQTHRKINRPLVSLALV GALVSITPQQSHAAFFTTVII PAIVGGIATGAAVGTVSGLLGWGL  
 LKQAE EANKTPDKPKDVWRIQAGKGFNEFPNKEYDLYR SLLSSKIDGGWDWGNAATHYVW  
 KGGQWNKLEVDMKDAVGTYNLSGLRNFTGGDLVNMQKATLRLGQFNGNSFTSYKDSAD  
 RTTRVD FNAKNILIDNFLEINNRVGSAGRKASSTVLT LQASEGITSSKNAEISLYDGATLNLA  
 SNSVKLMGNVMMGRLQYVGAYLAPSYSTINTSKVTGEVNFNHLTVGDHNAQAAGIIASNKT  
 HIGTLDLWQSAGLNIIAPPEGGYKDKPKDKPSNTTQNNANNNQQNSAQNNSTQVINPPNS  
 AQKTEIQPTQVIDGPFAGGKDTVVNIDRINTNADGTIKVGGYKASLT TNA AHLHIGKGGINLSN  
 QASGRTLLVENLTGNITVDGPLRVNNQVGGYALAGSSANFEFKAGTDTKNGTATFNNDISLGR  
 FVNLKVDAHTANFKGIDTGNGGFNTLDFSGVTGKVNINKLITASTNVAVKNFNINELVVKTN  
 GVSVEYTHFSEDIGSQRINTVRLETGTRSIFSGGVKFKS GEKLVIDEFYSPWNYFDARNI  
 KNVEITRKFASSTPENPWGTSKLMFNNTLGQNAVMDYSQFSNLTIQGD FINNQGTINYLVRR  
 GGQVATLNVGNAAAMFFSNNVDSATGFYQPLMKINSAQDLIKNKEHVLLKAKIIGYGNVSLG  
 TNSISNVN LIEQFKERLALYNNNRMDICVVRNTDDIKACGTAIGNQSMVNNPDNYKYLIGKA  
 WKNIGISKTANGSKISVYYLGNSTPTEKGGNTTNPNTTTSNVR SANNALAQNAPFAQPSAT  
 PNLVAINQHDFGTIESVFELANRSKDIDTLYANSGAQGRDLLQTLLIDSHDAGYARQMIDNTS  
 TGEITKQLNAATTTLNNIASLEHKTSSLQTL SLSNAMILNSRLVNL SRRHTNNIDSFAQRLQAL  
 KDQKFASLESAAEVLYQFAPKYEKPTNVWANAIGG TSLNNGGNASLYGTSAGV DAYLNGEV  
 EAIVGGFGSYGYSSFNQANSLNSGANNTNFGVYSRIFANQHEFDFAEQGALGSDQSSLNFK  
 SALLRDLNQSYNLAYSAATRASYGYDFAFFRNALVLKPSVGVSYNHLGSTNFKSNSTNQV  
 ALKNGSSSQHLFNASANVEARYYYGDTSYFYMNA GVLQEFANFGSSNAVSLNTFKVNAAH  
 NPLSTHARVMMGGELKLAKEVFLNLGVVYLHNLISNIGHFASNLGMRYSF

Figura 5 (continuación)

