



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



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

⑮ Int. Cl.:

A61K 38/16 (2006.01)
A61P 37/08 (2006.01)

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑥ Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.01.2015 PCT/IB2015/050703**

⑦ Fecha y número de publicación internacional: **06.08.2015 WO15114575**

⑨ Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.01.2015 E 15708316 (3)**

⑩ Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.04.2020 EP 3099314**

④ Título: **Composiciones que comprenden tolerógenos y usos de las mismas**

⑩ Prioridad:

31.01.2014 EP 14153365

④ Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

18.02.2021

⑩ Titular/es:

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

⑩ Inventor/es:

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

⑩ 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.

20 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).

35 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 β_2 (como el salbutamol) y las leucotrienas, 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 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 inmungénicas a través de las respuestas de células T efectoras. Las respuestas predominantes de Treg son características en vehículos fuertemente colonizados pero asintomáticos.

55 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 eliminan las bacterias (Arnold y col., 2011, *supra*). De manera similar, la inducción de Treg protectoras requería bacterias vivas *in vivo* y no pudo lograrse con el extracto muerto.

65 Aparte de las Treg, 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 γ -

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 efecto 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 (Marsahli 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 preclínicas 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 desafíados 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.

5 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.

10 15 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 20 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 ecema, 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 25 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.

30 35 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 40 alérgenos alimentarios comunes incluyen componentes de la leche, soja, pescado y mariscos, frutos secos, maní, trigo (gluten) y huevos.

45 50 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.

55 60 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.

65 70 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.

75 80 85 90 95 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 fisiquímicas 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 hidrofilicidad 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.).

20 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).

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

30 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.

35 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.

40 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.

45 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 elucidar 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 immunomoduladoras 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).

- 5 De manera alternativa, se puede aplicar la ultrasonicación 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.
- 10 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:
- 15 (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.
- 20 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.
- 25 En otro aspecto, la presente invención proporciona los polipéptidos VacA de la invención en la forma de un polipéptido VacA purificado.
- 30 En otro aspecto adicional, la presente invención proporciona los polipéptidos VacA de la invención en la forma de un polipéptido VacA purificado recombinante.
- 35 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.
- 40 La preparación del polipéptido VacA, según la invención, de manera recombinante, se puede lograr mediante varias técnicas conocidas en la técnica.
- 45 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.
- 50 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., 2^a 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.
- 55 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.
- 60 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.
- 65 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, incluyendo detergentes.

10 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 y col., 2010, Biochemistry 49:5743-5752 y Gangwer y col., 2007, PNAS, 104(41):16293-8.

15 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.

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

25 Composiciones

30 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, asma atópica o inducida por alérgenos o una alergia alimentaria.

35 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.

40 40 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 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.

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 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.

50 50 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).

55 60 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.

65 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.

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

- 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 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 arábiga. 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®.
- 15 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.
- 20 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.
- 30 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 arábiga, gelatina, sorbitol, tragacanto, mucílago 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 sódico. Los agentes humectantes incluyen, entre otros, laurilsulfato sódico. Los comprimidos pueden estar recubiertos según los procedimientos bien conocidos en la técnica.
- 35 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 50 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 realizada y mejorar la solubilidad.
- 55 60 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.
- 65 Según un aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica inyectable.
- 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.

15 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.

20 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 25 alrededor de 5 a alrededor de 500 mg puede usarse para lograr los efectos de tolerización.

30 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.

35 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 40 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*

50 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).

55 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 60 mediante la(s) misma(s) o diferentes vías de administración.

65 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 los 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.

Pacientes

15 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.

Uso según la invención

40 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.

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

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.

50 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.

55 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:

BALF (fluido de lavado broncoalveolar), **BCA** (ensayo ácido bicinconínico), **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 hiporesponsividad 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 pasos 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).

5 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 10 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

15 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 Δ 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 20 se explicó anteriormente, o la variante eliminada Δ 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.

25 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.

30 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.

35 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 citocentrífugadas teñidas con el Conjunto Microscopy Hemacolor® (Merck). Para la histopatología pulmonar, los pulmones se fijaron mediante la inflación e inmersión en un 10% de 40 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

45 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*).

50 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).

60 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.

65 *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^{-/-}, BL/6.TLR4^{-/-}, BL/6.MyD88^{-/-}, 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

- 5 16 h y los sobrenadantes se sometieron a un ELISA mIL-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+ se aislaron positivamente mediante 10 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), estreptomicina (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 15 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 20 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 25 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 30 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.

35 **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 40 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 45 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).

50 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).

55 **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 60 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).

65 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														15	

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

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

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 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 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 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 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 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

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

<210> 3

<211> 957

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Variante de eliminación de 6-27 VacA

10 <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 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 Arg Met Asp Thr Cys Val Val Arg Asn
705 710 715 720

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 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

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 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	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 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 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> Cepa 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

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

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 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 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

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 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 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

<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

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 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	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 Gln Gln			
340		345	350
Asn Ser Ala Gln Asn Asn Asn 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 Asn Gly Pro			
370		375	380
Phe Ala Gly Gly Lys Asp Thr Val Val Asn Ile Asn Arg Ile Asn Thr			
385		390	400
Asn Ala Asp Gly Thr Ile Arg 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 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 Asn Ala Asn Phe Glu Phe Lys Ala Gly Thr Asp			
465		470	475

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 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	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 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	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 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 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 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 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 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 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 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
<212> PRT

5 <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 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
785 790 795 800

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 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 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 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*.
- 5
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*.
- 10
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*.
- 15
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:
- 20
- (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;
- 25
- (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.
- 30
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.
- 35
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.
- 40
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.
- 45
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.
- 50
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*.
- 55
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.
- 60
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.
- 65

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.

