

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **201691429** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2017.02.28

(22) Дата подачи заявки
2015.02.27

(51) Int. Cl. *A61K 39/095* (2006.01)
C07K 14/22 (2006.01)
C07K 14/095 (2006.01)

(54) МОДИФИЦИРОВАННЫЕ МЕНИНГОКОККОВЫЕ ПОЛИПЕПТИДЫ fHbp

(31) 14157399.8; 14177566.8

(32) 2014.02.28; 2014.07.17

(33) EP

(86) PCT/EP2015/054174

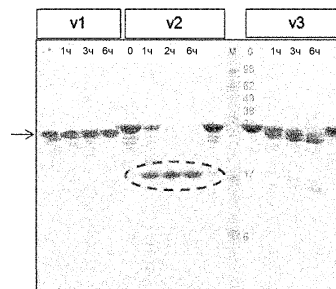
(87) WO 2015/128480 2015.09.03

(71) Заявитель:
ГЛАКСОСМИТКЛАЙН
БАЙОЛОДЖИКАЛС СА (ВЕ)

(72) Изобретатель:
Боттомлей Мэттью, Малито Энрико,
Мартинелли Мануэле, Скарселли
Мария (ИТ)

(74) Представитель:
Поликарпов А.В. (RU)

(57) Авторы изобретения идентифицировали остатки в варианте 2 и варианте 3 менингококкового fHbp, которые могут быть модифицированы для увеличения его стабильности.



201691429

A1

A1

201691429

МОДИФИЦИРОВАННЫЕ МЕНИНГОКОККОВЫЕ ПОЛИПЕПТИДЫ fHbp

В данной заявке на изобретение заявлено преимущество заявок на Европейский патент 14157399.8 (поданной 28 февраля 2014 года) и 14177566.8 (поданной 17 июля 2014 года), полные содержания которых для всех задач включены здесь путем ссылки.

ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Данное изобретение относится к области белковой инженерии, в частности к менингококковому белку, связывающему фактор Н (fHbp), который, как известно, представляет собой полезный вакцинный иммуноген.

ПРЕДШЕСТВУЮЩИЙ УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Neisseria meningitidis представляет собой грамотрицательную инкапсулированную бактерию, которая колонизирует верхние дыхательные пути у приблизительно 10% населения. Существуют конъюгированные вакцины против серогрупп А, С, W135 и Y, но единственная вакцина, которая доступна для защиты против серогруппы В в схеме с двумя дозами, представляет собой продукт BEXSERO™, одобренный в 2013 году.

Одним из защитных иммуногенов в BEXSERO™ представляет собой fHbp, который также известен как белок "741" (SEQ ID NO: 2536 в источнике 1; здесь последовательность SEQ ID NO: 1), "NMB1870", "GNA1870" [2-4], "P2086", "LP2086" или ORF2086" [5-7]. Трехмерная структура этого белка известна [8, 9], и белок имеет две β-бочки, связанные коротким линкером. Во множестве публикаций сообщается о защитной эффективности этого белка в менингококковых вакцинах, например, смотри источники 10-14. Липопротеин fHbp экспрессируется в различных штаммах во всех серогруппах. Последовательности fHbp сгруппированы в три варианта [2] (названные в настоящем описании как v1, v2 и v3), и в общем обнаружили, что сыворотка, полученная против данного варианта, является бактерицидной против штаммов, которые экспрессируют этот вариант, но не активна против штаммов, которые экспрессируют один из двух других вариантов, т.е. существует перекрестная защита в пределах варианта, но нет перекрестной защиты между

вариантами (за исключением некоторой перекрестной реактивности между v2 и v3).

Для увеличения перекрестной реактивности между семействами сконструирована последовательность fHbp, содержащая специфические черты для всех трех вариантов [15]. Белковую инженерию также использовали для удаления взаимодействия fHbp с сидерофорами [15] и с фактором H [17-25]. О нарушении взаимодействия с fH сообщали для всех трех вариантов, и предполагается получение улучшенного вакцинного иммуногена [22, 26]. Тем не менее, для полипептидов v2 в источниках 23 и 24 сообщается о неизбежной нестабильности, которая также обнаружена у мутантов с нарушенным связыванием fH. Нестабильность, по-видимому, возникает от N-концевого домена в виде β -бочки, и в источнике 23 предостерегают о том, что любые замены в этой бочке могут способствовать нестабильности.