**G** **VacA s1m1 de la cepa de H. pylori J99 (Merrell y col., 2003, Infect Immun., 71(11):6510-25) (SEQ ID NO: 7)**

MEIQQTHRKINRPLVSLVLGALISAIPQESHAAFFTTVIIPAIVGGIATGTAVGTVSGLLSWGL  
 KQAEAEANKTPDKPDKVWRIQAGKGFNEFPNKEYDLYKSLSSKIDGGWDWGNAARHYWW  
 KGGQWNKLEVDMKDAVGTYKLSGLRNFTGGDLVDNMQKATLRLGQFNGNSFTSYKDSAD  
 RTTRVNFNAKNISIDNFVEINNRVSGAGRKASSTVLTQASEGITSSKNAEISLYDGATLNL  
 ASNSVKLNGNVWMMGRLQYVGAYLAPSYSTINTSKVQGEVDFNHLTVGDQNAQAAGIIASNK  
 THIGTLDLWQSAGLNIIAPPEGGYKDKPNSTTSQSGTKNDKKEISQNNNSNTEVINPPNNTQ  
 KTETEPTQVIDGPFAGGKDTVVNIFHLNTKADGTIKVGGFKASLTNAAHLNIGKGGVNLNS  
 QASGRLLVENLTGNITVDGPLRVNNQVGGYALAGSSANFEFKAGVDTKNGTATFNNDISL  
 GRFVNLKVAHTANFKGIDTGNNGGFNTLDFSGVTDKVNINKLITASTNVAVKNFNINELIVKT  
 NGISVGEYTHFSEDIGSQSRINTVRLETGTRSIFSGGVKFKSGEKLVINDFYSPWNYFDAR  
 NVKNVEITRKFASTPENPWGTSKLMFNNTLGQNAVMDYSQFSNLTIQGFINNQGTYNYL  
 VRGGKVATLNVGNAAMMFNNDIDSATGFYKPLIKINSAQDLIKNTEHVLLKAKIIGYGNVST  
 GTNGISNVNLEEQFKERLALYNNNNRMDTCVVRNTDDIKACGMAIGNQSMVNNPDNYKYLI  
 GKAWRNIGISKTANGSKISVYYLGNSTPTENGGNTTNPNTTNNAHSANYALVKNAPFAHS  
 ATPNLVAINQHDFGTIESVFELANRSKDIDTLYTHSGAQGRDLLQTLIDSHDAGYARQMIDN  
 TSTGEITKQLNAATDALNNVASLEHKQSGQLQTLSLSNAMILNSRLVNLRSKHTNHINSFAQRL  
 QALKGQEFASLESAAEVLYQFAPKYEKPTNVWANAIGGASLNSGSNASLYGTSAGVDAFLN  
 GNVEAIVGGFGSYGYSSFSNQANSLNSGANNANFGVYSRFFANQHEFDFAQGALGSDQS  
 SLNFKSTLLQDLNQSYNYLAYSATARASYGYDFAFFRNALVLKPSVGVSYNHLGSTNFKSN  
 SQSQVALKNGASSQHFLFNANANVEARYYYGDTSYFYHAGVLQEFANFGSNDVASLNTFKI  
 NAARSPLSTYARAMMGELQLAKEVFLNLGVVYLHNLISNASHFASNLGMRYSF