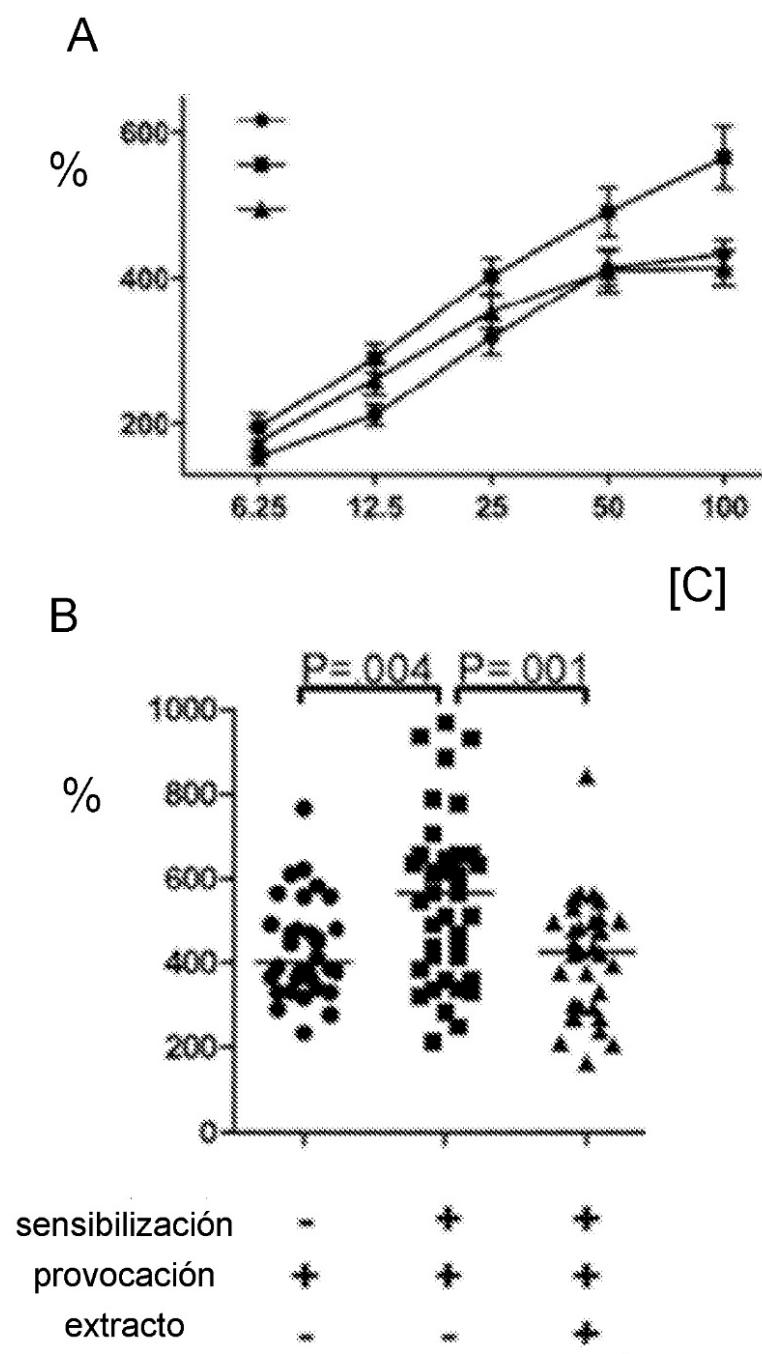


Figura 1

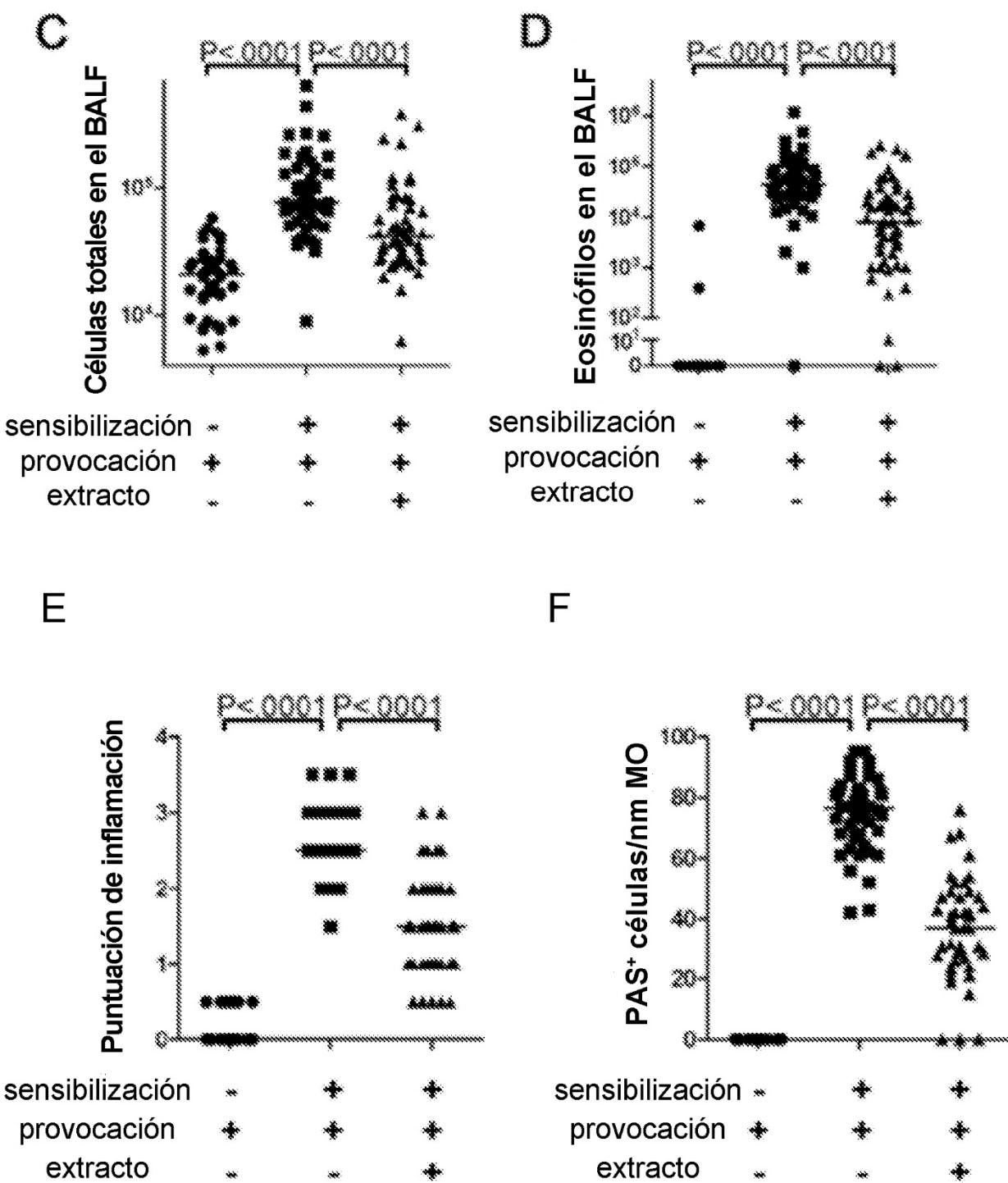


Figura 1 (continuación)

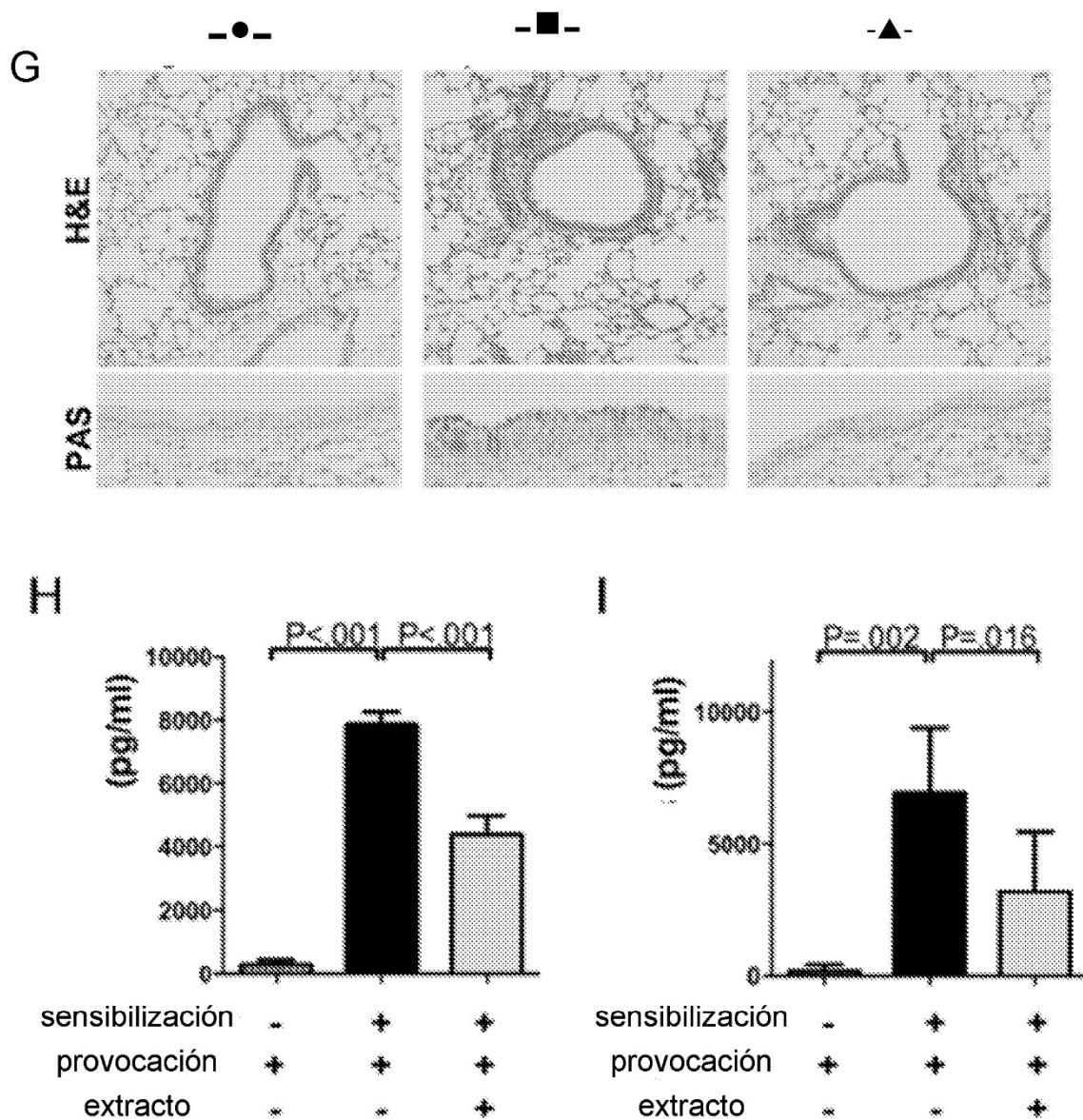


Figura 1 (continuación)