Задача настоящего изобретения заключается в том, чтобы предложить дополнительные мутанты fHbp v2 и v3, обладающие повышенной стабильностью.

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Полноразмерный fHbp из штамма 2996 в v2 имеет следующую аминокислотную последовательность (SEQ ID NO: 2):

MNRTAFCCLSLTAALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSL
 TLDQSVRKNEKLKLAQAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSFRDFIRQIEVDGQLITL
 ESGEFQIYKQDHSVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPDGKA
 EYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAAKQGHGKIEHLKTPEQNVELAAAEKKADEKSHAV
 ILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

Зрелый липопроtein не содержит первые 19 аминокислот последовательности SEQ ID NO: 2 (подчеркнутые; образуется последовательность SEQ ID NO: 4), и форма ΔG последовательности SEQ ID NO: 2 не содержит первые 26 аминокислот (SEQ ID NO: 5).

Полноразмерный fHbp из штамма M1239 в v3 имеет следующую аминокислотную последовательность (SEQ ID NO: 3):

MNRTAFCCLSLTTALILTACSSGGGGSGGGGVAADIGTGLADALTAPLDHKD
 KGLKSLTLED SIPQNGTLTLSAQGAEKTFKAGDKDNSLNTGKLKNDKISRDFVQKIE
 VDGQTITLASGEFQIYKQNHSAVVALQIEKINNPDKTDSLINQRSFLVSGLGGEHTAF

NQLPGGKAEYHGKAFSSDDPNGRHLHYSIDFTKKQGYGRIEHLKTLEQNVELAAAEL
KADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

Зрелый липопротеин не содержит первые 19 аминокислот последовательности SEQ ID NO: 3 (подчеркнутые; образуется последовательность SEQ ID NO: 40), и форма ΔG последовательности SEQ ID NO: 3 не содержит первые 31 аминокислоты (SEQ ID NO: 17).

Авторы изобретения идентифицировали остатки в последовательностях SEQ ID NO: 2 и SEQ ID NO: 3, которые могут быть модифицированы для увеличения стабильности полипептида. Эти остатки, как правило, представлены в последовательностях v2 и v3, и, таким образом, их модификация может привести к последовательностям v2 и v3 fHbp, обладающим повышенной стабильностью. Более того, авторы изобретения продемонстрировали, что наряду с увеличением стабильности мутация этих остатков благоприятным образом может уменьшать связывание с человеческим фактором H (fH). Тем не менее, дополнительно раскрытые здесь мутации могут быть комбинированы с другими мутациями, например, для уменьшения связывания с человеческим фактором H (fH), для которого несколько мутаций уже известны в области техники.

Таким образом, в общем, в изобретении предложен мутант v2 или v3 fHbp, который обладает повышенной стабильностью по сравнению с fHbp дикого типа (например, по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 2 или 3) и который возможно обладает более низкой аффинностью в отношении человеческого фактора H по сравнению с fHbp дикого типа (например, по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 2 или 3). Увеличение стабильности и возможное уменьшение аффинности fH предпочтительно возникает в результате той(тех) же самой(ых) мутации(й), но в некоторых воплощениях они могут возникать в результате отдельных действий комбинированных мутаций. Предпочтительны мутантные белки fHbp, обладающие как повышенной стабильностью, так и сниженной аффинностью в отношении fH.

В первом воплощении изобретения предложен полипептид, содержащий мутантную аминокислотную последовательность fHbp v2, где: (а) аминокислотная последовательность имеет $k\%$ идентичность

последовательности SEQ ID NO: 5 и/или содержит фрагмент последовательности SEQ ID NO: 5; но (б) аминокислотная последовательность отличается от последовательности SEQ ID NO: 5 по одному или более чем одному из следующих остатков: S32, V33, L39, L41, F69, V100, I113, F122, L123, V124, S125, G126, L127, G128, S151, H239 и/или E240.