**H** **VacA s1m1 de la cepa NCTC 11637 (Ito y col., 1998, J. Infect. Dis., 178(51):1391-8) (SEQ ID NO: 8)**

MEIQQTHRKINRPLVSLALVGALVSITPQQSHAAFFTTVIIPAIVGGIATGAAVGTVSGLLSWG  
 LKQAEAEANKTPDKPDKVWRIQAGRGFNFPNKEYDLYKSLSSKIDGGWDWGNAARHYWW  
 VKGGQWNKLEVDMKDAVGTYKLSGLINFTGGDLVDNMQKATLRLGQFNGNSFTSYKDSA  
 DRTRVDFNAKNILIDNFLEINNRVSGAGRKASSTVLTQASEGITSSKNAEISLYDGATLN  
 LASSSVKLMGNVWMMGRLQYVGAYLAPSYSTINTSKVTGEVNFNHLTVGDHNAQAAGIIASN  
 KTHIGTLDLWQSAGLNIIAPPEGGYKDKPKDKPSNTTQNNANNNQQNSAQNNNNTQVINPP  
 NSAQKTEIQPTQVINGPFAGGKDTVNNINRINTNADGTIRVGGYKASLTNAAHLHIGKGGIN  
 LSNQASGRSLLVENLTGNITVDGPLRVNNQVGGYALAGSNANFEFKAGTDTKNGTATFNN  
 DISLGRFVNLKVAHTANFKGIDTGNNGGFNTLDFSGVTDKVNINKLITASTNVAIKNFNINELL  
 VKTNGVSVGEYTHFSEDIGSQSRINTVRLETGTRSIFSGGVKFKSGEKLVIDEFYSPWNYF  
 DARNIKNVEITRKFASTPENPWGTSKLMFNNTLGQNAVMDYSQFSNLTIQGFINNQGTI  
 NYLVRGGKVATLNVGNAAMMFNNDIDSATGFYKPLIKINSAQDLIKNTEHVLLKAKIIGYGN  
 VSTGTNGISNVNLEEQFKERLALYNNNNRMDTCVVRNTDDIKACGMAIGNQSMVNNPDNY  
 KYLIGKAWKNIGISKTANGSKISVYYLGNSTPTENGGNTTNPNTTNNARSANYALVKNAP  
 FAHSATPNLVAINQHDFGTIESVFELANRSKDIDTLYTHSGAKGRDLLQTLIDSHDAGYARQ  
 MIDNTSTGEITKQLNAATTTLNNIASLEHKTSSLQTLSLSNAMILNSRLVNLRSKHTNIDSFA  
 KRLQALKDQRFASLESAAEVLYQFAPKYEKPTNVWANAIGGASLNNGSNASLYGTSAGVD  
 AYLNQVEAIVGGFGSYGYSSFSNRANSLNSGANNTNFGVYSRIFANQHEFDFAQGALG  
 SDQSSLNFKSALLQDLNQSYNYLAYSAAATRASGYDFAFFKNALVLKPSVGVSYNHLGSTN  
 FKSNTNKVALSNGSSSQHLFNASANVEARYYYGDTSYFYMNAGVLQEFANFGSSNAVSL  
 NTFKVNAARNPLNTHARVMMGGELQLAKEVFLNLGVVYLHNLISNIGHFASNLGMRYSF

Figura 5 (continuación)



**I VacA s1m1 de la cepa de H. pylori P12 (Fischer y col., 2010, Nucleic Acids Res. 38(18):6089-101) (SEQ ID NO: 9)**

MEIQQTHRKINRPLVSLALVGALVSITPQQSHAAFFTTVIIPAIVGGIASGAAVGTVSGLLGWGL  
 KQAEAEANKTPDKPKDVWRIQAGKGFNEFPNKEYDLYRSLSSKIDGGWDWGNAATHYWWK  
 GGQWNKLEVDMKDAVGTYNLSGLRNFTGGDLVDNMQKATLRLGQFNGNSFTSYKDSADRT  
 TRVDFNAKNISIDNFLEINNRVSGAGRKASSTVLTQASEGITSSKNAEISLYDGATLNLASSS  
 VKLMGNVWMGRLQYVGAYLAPSYSTINTSKVTGEVNFNHLTVGDRNAAQAGIIASNKTHIGTL  
 DLWQSAGLNIIAPPEGGYKDKPNNTPSQSGAKNDKNESAKNDKQESSQNNNSNTQVINPPNS  
 AQKTEVQPTQVIDGPFAGGKDTVVNINRINTNADGTIRVGGYKASLTTNAAHLHIGKGGVNLN  
 NQASGRLLVENLTGNITVDGPLRVNNQVGGYALAGSSANFEFKAGTDTKNGTATFNNDISL  
 GRFVNLKVAHTANFKGIDTGNNGFNLDGSGVTDKVNINKLITASTNVAIKNFNINELLVKTNG  
 VSVGEYTHFSEDIGSQSRINTVRLETGTRSIFSGGVKFKGGEKLVINDFYAPWNYFDARNIKN  
 VEITNKLAFGPQGS PWGTSKLMFNNTLGQNAVMDYSQFSNLTIQGDFVNNQGTINYLVRRGG  
 QVATLNVGNAAAMFFNNNVDSATGFYQPLMKINSAQDLIKNKEHVLLKAKIIGYGNVSAGTNSI  
 SNVNLIQFKERLALYEHNNRMDICVVRNTDDIKACGTAIGNQSMVNNPDNYKYLGKAWKNI  
 GISKTANGSKISVHYLGNSTPTENSGNTTTLPTNTTNSARSAKNALAQNAPFAQPSATPSLVAI  
 NQHDFGTIESVFELANRSKDIDTLYTHSGAQGRNLLQTLIDSHDAGYARQMIDNTSTGEIHKQL  
 NAATTLNNAVASLEHKQSGLQTLSLSNAMILNSRLVNLRRHTNIDSFAQRLQALKDQKFAS  
 LESAAEVLYQFAPKYEKPTNVWANAIGGTSLNNGGNASLYGTSAGVDAYLNGEVEAIVGGFG  
 SYGYSSFSNQANSLNSGANNTNFGVYSRIFANQHEFDFAQQGALGSDQSSLNFKSALLRDL  
 NQSYNYLAYSAAATRASYG YDFAFFRNALVLKPSVGVSYNHLGSTNFKSNSTNQVALKNGSSS  
 QHLFNASANVEARYYYGDTSYFYMNAGVLQEFANFGSSNAVSLNTFKVNAARNPLNTHARV  
 MMGGELKLAKEVFLNLGFVYLHNLISNIGHFASNLGMRYSF