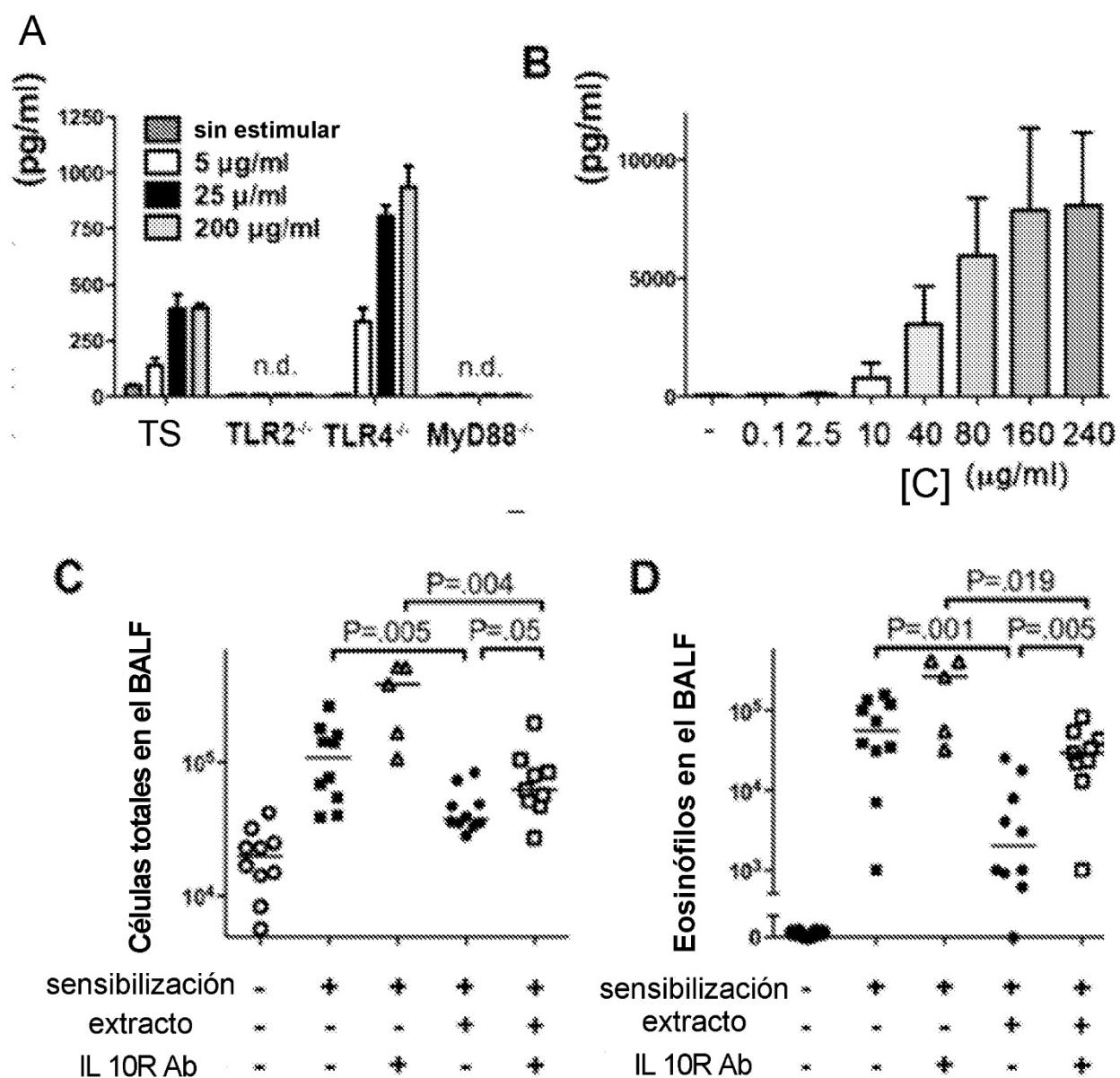


Figura 2

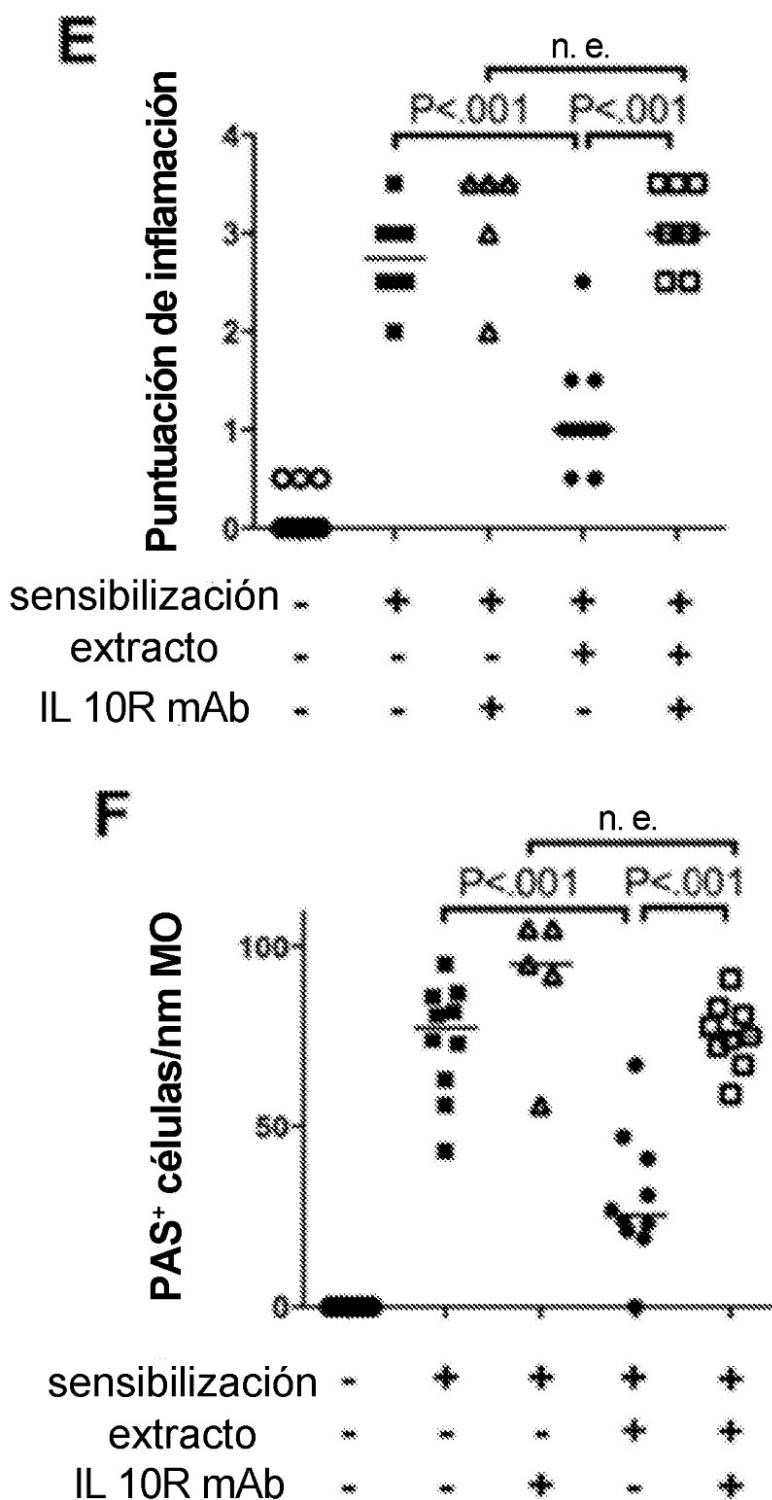
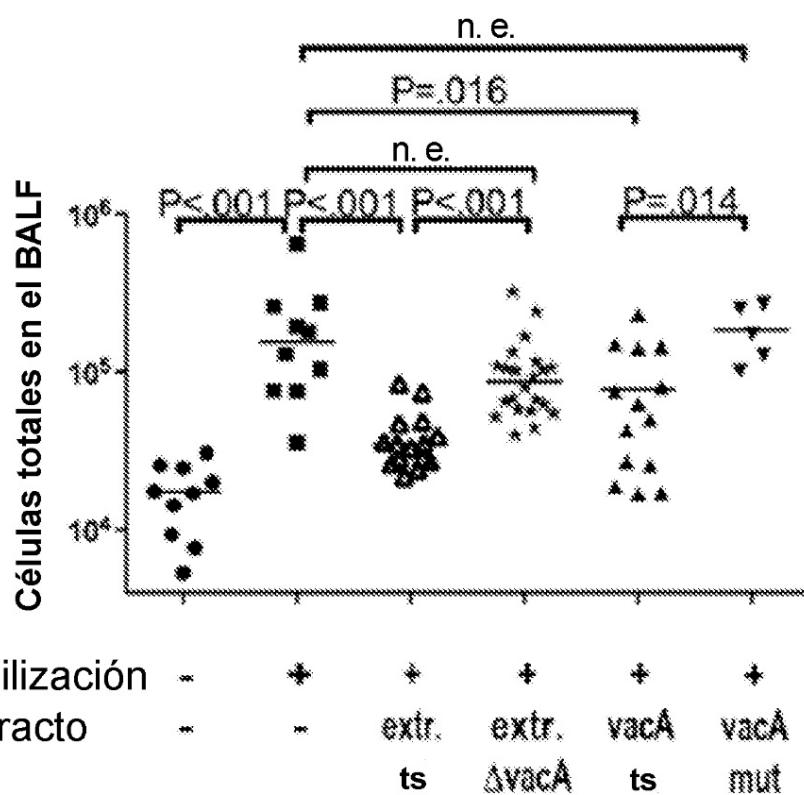


Figura 2 (continuación)