Когда признак (а) относится к фрагменту, тогда этот фрагмент включает по меньшей мере один из остатков, перечисленных в (б), но этот остаток отличается по сравнению с соответствующим остатком последовательности SEQ ID NO: 5. Фрагмент (а), как правило, имеет длину по меньшей мере 7 аминокислот, например 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 24, 26, 28, 40, 45, 50, 55, 60 последовательных аминокислот или больше последовательности SEQ ID NO: 5. Фрагмент, как правило, включает по меньшей мере один эпитоп последовательности SEQ ID NO: 5. Идентификация и картирование эпитопа подтверждены для fHbp [11, 27-31]. Наличие одинаковых по меньшей мере 30 последовательных аминокислот с последовательностью SEQ ID NO: 5 является типичным, и обычно мутантная аминокислотная последовательность fHbp v2 включает несколько (например 2, 3, 4, 5 или более) фрагментов последовательности SEQ ID NO: 5. В общем, мутантная аминокислотная последовательность fHbp v2 может иметь по меньшей мере $k\%$ идентичность последовательности SEQ ID NO: 5 и включать несколько фрагментов последовательности SEQ ID NO: 5.

Величина k может быть выбрана из 80, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или более. Предпочтительно, она равна 90 (т.е. мутантная аминокислотная последовательность fHbp v2 имеет по меньшей мере 90% идентичность последовательности SEQ ID NO: 5) и более предпочтительно равна 95.

Полипептид после введения животному-хозяину может вызывать образование антител, которые распознают менингококковый полипептид дикого типа, состоящий из последовательности SEQ ID NO: 4. Эти антитела в идеале являются бактерицидными (смотри ниже). Эти антитела могут включать некоторые антитела, которые не распознают полипептид v1 или v3 (например, менингококковый полипептид дикого типа, состоящий из последовательности SEQ ID NO: 46, и менингококковый полипептид дикого типа, состоящий из

последовательности SEQ ID NO: 40), хотя они также могут включать некоторые антитела, обладающие перекрестной реактивностью с полипептидами v1 и/или v3.

Заявленный полипептид в одинаковых экспериментальных условиях обладает более высокой стабильностью, чем такой же полипептид, но без отличия(ий) последовательности (б), например, более высокой стабильностью чем менингококковый полипептид дикого типа, состоящий из последовательности SEQ ID NO: 4. Повышение стабильности может быть оценено при использовании дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC), например, как обсуждается в источниках 32 и 33. DSC ранее использовали для оценки стабильности v2 fHbp [24]. При подходящих условиях для DSC для оценки стабильности могут использовать 20 мкМ полипептид в забуференном растворе (например 25 мМ Tris) с pH от 6 до 8 (например 7-7,5) с 100-200 мМ NaCl (например 150 мМ).

В некоторых воплощениях полипептид по изобретению усечен по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 5. По сравнению со зрелой последовательностью дикого типа SEQ ID NO: 5 уже усечена по N-концу и включает полиглициновую последовательность (сравнение последовательностей SEQ ID NO: 4 и 5), но последовательность SEQ ID NO: 5 может быть усечена по C-концу и/или дополнительно усечена по N-концу.

Повышение стабильности в идеале составляет по меньшей мере 5°C например по меньшей мере 10°C, 15°C, 20°C, 25°C, 30°C, 35°C или более чем на 35°C. Эти температуры относятся к увеличению срединной точки температурного перехода (T_m), оцениваемой при помощи DSC. fHbp дикого типа демонстрирует два пика DSC во время разворачивания (один для N-концевого домена и один для C-концевого домена), и когда полипептид по изобретению включает оба таких домена, тогда увеличение относится к стабильности N-концевого домена, для которого разворачивание может происходить при температуре даже ниже 40°C для последовательностей v2 дикого типа [24] (тогда как C-концевые домены могут иметь T_m 80°C или больше). Таким образом, мутантная аминокислотная последовательность fHbp v2 по изобретению предпочтительно имеет N-концевой домен с T_m по меньшей мере 45°C, например выше или равно 50°C, выше или равно 55°C, выше или

равно 60°C, выше или равно 65°C, выше или равно 70°C, выше или равно 75°C или даже выше или равно 80°C.