**J VacA s1m1 de la cepa de H. pylori (Haas y col., 1994, Mol. Microbiol., 12:307-319) (SEQ ID NO: 10)**

MEIQQTHRKINRPLVSLALVGALVSITPQQSHAAFFTTVIIPAIVGGIATGAAVGTVSGLLGWGL  
 KQAEAEANKTPDKPKDVWRIQAGKGFNEFPNKEYDLYKSLSSKIDGGWDWGNAARHYWWK  
 DGQWNKLEVDMQNAVGTYNLSGLINFTGGDLVDNMQKATLRLGQFNGNSFTSYKDSADRT  
 TRVDFNAKNILIDNFLEINNRVSGAGRKASSTVLTQASEGITSRENAEISLYDGATLNLASN  
 SVKLMGNVWMGRLQYVGAYLAPSYSTINTSKVTGEVNFNHLTVGDHNAQAGIIASNKTHIG  
 TLDLWQSAGLNIIAPPEGGYKDKPNDKPSNTTQNNAKNDKQESSQNNNSNTQVINPPNSAQKT  
 EIQTPTQVIDGPFAGGKNTVVNINRINTNADGTIRVGGFKASLTTNAAHLHIGKGGINLSNQASG  
 RSLLENLTGNITVDGPLRVNNQVGGYALAGSSANFEFKAGTDTKNGTATFNNDISLGRFVN  
 LKVAHTANFKGIDTGNNGFNLDGSGVTNKNVINKLITASTNVAVKNFNINELVVKTNGVSVG  
 EYTHFSEDIGSQSRINTVRLETGTRSIYSGGVKFKGGEKLVINDFYAPWNYFDARNIKNVEIT  
 NKLAFGPQGS PWGTAKLMFNNTLGQNAVMDYSQFSNLTIQGDFVNNQGTINYLVRRGGQVA  
 TLNVGNAAAMFFSNNVDSATGFYQPLMKINSAQDLIKNKEHVLLKAKIIGYGNVSAGTDSIANV  
 NLIEQFKERLALYNNNNRMDICVVRNTDDIKACGTAIGNQSMVNNPENYKYLEGKAWKNIGIS  
 KTANGSKISVHYLGNSTPTENGGNTTTLPTNTTNTKVRFASYALIKNAPFARYSATPNLVAINQ  
 HDFGTIESVFELANRSNDIDTLYANSGAQGRDLLQTLIDSHDAGYARTMIDATSANEITKQLN  
 TATTLNNIASLEHKTSGLQTLSLSNAMILNSRLVNLRRHTNHIDSFAKRLQALKDQRFASLE  
 SAAEVLYQFAPKYEKPTNVWANAIGGTSLNNGGNASLYGTSAGVDAYLNGEVEAIVGGFGSY  
 GYSSFSNQANSLNSGANNTNFGVYSRIFANQHEFDFAQQGALGSDQSSLNFKSALLRDLNQ  
 SYNYLAYSAAATRASYG YDFAFFRNALVLKPSVGVSYNHLGSTNFKSNSTNQVALKNGASSQ  
 HLFNASANVEARYYYGDTSYFYMNAGVLQEFANFGSSNAVSLNTFKVNAARNPLNTHARVM  
 MMGGELKLAKEVFLNLGFVYLHNLISNIGHFASNLGMRYSF