A



B

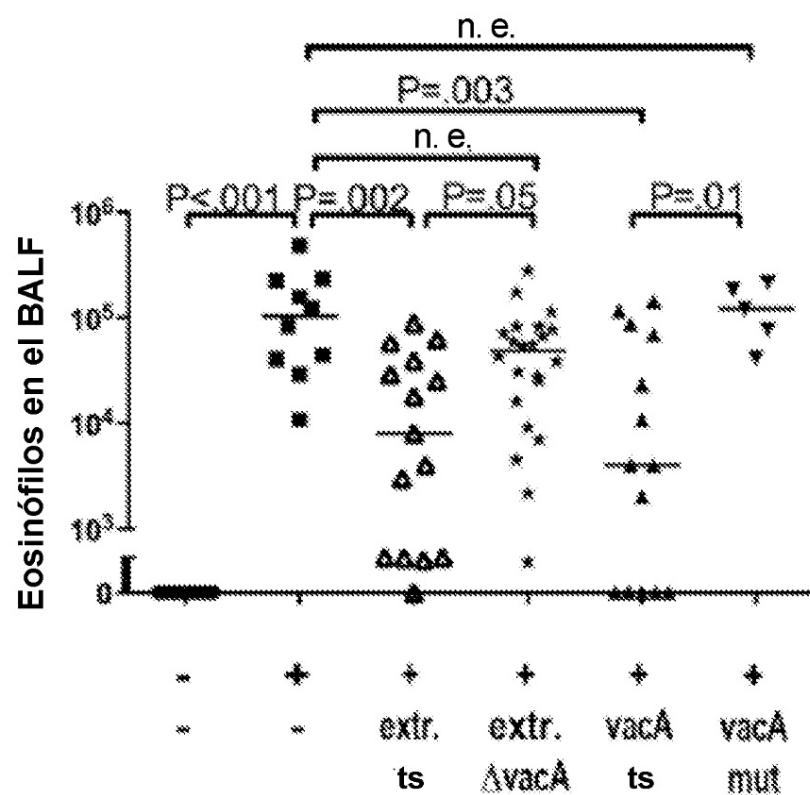


Figura 3

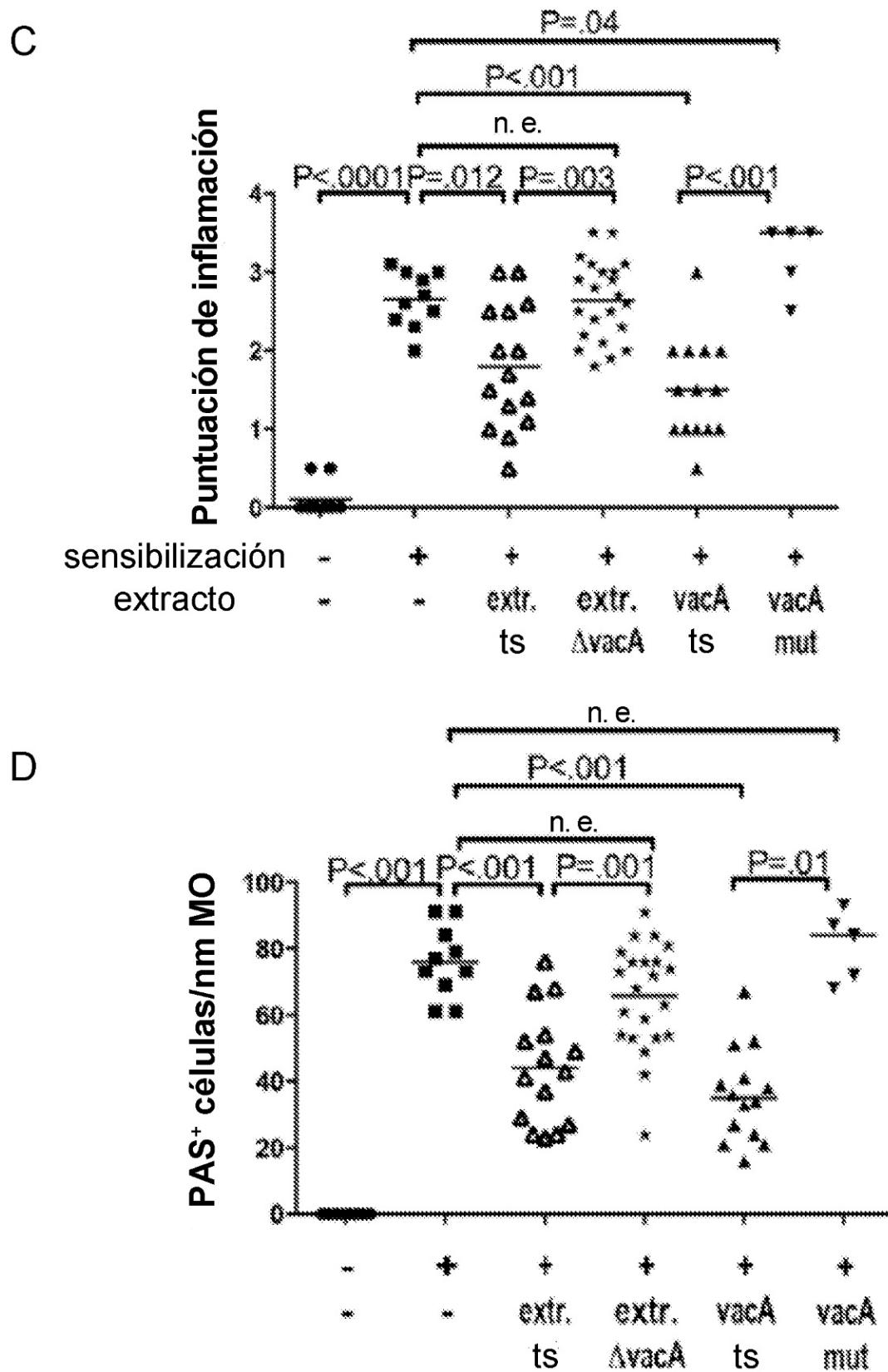


Figura 3 (continuación)

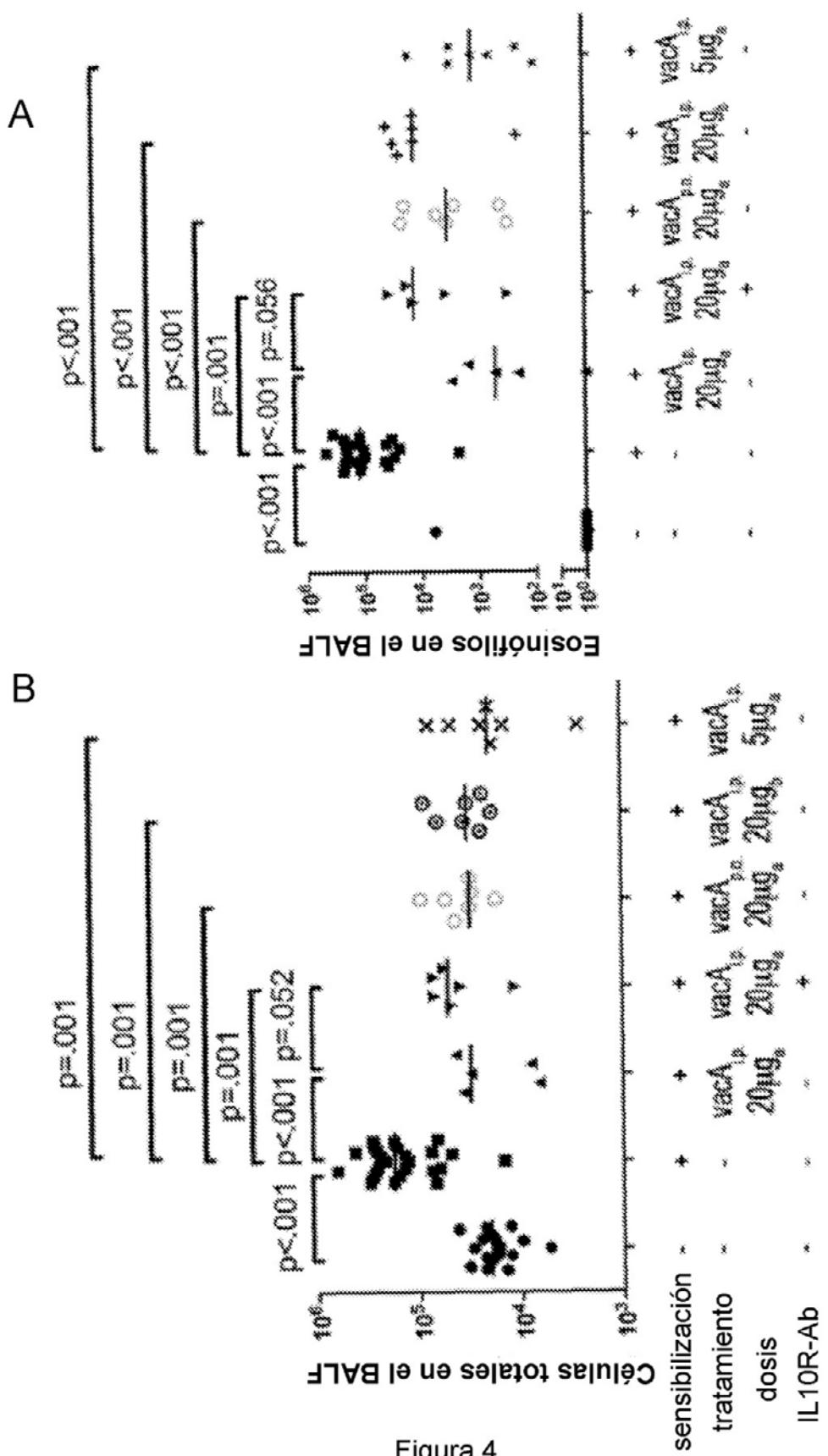


Figura 4

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

AFFTTVIIPAIVGGIATGTAvgTVSGLGWLKQAEANKTPDKPDKVWRIQAGKGFNEFPN
 KEYDLYKSLLSSKIDGGWDWGNAATHYWKGGQWNKLEVDMKDAVGTYKLSGLRNFTGG
 DLDVNMQKATLRLGQFNGNSFTSYKDSADRTTRVDFNAKNILIDNFLEINNRVSGAGRKA
 SSTVLTQASEGITSSKNAEISLYDGATLNLASNSVKLNGNVWMGRQLQYVGAYLAPSYSTIN
 TSKVTGEVNFNHTVGDHNAAQAGIIASNKTHIGTLDWQSAGLNIIAPPEGGYKDKNTP
 SQSGAKNDKQESSQNSNTQVINPPNSTQKTEVQPTQVIDGPFAGGKDTVNIDRINTKAD
 GTIKVGGFKASLTTNAAHLNIGKGGVNLSNQASGRTLLVENLTGNITVDGPLRVNNQVGGYA
 LAGSSANFEFKAGVDTKNGTATFNNDISLGRFVNLKVDAAHTANFKGIDTNGGGNTLDFSG
 VTNKVNINKLITASTNVAVKNFNINELIVKTNGVSVGEYTHFSEDIGSQRINTVLETGTRSIF
 SGGVKFKSGEKLVIDEFYYSPWNYFDARNIKNVEITRKFASSTPENPWGTSKLMFNNLTLGQ
 NAVMDYSQFSNLTIQGDFINNQGTINYLVRGGKVATLNVGNAAMMFNNNDIDSATGFYKPLI
 KINSAQDLIKNTEHVLLKAKIIGYGNVSTGTNGISNVNLEEKFKERLALYNNNNRMDTCVVRN
 TDDIKACGMAIGNQSMVNNPDNYKYLIGKAWKNIGISKTANGSKISVYYLGNSTPTENGNT
 TNLPTNTNNARFASYALIKNAPFAHSATPNLVAINQHDFGTIESVFELANRSKIDTLYANS
 GAQGRDLLQTLIDSHADYARTMIDATSANEITKQLNTATTNNIASLEHKTSSLQTLSSLN
 AMILNSRLVNLSSRRHTNNIDSFAKRLQALKDQRFASLESAAEVLYQFAP

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)