Во втором воплощении изобретения предложен полипептид, содержащий мутантную аминокислотную последовательность fHbp v3, где: (а) аминокислотная последовательность имеет по меньшей мере $j\%$ идентичность последовательности SEQ ID NO: 17, и/или содержит фрагмент последовательности SEQ ID NO: 17; но (б) аминокислотная последовательность отличается от последовательности SEQ ID NO: 17 по одному или более чем одному из следующих остатков: S32, I33, L39, L41, F72, V103, T116, F125, L126, V127, S128, G129, L130, G131, S154, H242 и/или E243.

Когда признак (а) относится к фрагменту, тогда фрагмент включает по меньшей мере один из остатков, перечисленных в (б), но этот остаток отличается при сравнении с соответствующим остатком в последовательности SEQ ID NO: 17. Фрагмент (а), как правило, имеет длину по меньшей мере 7 аминокислот, например 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 24, 26, 28, 40, 45, 50, 55, 60 последовательных аминокислот или более из последовательности SEQ ID NO: 17. Фрагмент как правило включает по меньшей мере один эпитоп последовательности SEQ ID NO: 17. Идентификация и картирование эпитопа подтверждены для fHbp [11; 27-31]. Наличие одинаковых по меньшей мере 30 последовательных аминокислот с последовательностью SEQ ID NO: 17 является типичным, и обычно мутантная аминокислотная последовательность fHbp v3 включает несколько (например 2, 3, 4, 5 или более чем 5) фрагментов последовательности SEQ ID NO: 17. В общем, мутантная аминокислотная последовательность fHbp v3 может иметь по меньшей мере $j\%$ идентичность последовательности SEQ ID NO: 17 и включать несколько фрагментов последовательности SEQ ID NO: 17.

Величина j может быть выбрана из 80, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или больше. Предпочтительно она равна 90 (т.е. мутантная аминокислотная последовательность fHbp v3 имеет по меньшей мере 90% идентичность последовательности SEQ ID NO: 17) и более предпочтительно равна 95.

Заявленный полипептид после введения животному-хозяину может вызывать образование антител, которые распознают менингококковый

полипептид, состоящий из последовательности SEQ ID NO: 40. Эти антитела в идеале являются бактерицидными (смотри ниже). Эти антитела могут включать некоторые антитела, которые не распознают полипептид v1 или v2 (например, менингококковый полипептид дикого типа, состоящий из последовательности SEQ ID NO: 46, и менингококковый полипептид дикого типа, состоящий из последовательности SEQ ID NO: 4), хотя они также могут включать некоторые антитела, обладающие перекрестной реактивностью с полипептидами v1 и/или v2.

Заявленный полипептид в одинаковых экспериментальных условиях обладает более высокой стабильностью, чем такой же полипептид, но не имеющий отличия(ий) последовательности (б), например, более высокой стабильностью, чем менингококковый полипептид дикого типа, состоящий из последовательности SEQ ID NO: 40. Повышение стабильности может быть оценено с использованием дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC), например, как обсуждается в источниках 32 и 33. DSC ранее использовали для оценки стабильности v3 fHbp [23]. При подходящих условиях для DSC для оценки стабильности можно использовать 20 мкМ полипептида в забуференном растворе (например 25 мМ Tris) с pH от 6 до 8 (например 7-7,5) с 100-200 мМ NaCl (например 150 мМ).

В некоторых воплощениях полипептид по изобретению усечен по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 17. По сравнению со зрелой последовательностью дикого типа последовательность SEQ ID NO: 17 уже усечена по N-концу и включает полиглициновую последовательность (сравнение последовательностей SEQ ID NO: 40 и 17), но последовательность SEQ ID NO: 17 может быть усечена по C-концу и/или дополнительно усечена по N-концу.

Увеличение стабильности в идеале составляет по меньшей мере 5°C например по меньшей мере 10°C, 15°C, 20°C, 25°C, 30°C, 35°C или больше. Эти температуры относятся к увеличению срединной точки температурного перехода (T_m), оцениваемой при помощи DSC. fHbp дикого типа демонстрирует два пика DSC во время разворачивания (один для N-концевого домена и один для C-концевого домена) и, когда полипептид по изобретению включает оба таких домена, тогда увеличение относится к стабильности N-концевого домена,

для которого развертывание может происходить при температуре приблизительно 60°C или меньше для последовательностей v3 дикого типа [24] (тогда как С-концевые домены могут иметь Tm 80°C или больше). Таким образом, мутантная аминокислотная последовательность fHbp v3 по изобретению предпочтительно имеет N-концевой домен с Tm по меньшей мере 65°C, например выше или равно 70°C, выше или равно 75°C или даже выше или равно 80°C.