Figura 5 (continuación)

**K VacA s1m1 de la cepa de H. pylori NCTC 11638 (Phadnis y col., 1994, Infect, Immun. 62:1557-1565) (SEQ ID NO: 11)**

MEIQQTHRKINRPLVSLALVGALVSITPQQSHAAFFTTVIIPAIVGGIATGTAVGTVSGLLSWGLK  
QAEENKTPDKPDKVWRIQAGKGFNEFPNKEYDLYRSLSSKIDGGWDWGNAARHYWKG  
GQQNKLEVDMKDAVGTYTSLGLRNFTGGDLVNMQKATLRLGQFNGNSFTSYKDSADRTRR  
VDFNAKNISIDNFVEINNRVSGAGRKASSTVLTQASEGITSKNAEISLYDGATLNLASSS  
VKLMGNVWMGRLQYVGAYLAPSYSTINTSKVTGEVNFNHLTVGDKNAAQAGIANKKTNIGTL  
DLWQSAGLNIIAPPEGGYKDKPNNTPSQSGAKNDKNESAKNDKQESSQNNSTQVINPPNS  
AQKTEVQPTQVIDGPFAGGKDTVVNINRINTNADGTIRVGGFKASLTNAAHLHIGKGGVNLS  
NQASGRSLIVENLTGNITVDGPLRVNNQVGGYALAGSSANFEFKAGTDTKNGTATFNNDISLG  
RFVNLKVAHTANFKGIDTGNNGFNTLDFSGVTDKVNINKLITASTNVAVKNFNINELIVKTNGI  
SVGEYTHFSEDIGSQSRINTVRLETGTRSLFSGGVKFKGGEKLVIDEFYSPWNYFDARNIKN  
VEITNKLAFGPQGSPWGTSKLMFNNTLGQNAVMDYSQFSNLTIQGDFINNQGTINYLVRRGGK  
VATLSVGNAAAMMFNNDIDSATGFYKPLIKINSAQDLIKNTEHVLLKAKIIGYGNVSTGTNGISN  
VNLEEQFKERLALYNNNNRMDTCVVRNTDDIKACGMAIGDQSMVNNPDNYKYLIGKAWKNIG  
ISKTANGSKISVYYLGNSTPTENGGNTTNLPTNTTNSNARSANALAQNAPFAQPSATPNLVAI  
NQHDFGTIESVFELANRSKDIDTLYANSGAQRDLLQTLIDSHDAGYARKMIDATSANEITKQ  
LNTATTTLNNIASLEHKTSGLQTLSLSNAMILNSRLVNLRRHTNHIDSAKRLQALKDQKFASL  
ESAAEVLYQFAPKYEKPTNVWANAIGGTSLNNGSNASLYGTSAGVDAYLNGQVEAIVGGFGS  
YGYSSFNRRANSLNSGANNTNFGVYSRIFANQHEFDFAQALGSDQSSLNFKSALLQDLNQ  
SYHYLAYSAAATRASYGDFAFFRNALVLKPSVGVSYNHLGSTNFKSNSTNQVALKNGSSSQH  
LFNASANVEARYYYGDTSYFYMNAGVLQEFHVGSNNAASLNTFKVNAARNPLNTHARVMM  
GGELKLAKEVFLNLGVVYLHNLISNIGHFASNLGMRYSSFF