MEIQQTTHRKINRPIISLALVGVLMGTELGANTPNDPIHSESRAFFTTVIIPAIVGGIATGAAVGT
 VSGLLSWGLKQAEQANKAPDKPDKVWRIQAGRGFDNFPHKQYDLYKSLLSSKIDGGWDW
 GNAARHYWVKDGQWNKLEVDMQNAVGTYNLGLINFTGGLDVNMQKATLRLGQFNGNS
 FTSFKDGANRTTRVNFDAKNILIDNFVEINNRVGGAGRKASSTVLTLSSEKITSRENAEISL
 YDGATLNLVSSSNQSVLDLYGKWMGRQLQYVGAYLAPSYSTIDTSKVQGEMNFRHLAVGDQ
 NAAQAGIIANKKTNIGTLDWQSAGLSIITPPEGGYESKTDNPQNNPKNDAQKTEIQPTQVI
 DGPFAGGKDTVNNIFHLNTKADGTLRAGGFKASLSTNA AHLHIGEGGVNLSNQASGRTLLV
 ENLTGNITVEGTLRVNNQVGGAAIAGSSANFEFKAGEDTNATATFNNDIHLGKAVNLRVDA
 HTANFNGNIYLGKSTNLRVNGHTAHFKNIDATKSDNGLNTSTLDFSGVTDKVNINKLTTAAT
 NVNIKNFIDIKELVVTTRVQSFQQYTIFGENIGDKSIRGVVSLQTGYSPAYSGGVTFKGGKKLV
 IDEYHAPWNYFDARNVTDVEINKRILFGAPGNIAGKTRGLMFNNLTNSNASMDYKGKDDLT
 QGHFTNNQGTMNLVQDGRVATLNAGHQASMIFNNLVDTTGFYKPLIKINNAQNLTKNKE
 HVLVKARNIDYNLVGQGASYDNISASNTNLQEKFKERLALYNNNNRMDTCVVRKDNLNDI
 KACGMAIGNQSMVNNPENYKYLEGKAWKNTGINKTANNNTIAVNLGNNSTPTNSTDTTN
 PTNTNNARFASYALIKNAPFAHSATPNLVAINQHDFGTIESVFELANRSSDIDTLYANSGAQ
 GRDLLQTLIDSHADYARTMIDATSANEITQQLNAATTNNIASLEHKTSGLQTLSSLNAMI
 LNSRLVNLSSRKHTNHIDSFAKRLQALKDQRFASLESAAEVLYQFAPKYEKPTNVWANAIGGT
 SLNNGSNASLYGTSAGVDAYLNGEVEAIVGGFGSYGYSSFSNQANSLSGANNTNFGVYS
 RIFANQHEFDFEAQGALGSDQSSLNFKSALLQDLNQSYHYLAYSATTRASYGYDFAFFRNA
 LVLKPSVGVSYNHGSTNFKSNSNQVALSNGSSQHLFNANANVEARYYYGDTSYFYMNA
 GVLQEFAFRGSSNNAVLNTFKVNATRNPLNTHARVMMGGELQLAKEVFLNLGVVYLHNLS
 NASHFASNLGMRYSF

Figura 5

C VacA mutante de control negativo (Δ 6-27) (SEQ ID NO: 3)

AFFTTLGWGLKQAAEANKTPDKPDKVWRIQAGKGFNEFPNKEYDLYKSLLSSKIDGGWD
 WGNAATHYWKGGQWNKLEVDMKDAVGTYKLSGLRNFTGGDLDVNMQKATLRLGQFNG
 NSFTSYKDSADRTTRVDFNAKNILIDNFLEINNRVSGSGAGRKASSTVLTQASEGITSSKNA
 EISLYDGATLNLASNSVKLNGNVWMGRQLQYVGAYLAPSYSTINTSKVTGEVNFNHLTVGD
 HNAAQAGIIASNKTHIGTLDWQSAGLNIIAPPEGGYKDPNNTPSQSGAKNDKQESSQNN
 SNTQVINPPNSTQKTEVQPTQVIDGPFAGGKDTVNVNIDRINTKADGTIVGGFKASLTNAA
 HLNIGKGGVNLSNQASGRTLLVENLTGNITVDGPLRVNNQVGGYALAGSSANFEFKAGVD
 TKNGTATFNNNDISLGRFVNWKDAHTANFKGIDTNGGFNTLDFSGVTNKVNINKLITASTN
 VAVKNFNINELIVKTNGVSVGEYTHFSEDIGSQRINTVRLTGRSIFSGGVFKSGEKLVI
 DEFYYSPWNYFDARNIKNVEITRKFASSTPENPWGTSKLMFNNLTGQNAVMDYSQFSNL
 TIQGDFINNQGTINYLVRGGKVATLNVGNAAMMFNNIDSATGFYKPLIKINSAQDLIKNTE
 HVLLKAKIIGYGNVSTGTNGISNVNLEEQFKERLALYNNNNRMDTCVRNTDDIKACGMAI
 GNQSMVNNPDNYKYLIGKAWKNIGISKTANGSKISVYYLGNSTPTENGNTTNPNTNN
 ARFASYALIKNAPFAHSATPNLVAINQHDFGTIESVFELANRSKDIDTLYANSGAQGRDLLQ
 TLLIDSHDAGYARTMIDATSANEITKQLNTATTLNNIASLEHKTSSLQTLSSLNAMILNSRLV
 NLSRRHTNNIDSFAKRLQALKDQRFASLESAAEVLYQFAP

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
 KQAAEANKNPDKPDKVWRIQAGKGFNEFPNKEYDLYKSLLSSKIDGGWDWGNAARHYWK
 GGQWNKLEVDMKDAVGTYKLSGLRNFTGGDLDVNMQKATLRLGQFNGNSFTSYKDAADR
 TTRVNFNAKNISIDNFVEINNRVSGSGAGRKASSTVLTQASEGITSKNAEISLYDGATLNLAS
 SSVKLMGNVWMGRQLQYVGAYLAPSYSTINTSKVTGEVNFNHLTVGDKNAAQAGIIASNKTHI
 GTLDLWQSAGLNIIAPPEGGYKDPNNTPSQSGTKNDKNESAQNDKQESSQNSNTQVNP
 PNSTQKTEIQPTQVIDGPFAGGKDTVNNIRINTNADGTIRVGGFKASLTNAAHLHIGKGGV
 NLSNQASGRTLLVENLTGNITVDGPLRVNNQVGGYALAGSSANFEFKAGVDTKNGTATFNN
 DISLGRFVNWKDAHTANFKGIDTNGGFNTLDFSGVTDKVNINKLITASTNVAVKNFNINELI
 VKTNGISVGEYTHFSEDIGSQRINTVRLTGRSIFSGGVFKSGEKLVIDEYYSPWNYFD
 ARNVKNVEITRKFASSTPENPWGTSKLMFNNLTGQNAVMDYSQFSNLTIQGDFINNQGTIN
 YLVRGGKVATLNVGNAAMMFNNIDSATGFYKPLIKINSAQDLIKNTEHVLLKAKIIGYGNVS
 TGTNSISNVNLEEQFKERLALYNNNNRMDTCVRNTDDIKACGMAIGNQSMVNNPDNYKYL
 GKAWSKIGISKTANGSKISVYYLGNSTPTENGNTTNPNTNNARSANYALVKNAPFAHS
 ATPNLVAINQHDFGTIESVFELANRSKDIDTLYTHSGVQGRDLLQTLIDSHDAGYARQMDN
 TSTGEITKQLNAATDALNNIASLEHKTSGLQTLSSLNAMILNSRLVNLRSRKHTNIDSFAQRLQ
 ALKGQRFASLESAAEVLYQFAPKYEKPTNVWANAIGGASLNNNGNASLYGTSAGVDAYLNG
 EVEAIVGGFGSYGYSSFSNRANSLSNMGANNANFGVYSRIFANQHEFDFEAQGALGSDQSSL
 NFKSALLQDLNQSYHYLAYSAASTRASYGYDFAFFRNLVLPKPSVGVSYNHGSTNFKSSSN
 QVALKNGSSSQHLFNAANANVEARYYYGDTSYFYMNAGVLQEFARFGSNNAASLNTFKVNT
 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)

MEIQQTHRキンRPLVSLALVGALVSITPQQSHAAFFTTVIIPAIVGGIATGAVGTVSGLLGWGL
 KQAEANKTPDKPDKVWRIQAGKGFNEFPNKEYDLYKSLLSSKIDGGWDWGNAATHYWIKG
 GQWNKLEVDMKDAVGTYKLSGLRNFTGGDLDVNMQKATLRLGQFNGNSFTSYKDSADRTT
 RVDFNAKNILIDNFLEINNRVGSGAGRKASSTVLTQASEGITSSKNAEISLYDGATLNLASNSV
 KLNGNVWMGRLQYVGAYLAPSYSTINTSKVTGEVNFNHLTVGDHNAAQAGIIASNKTIGTLD
 LWQSAGLNIIAPPEGGYKDPNNTPSQSGAKNDKQESSQNSNTQVINPPNSTQKTEVQPT
 QVIDGPFAGGKDTVNVNIDRINTKADGTIKVGGFKASLTNAAHLNIGKGGVNLSNQASGRTLLV
 ENLTGNITVDGPLRVNNQVGGYALAGSSANFEFKAGVDTKNGTATFNNNDISLGRFVNWKDA
 HTANFKGIDTNGGFNTLDFSGVTNKVNINKLITASTNVAVKNFNINELIVKTNQVSGEYTHF
 SEDIGSQSINTVRLETGTRSIFSGGVFKFSGEKLVIDEFYYSPWNYFDARNIKNVEITRKFAS
 STPENPWGTSKLMFNNLTLGQNAVMDSQFSNLTIQGDFINNQGTINYLVRGGKVATLNVGN
 AAAMMFNNNDIDSATGFYKPLIKINSAQDLIKNTEHVLKAKIIGYGNVSTGTNGISNVNLEEQFK
 ERLALYNNNNRMDTCVVRNTDDIKACGMAIGNQSMVNNPDNYKYLIGKAWKNIGISKTANGS
 KISVYYLGNSTPTENGNTTNLPTNTTNARFASYALIKNAPFAHSATPNLVAINQHDFGTIES
 VFELANRSKIDTLYANSGAQGRDLLQTLIDSHADYARTMIDATSANEITKQLNTATTLNNI
 ASLEHKTSSLQTLSSLNAMILNSRLVNLSSRRHTNNIDSFAKRLQALKDQRFALESAAEVLYQF
 APKYEKPTNVWANAIGGASLNNGGNASLYGTSAGVDAYLNGQVEAIVGGFGSYGYSSFNNQ
 ANSLNSGANNTNFGVYSRIFANQHEFDFEAQGALGSDQSSLNFKSALLRDLNQSYNLYASA
 ATRASYGYDFAFFRNALVLKPSVGVSYNHGSTNFKNSTNKVALSNGSSQHLFNASANVE
 ARYYGDTSYFYMNAGVLQEFANFGSSNAVSLNTFKVNA TRNPLNTHARVMMGGELKLAKE
 VFLNLGVVYLHNLISNIGHFASNLGMRYSF