Мутации по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 5

Полипептиды в соответствии с первым воплощением изобретения содержат аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере *k*% идентичность последовательности SEQ ID NO: 5, и/или содержит фрагмент последовательности SEQ ID NO: 5. Тем не менее, по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 5 эта аминокислотная последовательность имеет модификацию по одному или более аминокислотных остатков S32, V33, L39, L41, F69, V100, I113, F122, L123, V124, S125, G126, L127, G128, S151, H239 и/или E240, например, по 2, 3, 4, 5 или более из этих 17 остатков. Эти остатки пронумерованы в соответствии с последовательностью SEQ ID NO: 5; для того, чтобы соответствовать последовательности дикого типа (SEQ ID NO: 2) на стадии роста цепи, нумерация должна изменяться на +26 (т.е. Ser-32 последовательности SEQ ID NO: 5 представляет собой Ser-58 последовательности SEQ ID NO: 2), и для того, чтобы соответствовать зрелой последовательности дикого типа (SEQ ID NO: 4), нумерация должна изменяться на +7 (что также обеспечит легкое сравнение с источником 25, на который ссылаются).

Предпочтительные для мутации остатки представляют собой S32, V100, L123, V124, S125, G126, L127, G128, H239 и/или E240. Мутации по этим остаткам позволяют получать белки, обладающие хорошей стабильностью по сравнению с v2 дикого типа. В пределах данного подмножества предпочтительные остатки представляют собой S32, L123, V124, S125, G126, L127 и/или G128. Наиболее предпочтительные позиции представляют собой S32, L123, V124, S125, G126, L127 и/или G128, где остатки S32 и/или L123 являются особенно предпочтительными, например S32V и/или L123R. Когда один или более чем один из V100, S125 и/или G126 подвергнулся мутации, тогда

предпочтительно, чтобы остаток за пределами этого трио тоже подвергнулся бы мутации.

Конкретный остаток может подвергаться делеции, но предпочтительно заменен на отличающуюся аминокислоту. Например, Ser-32 может быть заменен на любую из других 19 встречающихся в природе аминокислот. При осуществлении замены заменяющая аминокислота в некоторых воплощениях может представлять собой простую аминокислоту, такую как глицин или аланин. В других воплощениях заменяющая аминокислота представляет собой консервативную замену, например, она осуществляется в пределах следующих четырех групп: (1) кислотные, т.е. аспартат, глутамат; (2) основные, т.е. лизин, аргинин, гистидин; (3) неполярные, т.е. аланин, валин, лейцин, изолейцин, пролин, фенилаланин, метионин, триптофан; и (4) незаряженные полярные, т.е. глицин, аспарагин, глутамин, цистеин, серин, треонин, тирозин. В других воплощениях замена является не консервативной. В некоторых воплощениях в замене не используется аланин.

Предпочтительные замены по конкретным остаткам представляют собой следующие: S32V; V33C; L39C; L41C; F69C; V100T; I113S; F122C; L123R; V124I; S125G или S125T; G126D; L127I; G128A; S151C; H239R; E240H.

Когда мутантная аминокислотная последовательность fHbr v2 включает замену по E240, тогда эта замена не представляет собой замену на аланин, если только E240 подвергается мутации, хотя замена может быть на аланин, если замене подвергается еще одна аминокислота, перечисленная в (б), например, если оба остатка E240 и H239 подвергаются мутации. В идеале не только E240 подвергается мутации, и, таким образом, мутантная аминокислотная последовательность fHbr v2 с заменой по E240 также должна включать замену по второму остатку, например, по E240 и H239 (смотри мутанты #1 и #11).