Figura 5 (continuación)

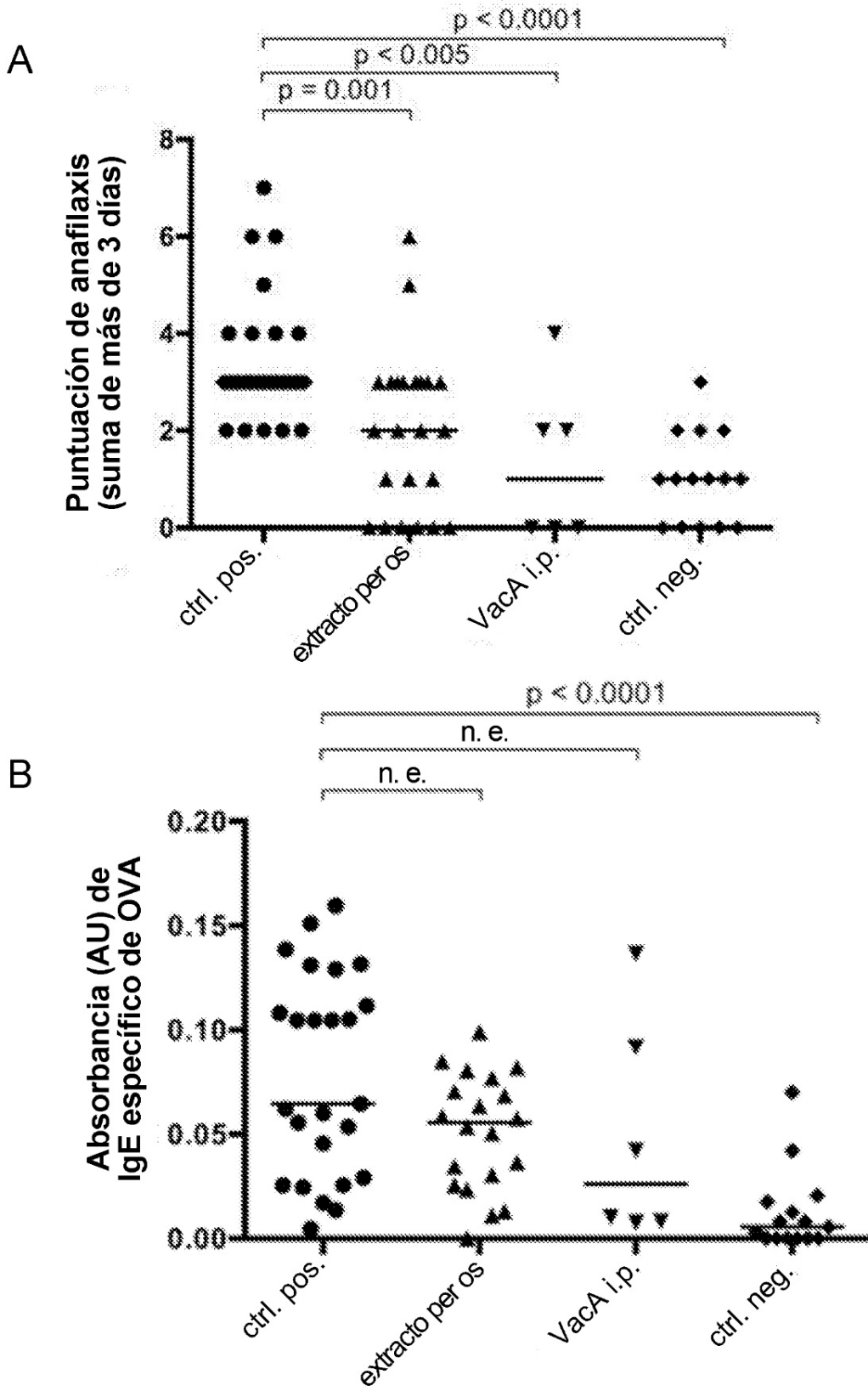