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

F MEIQQTHRキンRPLVSLALVGALVSITPQQSHAAFFTTVIIPAIVGGIATGAAVGTVSGLLGWG
 LKQAEANKTPDKPDKVWRIQAGKGFNEFPNKEYDLYRSLLSSKIDGGWDWGNAATHYWV
 KGGQWNKLEVDMKDAVGTYNLSGLRNFTGGDLDVNMQKATLRLGQFNGNSFTSYKDSAD
 RTTRVDFNAKNILIDNFLEINNRVGSGAGRKASSTVLTQASEGITSSKNAEISLYDGATLNLA
 SNSVKLMGNVWMGRLQYVGAYLAPSYSTINTSKVTGEVNFNHLTVGDHNAAQAGIIASNKT
 HIGTLDWQSAGLNIIAPPEGGYKDPKDKPSNTTQNNANNQNSAQNSNTQVINPPNS
 AQKTEIQPTQVIDGPFAGGKDTVNVNIDRINTNADGTIKVGGYKASLTNAAHLHIGKGGINLSN
 QASGRTLLVENLTGNITVDGPLRVNNQVGGYALAGSSANFEFKAGTDTKNGTATFNNNDISLG
 RFVNLKVDATHANFKGIDTNGGFNTLDFSGVTGKVNLITASTNVAVKNFNINELVKTN
 GVSVGEYTHFSEDIGSQSINTVRLETGTRSIFSGGVFKFSGEKLVIDEFYYSPWNYFDARNI
 KNVEITRKFASSTPENPWGTSKLMFNNLTLGQNAVMDSQFSNLTIQGDFINNQGTINYLVR
 GGQVATLNVGNAAMFFSNNVDSATGFYQPLMKINSAQDLIKNKEHVLKAKIIGYGNVSLG
 TNSISNVNLIEQFKERLALYNNNNRMDICVVRNTDDIKACGTAIGNQSMVNNPDNYKYLIGKA
 WKNIGISKTANGSKISVYYLGNSTPTEKGGNTTNLPTNTSNVRSAANALAQNAPFAQPSAT
 PNLVAINQHDFGTIESVFE LANRSKIDTLYANSGAQGRDLLQTLIDSHADYARQMDNTS
 TGEITKQLNAATTLNNIASLEHKTSSLQTLSSLNAMILNSRLVNLSSRRHTNNIDSFAQRLQAL
 KDQKFASLESAAEVLYQFAPKYEKPTNVWANAIGGTSLNNGGNASLYGTSAGVDAYLNGEV
 EAIVGGFGSYGYSSFNNQANSLSNGANNTNFGVYSRIFANQHEFDFEAQGALGSDQSSLNF
 KSALLRDLNQSYNLYASAATRASYGYDFAFFRNALVLKPSVGVSYNHGSTNFKNNSNQV
 ALKGSSQHLFNASANVEARYYYGDTSYFYMNAGVLQEFANFGSSNAVSLNTFKVNAAH
 NPLSTHARVMMGGELKLAKEVFLNLGFVYLHNLISNIGHFASNLGMRYSF

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)

MEIQQTHRキンRPLVSLVLAGALISAIPQESHAAFFTTVIIPAIVGGIATGAVGTVSGLLSWGL
 KQAAEANKTPDKPDKVWRIQAGKGFNEFPNKEYDLYKSSLSSKIDGGWDWGNAARHYW
 KGGQWNKLEVDMKDAVGTYKLSGLRNFTGGDLDVNMQKATLRLGQFNGNSFTSYKDSAD
 RTTRVNFNAKNISIDNFVIEINNRVGSGAGRKASSTVLTQASEGITSSKNAEISLYDGATLN
 ASNSVKLNGNVWMGRLQYVGAYLAPSYSTINTSKVQGEVDFNHLTVGDQNAAQAGIIASNK
 THIGTLDLWQSAGLIIAPPEGGYKDKPNSTSQSGTKNDKKEISQNNNSNTEVINPPNNTQ
 KTETEPTQVIDGPFAGGKDTVNVIFHLNTKADGTIKVGGFKASLTTNAAHLNIGKGGVNSN
 QASGRTLLVENLTGNITVDGPLRVNNQVGGYALAGSSANFEFKAGVDTKNGTATFNNDISL
 GRFVNWKVDAHTANFKGIDTNGGGFTLDFSGVTDKVNINKLITASTNVAVKNFNINELIVKT
 NGISVGEYTHFSEDIGSQSINTVRLETGTRSIFSGGVFKFSGEKLVINDFYYSPWNYFDAR
 NVKNVEITRKFASSTPENPWGTSKLMFNNLTGQNAVMDYSQFSNLTIQGDFINNQGTINYL
 VRGGKVATLNVGNAAMMFNNIDSATGFYKPLIKINSAQDLIKNTEHVLLKAKIIGYGNVST
 GTNGISVNLEEQFKERLALYNNNRMTCVVRNTDDIKACGMAIGNQSMVNNPDNYKYL
 GKAWRNIGISKTANGSKISVYYLGNSTPTENGNTNLPTNTNNNAHSANYALVKNAPFAHS
 ATPNLVAINQHDFGTIESVFELANRSKIDTLYTHSGAQGRDLLQTLIDSHDAGYARQMDN
 TSTGEITKQLNAATDALNNVASLEHKQSGLQTLSSLNAMILNSRLVNLRSKHTNHINSFAQRL
 QALKGQEFALESAAEVLYQFAPKYEKPTNVWANAIGGASLNSGSNASLYGTSAGVDAFLN
 GNVIAVGGFGSYGYSSFSNQANSLSGANNANFGVYSRFFANQHEFDFEAQGALGSDQS
 SLNFKSTLLQDNLNQSYNLYASATARASYGYDFAFFRNALVLKPSVGVSYNHLGSTNFKSN
 SQSQVALKNGASSQHLFNANANVEARYYYGDTSYFYLHAGVLQEFAGSNDVASLNTFKI
 NAARSPLSTYARAMMGGELQLAKEVFLNLGVVYLHNLISASHFASNLGMRYSF

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

MEIQQTHRキンRPLVSLALVGALVSITPQQSHAAFFTTVIIPAIVGGIATGAAVGTVSGLLSWG
 LKQAAEANKTPDKPDKVWRIQAGRGFNNFPHKEYDLYKSSLSSKIDGGWDWGNAARHYW
 VKGGQWNKLEVDMKDAVGTYKLSGLINFTGGDLDVNMQKATLRLGQFNGNSFTSYKDSAD
 DRTRVDFNAKNILIDNFLEINNRVGSGAGRKASSTVLTQASEGITSSKNAEISLYDGATLN
 LASSSVKLMGNVWMGRLQYVGAYLAPSYSTINTSKVGEVNFNHLTVGDHNAAQAGIIASN
 KTHIGTLDLWQSAGLIIAPPEGGYKDKPKDKPSNTTQNNANNQNSAQNNNNNTQVINPP
 NSAQKTEIQPTQVINGPFAGGKDTVNVINRINTNADGTIRVGGYKASLTTNAAHLHIGKGGIN
 LSNQASGRSLLVENLTGNITVDGPLRVNNQVGGYALAGSNANFEFKAGTDTKNGTATFNN
 DISLGRFVNWKVDAHTANFKGIDTNGGGFTLDFSGVTDKVNINKLITASTNVAIKNFNINELL
 VKTNGVSVEYTHFSEDIGSQSINTVRLETGTRSIFSGGVFKFSGEKLVIDEFYYSPWNYF
 DARNIKNVEITRKFASSTPENPWGTSKLMFNNLTGQNAVMDYSQFSNLTIQGDFINNQGTI
 NYLVRGGKVATLNVGNAAMMFNNIDSATGFYKPLIKINSAQDLIKNTEHVLLKAKIIGYGN
 VSTGTNGISVNLEEQFKERLALYNNNRMTCVVRNTDDIKACGMAIGNQSMVNNPDNY
 KYLIGKAWKNIGISKTANGSKISVYYLGNSTPTENGNTNLPTNTNNARSANYALVKNAP
 FAHSATPNLVAINQHDFGTIESVFELANRSKIDTLYTHSGAKGRDLLQTLIDSHDAGYARQ
 MIDNTSTGEITKQLNAATTNNIASLEHKTSSLQTLSSLNAMILNSRLVNLRSKHTNNIDSFA
 KRLQALKDQRFALESAAEVLYQFAPKYEKPTNVWANAIGGASLNSGSNASLYGTSAGVD
 AYLNGQVEAVGGFGSYGYSSFSNTRANSLSGANNNTFGVYSRIFANQHEFDFEAQGALG
 SDQSSLNFKSALLQDNLNQSYNLYASAATRASYGYDFAFFKNALVLKPSVGVSYNHLGSTN
 FKSNSTNKVALSNGSSSQHLFNANANVEARYYYGDTSYFYMAGVLQEFAGSNSNAVSL
 NTFKVNAARNPLNTHARVMMGGELQLAKEVFLNLGFVYLHNLISNIGHFASNLGMRYSF

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)

MEIQQTHRキンRPLVSLALVGALVSITPQQSHAAFFTTVIIPAIVGGIASGAAVGTVGGLGWGL
 KQAAEANKTPDKPDKVWRIQAGKGFNEFPKEYDLYRSLLSSKIDGGWDWGNAATHYWWK
 GGQWNKLEVDMKDAVGTYNLGLRNFTGGDLDVNMQKATLRLQFNGNSFTSYKDSADRT
 TRVDFNAKNISIDNFLEINNRVSGGAGRKASSTVLTQASEGITSSKNAEISLYDGATLNASSS
 VKLMGNVWMGRLQYVGAYLAPSYSTINTSKVTGEVNFNHTVGDRNAAQAGIIASNKTHIGTL
 DLWQSAGLNIIAPPEGGYKDKPNNTPSQSGAKNDKNESAKNDKQESSQNNNTQVINPPNS
 AQKTEVQPTQVIDGPFAGGKDTVVNINRINTNADGTIRVGGYKASLTNAAHLHIGKGGVNL
 NQASGRTLLVENLTGNITVDGPLRVNNQVGGYALAGSSANFEFKAGTDTKNGTATFNNDISL
 GRFVNWKDAHTANFKGIDTGNNGFTLDFSGVTDKVNINKLITASTNVAKNFnINELLVKTNG
 VSVGEYTHFSEDIGSQSRINTVRLLETGTRSIIFSGGVFKFGGEKLVINDFYYAPWNYFDARNIKN
 VEITNKLAFGPQGPWGTSKLMFNNLTGQNAVMDYSQFSNLTIQGDFVNNQGTINYLVRGG
 QVATLNVGNAAMFFNNNVDSATGFYQPLMKINSAQDLIKNKEHVLKAKIIGYGNVSAGTSI
 SNVNLIQEKFKERLALYEHNNRMDICVVRNTDDIKACGTAIGNQSMVNNPDNYKYLIGKAWKNI
 GISKTANGSKISVHYLGNSTPTENSGNTTLPNTTSNARSAKNALAQNAPFAQPSATPSLVAI
 NQHDFGTIESVFELANRSKIDTLYTHSGAQGRNLLQTLIDSHADYARQMDNTSTGEIJKQL
 NAATTLLNNVASLEHKQSGLQTLSSLNAMILNSRLVNLSSRHTNNIDSFAQRLQALKDQKFAS
 LESAAEVLYQFAPKYEKPTNVWANAIGGTSLNNGGNASLYGTSAGVDAYLNGEVEAIVGGFG
 SYGYSSFSNQANSLSNGANNTNFGVYRSLFANQHEFDFAQGALGSDQSSLNFKSALLRDL
 NQSYNLYASAATRASYGYDFAFFRNALVLKPSVGVSYNHGSTNFKSNSTQVALNGSSS
 QHLFNASANVEARYYYGDTSYFYMNAGVLQEFANFGSSNAVLNTFKVNAARNPLNTHARV
 MMGGELKLAKEVFLNLGFVYLHNLIISNIGHFASNLGMRYSF

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

MEIQQTHRキンRPLVSLALVGALVSITPQQSHAAFFTTVIIPAIVGGIATGAAVGTVGGLGWGL
 KQAAEANKTPDKPDKVWRIQAGKGFNEFPKEYDLYKSLLSSKIDGGWDWGNAARHYWWK
 DGQWNKLEVDMQNAVGTYNLGLINFTGGDLDVNMQKATLRLQFNGNSFTSYKDSADRT
 TRVDFNAKNILIDNFLEINNRVSGGAGRKASSTVLTQASEGITSRENAEISLYDGATLNASN
 SVKLMGNVWMGRLQYVGAYLAPSYSTINTSKVTGEVNFNHTVGDHNAAQAGIIASNKTHIG
 TLDLWQSAGLNIIAPPEGGYKDKPNDKPSNTTQNNAKNDKQESSQNNNTQVINPPNSAQKT
 EIQTQVIDGPFAGGKNTVVNINRINTNADGTIRVGGFKASLTNAAHLHIGKGGINLSNQASG
 RSLLVENLTGNITVDGPLRVNNQVGGYALAGSSANFEFKAGTDTKNGTATFNNNDISLGRFVN
 LKVDAAHTANFKGIDTGNNGFTLDFSGVTNKVNINKLITASTNVAVKNFnINELVVKTNGVSG
 EYTHFSEDIGSQSRINTVRLLETGTRSIYSGGVFKFGGEKLVINDFYYAPWNYFDARNIKNVEIT
 NKLAFGPQGPWGTAKLMFNNLTGQNAVMDYSQFSNLTIQGDFVNNQGTINYLVRGGQVA
 TLNVGNAAMFFSNVDSATGFYQPLMKINSAQDLIKNKEHVLKAKIIGYGNVSAGTDSIANV
 NLIEQFKERLALYNNNNRMDICVVRNTDDIKACGTAIGNQSMVNNPENYKYLEGKAWKNIGIS
 KTANGSKISVHYLGNSTPTENGGNTTLPNTTNKVRFASYALIKNAPFARYSATPNLVAINQ
 HDFGTIESVFELANRSNDIDTLYANSGAQGRDLLQTLIDSHADYARTMIDATSANEITKQLN
 TATTLLNNIASLEHKTSGLQTLSSLNAMILNSRLVNLSSRHTNHIDSFAKRLQALKDQRFASLE
 SAAEVLYQFAPKYEKPTNVWANAIGGTSLSGGNASLYGTSAGVDAYLNGEVEAIVGGFGSY
 GYSSFSNQANSLSNGANNTNFGVYRSLFANQHEFDFAQGALGSDQSSLNFKSALLRDLNQ
 SYNYLAYSAAATRASYGYDFAFFRNALVLKPSVGVSYNHGSTNFKSNSNQVALNGASSQ
 HLFNASANVEARYYYGDTSYFYMNAGVLQEFANFGSSNAVLNTFKVNAARNPLNTHARV
 MGGEKLAKAEVFLNLGFVYLHNLIISNIGHFASNLGMRYSF

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)

MEIQQTTHRKINRPLVSLALVGALVSITPQQSHAAFFTVIIPAIVGGIATGAVGTVSGLLSWGLK
QAAEANKTPDKPDKVWRIQAGKGFNEFPNKEYDLYRSLLSSKIDGGWDWGNAARHYWKG
GQQNKLEVDMKDAVGTYTLSGLRNFTGGDLDVNMQKATLRLQFNGNSFTSYKDSADRTTR
VDFNAKNISDNFVEINNRVGSGAGRKASSTVLTQASEGITSVDKNAEISLYDGATLNASSS
VKLMGNVWMGRLQYVGAYLAPSYSTINTSKVTGEVNFNHLTVGDKNAAQAGIIANKKTNIGL
DLWQSAGLNIIAPPEGGYKDKNPNTPSQSGAKNDKNESAKNDKQESSQNNNTQVINPPNS
AQKTEVQPTQVIDGPFAGGKDTVVNINRINTNADGTIRVGGFKASLTNAAHHLHIGKGGVNLS
NQASGRSLIVENLTGNITVDGPLRVNNQVGGYALAGSSANFEFKAGTDKNGTATFNDISLG
RFVNLKVDAHTANFKGIDTNGGGFNTLDFSGVTDKVNINKLITASTNVAVKNFNINELIVKTNGI
SVEYTHFSEDIGSQRINTVRLETGTRSLFSGGVFKGGEKLVIDEYYSPWNYFDARNIKN
VEITNKLAFGPQGPWGTTSKLMFNNLTGQNAVMDYSQFSNLTIQGDFINNQGTINYLVRRGGK
VATLSVGNAAMMFNNIDSATGFYKPLIKINSAQDLIKNTEHVLKAKIIGYGNVSTGTNGISN
VNLEEQQFKERLALYNNNNRMDTCVVRNTDDIKACGMAIDQSMVNNPDNYKYLIGKAWKNIG
ISKTANGSKISVYYLGNSTPTENGNTNLPTNTTSNARSANNALAQNAPFAQPSATPNLVAI
NQHDFGTIESVFELANRSKDIDTLYANSGAQGRDQQTLIQLDHSFADYARKMIDATSANEITKQ
LNTATTLNNIASLEHKTSGLQTLSSLNAMILNSRLVNLSSRHTNHIDSFAKRLQALKDQKFASL
ESAAEVLYQFAPKYEKPTNVWANAIGGTSNNNGSNASLYGTSAGVDAYLNGQVEAIVGGFGS
YGYSSFNNRANSLSGANNTNFGVYSRIFANQHEFDFEAQGALGSDQSSLNFKSALLQDLNQ
SYHYLAYSAAATRASYGYDFAFFRNALVLKPSVGVSYNHLGSTNFKNSTNQVALNGSSSQH
LFNASANVEARYYYGDTSYFYMNAGVLQEFAHVGSNNAASLNTFKVNAARNPLNTHARVMM
GGEELKLAKEVFLNLGVVYLHNLISNIGHFASNLGMRYSFF

Figura 5 (continuación)