Figura 6

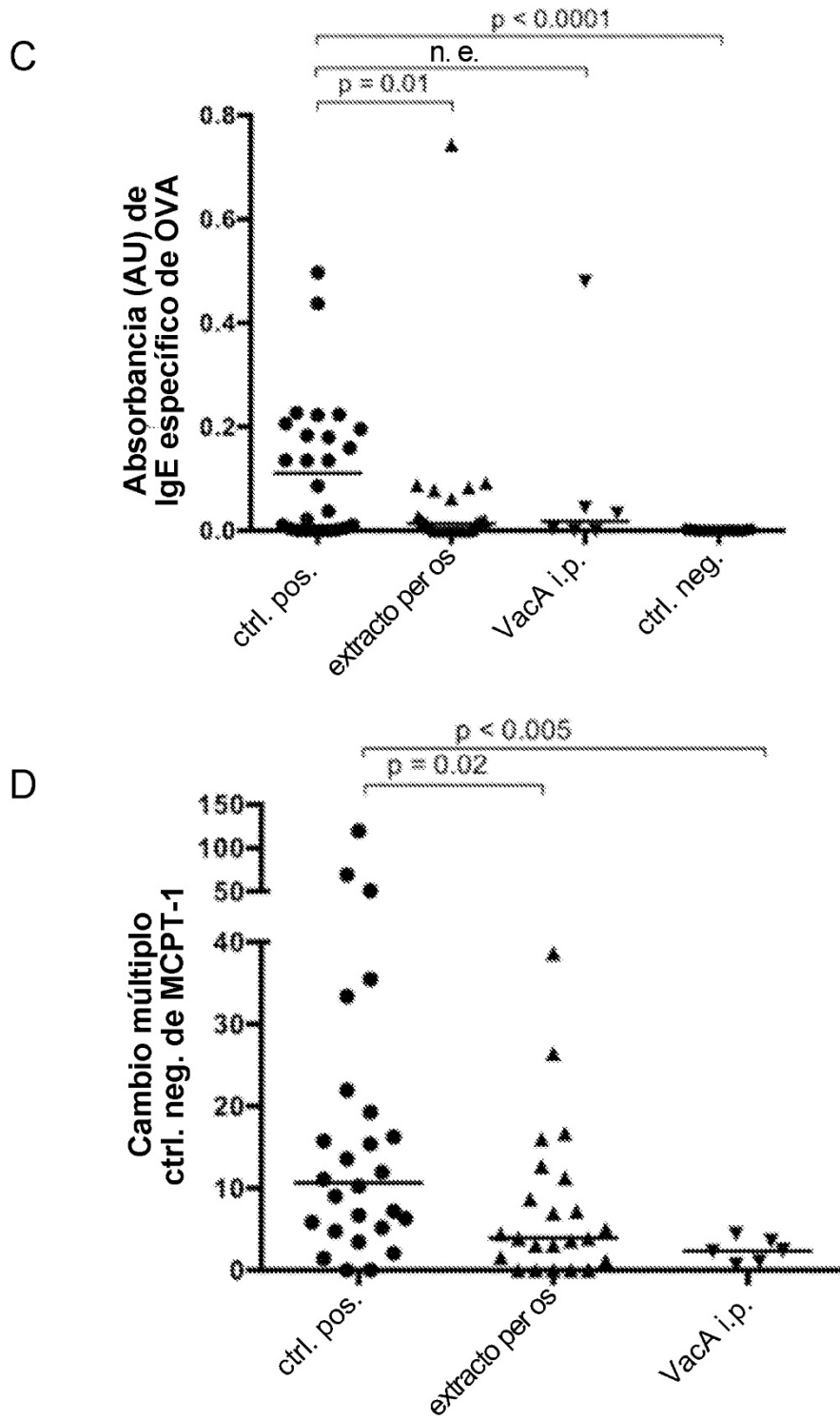


Figura 6 (continuación)

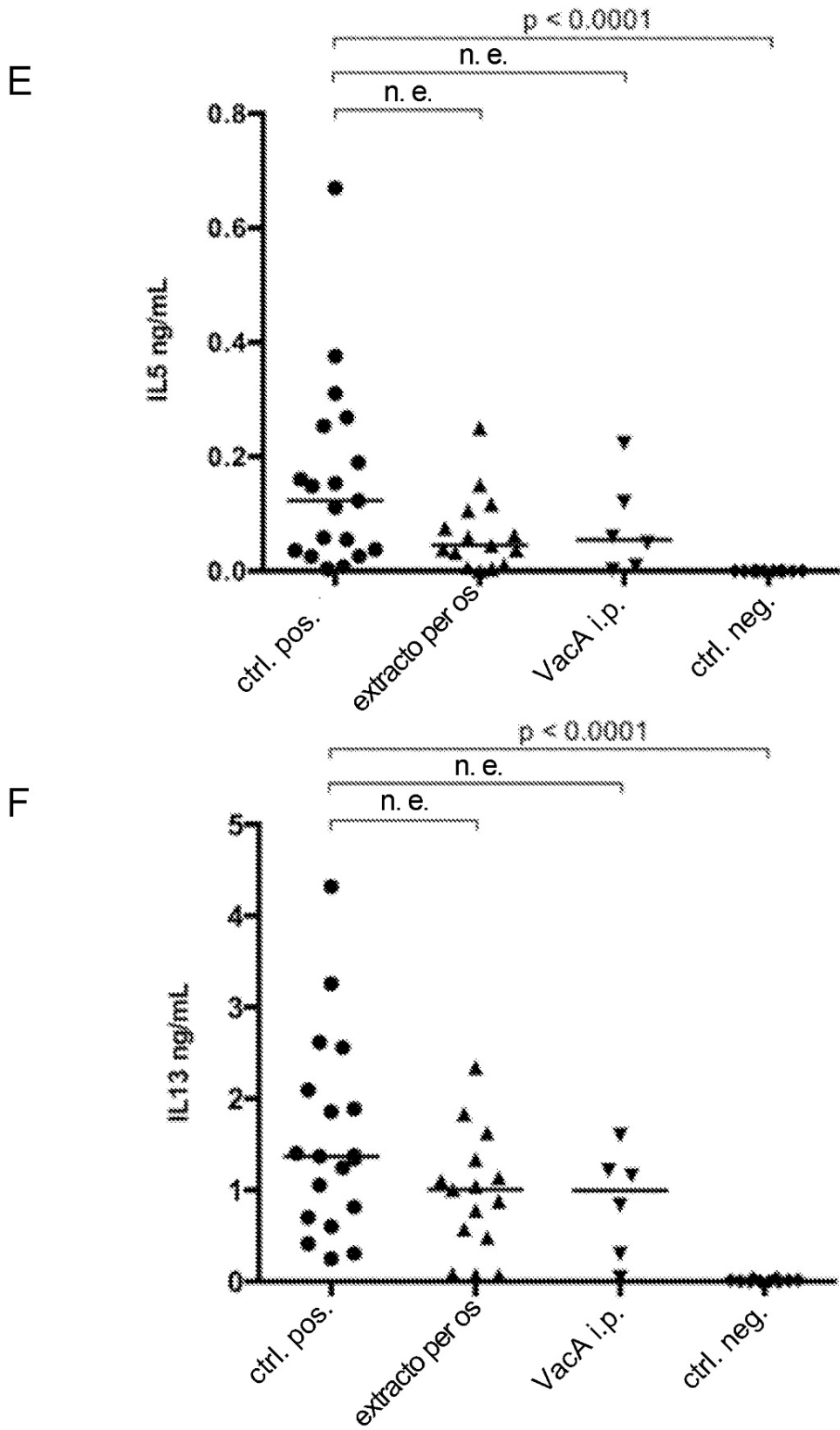


Figura 6 (continuacion)