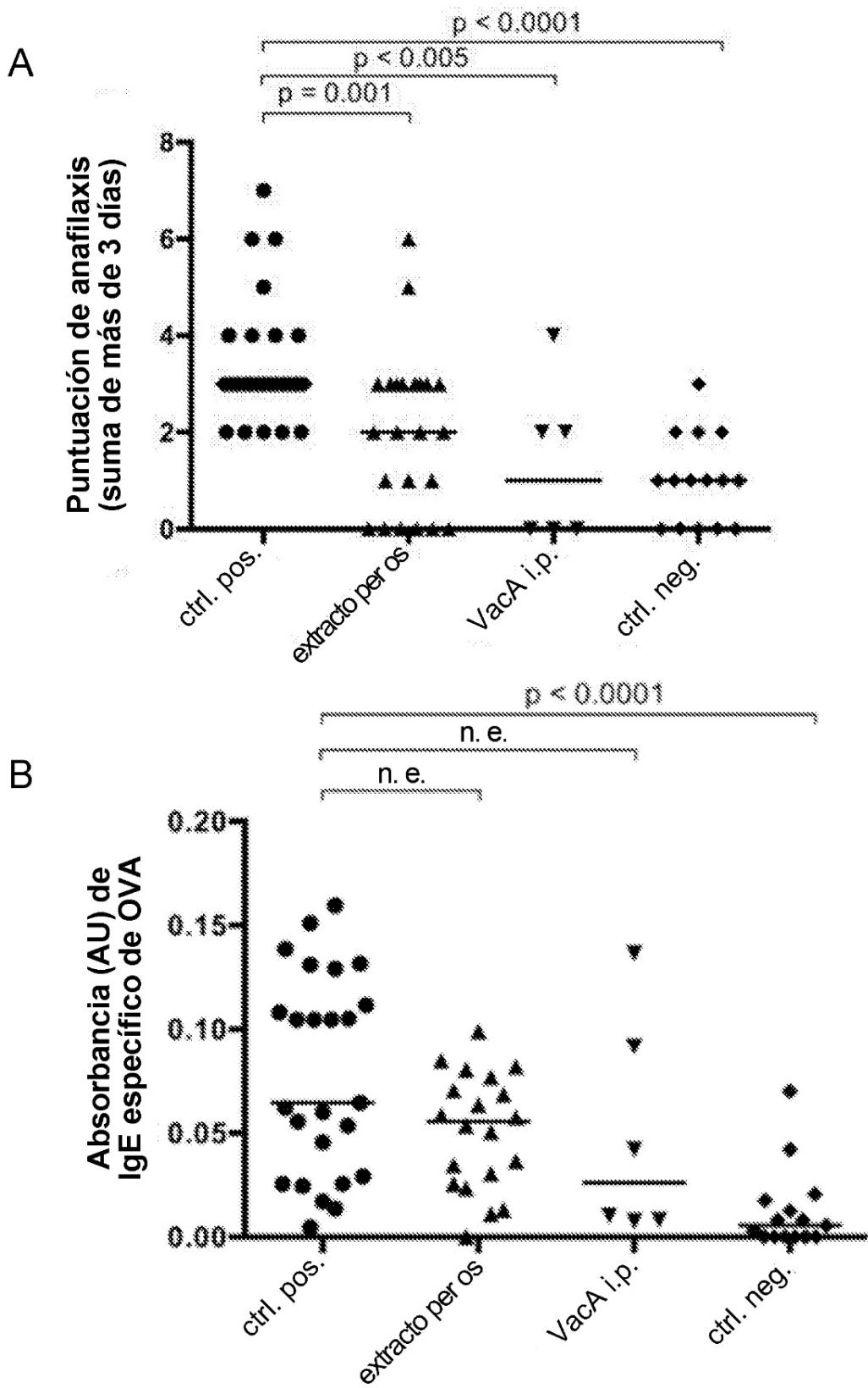


Figura 6

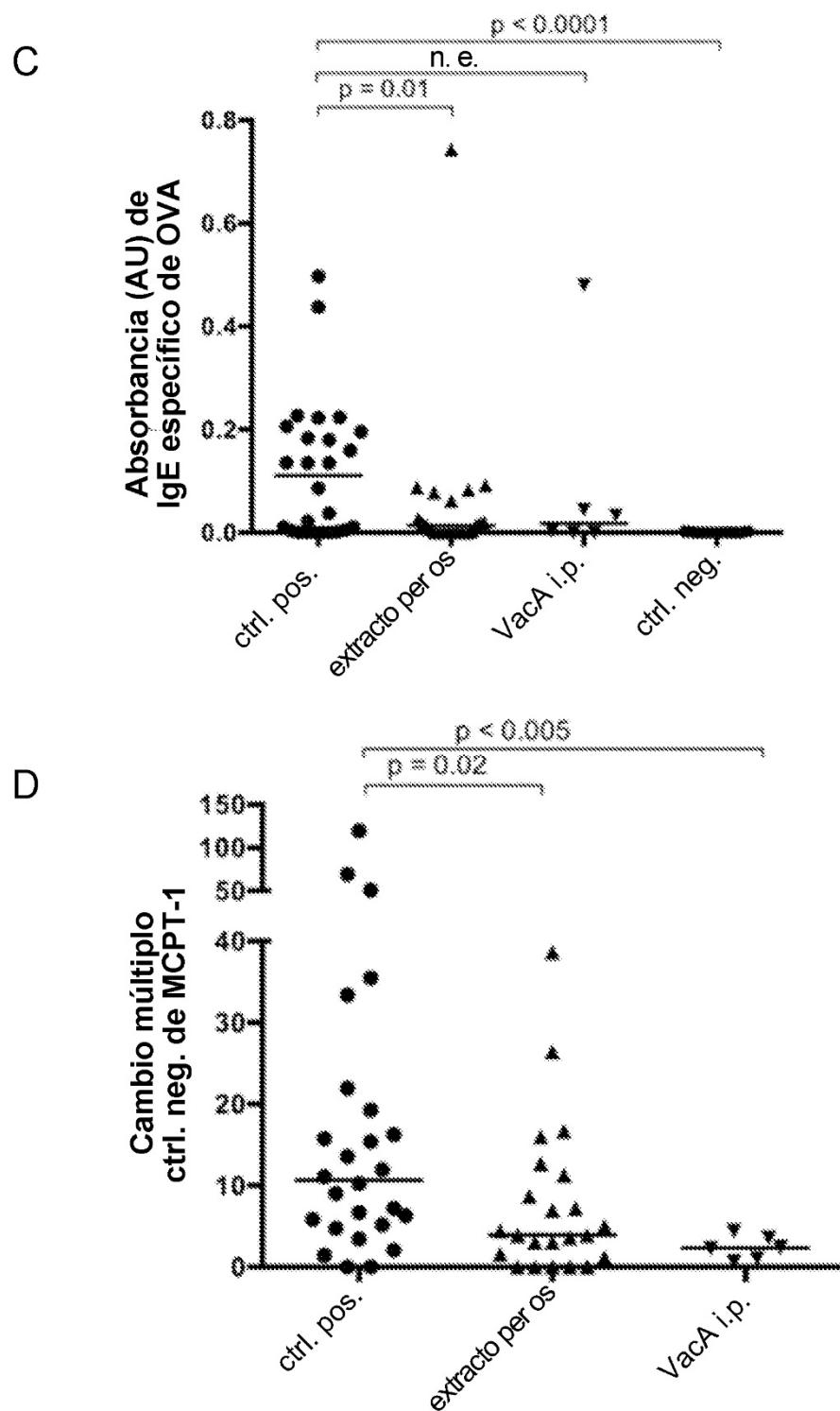


Figura 6 (continuación)

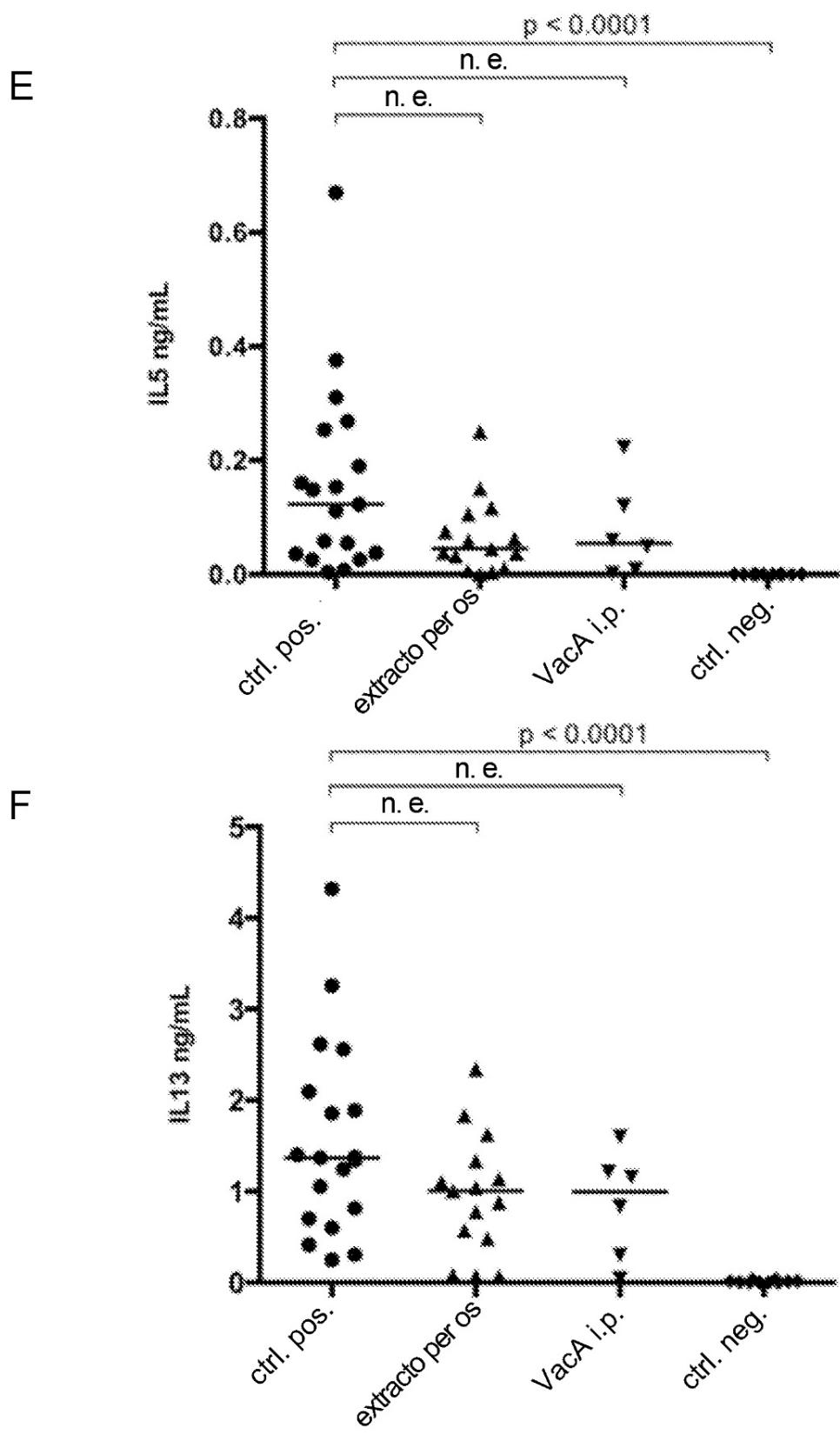


Figura 6 (continuacion)