Когда мутантная аминокислотная последовательность fHbr v2 включает замену по F122, тогда эта замена не представляет собой замену на аланин, если только F122 подвергается мутации, хотя замена может быть на аланин, если замене подвергается еще одна аминокислота, перечисленная в (б), например, если оба остатка F122 и S151 подвергаются мутации. В идеале не только F122 подвергается мутации, и, таким образом, мутантная

аминокислотная последовательность fHbp v2 с заменой по F122 также должна включать замену по второму остатку. Когда F122 подвергается замене, тогда предпочтительно, чтобы S151 также подвергался замене, например, оба подвергаются замене на цистеин, для того, чтобы обеспечить образование дисульфидной мостиковой связи (смотри мутант #10).

Когда мутантная аминокислотная последовательность fHbp v2 включает замену по L123, тогда эта замена не представляет собой замену на аланин, если только L123 подвергается мутации, хотя замена может быть на аланин, если замене подвергается еще одна аминокислота, перечисленная в (б), например, если оба остатка L123 и S32 подвергаются мутации. Если мутации подвергается исключительно L123, тогда замена на аргинин является предпочтительной (например, смотри мутант #4). Тем не менее, в некоторых воплощениях не только L123 подвергается мутации, и, таким образом, мутантная аминокислотная последовательность fHbp v2 с заменой по L123 может также включать замену по второму остатку. Когда L123 подвергается замене, тогда может быть предпочтительно, чтобы: (1) S32 также подвергался замене, как видно в мутанте #3, и возможно S125 также подвергался замене, как видно в мутантах #20 и #22; или (2) один или более чем один из остатков 124-128 также подвергался(лись) замене, например, как видно в мутанте #12.

Когда мутантная аминокислотная последовательность fHbp v2 включает замену по V124, тогда предпочтительно, чтобы эта замена не представляла собой замену на аланин, если только V124 подвергается мутации, хотя замена может быть на аланин, если замене подвергается еще одна аминокислота, перечисленная в (б), например, если один или более чем один из остатков 123-128 также подвергался(лись) мутации. Если мутации подвергается исключительно V124, тогда замена на изолейцин является предпочтительной. В идеале, однако, не только V124 подвергается мутации, и, таким образом, мутантная аминокислотная последовательность fHbp v2 с заменой по V124 может также включать замену по второму остатку. Когда V124 подвергается замене, тогда может быть предпочтительно, чтобы один или более чем один из остатков 124-128 также подвергался(лись) замене, например, как видно в мутанте #12.

Когда мутантная аминокислотная последовательность fHbp v2 включает замену по L127, то предпочтительно, чтобы эта замена не представляла бы собой замену на аланин, если мутации подвергается исключительно L127, хотя замена может быть на аланин, если замене подвергается еще одна аминокислота, перечисленная в (б), например, если один или более чем один из остатков 123-128 также подвергся(лись) мутации. Если мутации подвергся исключительно L127, тогда предпочтительна замена на изолейцин. Тем не менее, в идеале не только L127 подвергается мутации, и, таким образом, мутантная аминокислотная последовательность fHbp v2 с заменой по L127 должна также включать замену по второму остатку. Когда L127 подвергается замене, тогда предпочтительно, чтобы один или более чем один из остатков 124-128 также подвергался(лись) замене, например, как видно в мутанте #12.

Когда мутантная аминокислотная последовательность fHbp v2 включает замену по S32, тогда предпочтительно, чтобы эта замена не представляла бы собой замену на аланин, если мутации подвергается исключительно S32, хотя замена может быть на аланин, если замене подвергается еще одна аминокислота, перечисленная в (б), например, если мутации подвергаются оба остатка L123 и S32. Если мутации подвергается исключительно S32, то предпочтительна замена на валин. Тем не менее, в идеале не только S32 подвергается мутации, и, таким образом, мутантная аминокислотная последовательность fHbp v2 с заменой по S32 также должна включать замену по второму остатку. Когда S32 подвергается замене, тогда предпочтительно, чтобы (1) L123 также подвергался замене, например, как видно в мутанте #3, и возможно S125 также подвергался замене, как видно в мутантах #20 и #22; или (2) S125 также подвергался замене, например, как видно в мутантах #19 и #21.

Когда мутантная аминокислотная последовательность fHbp v2 включает замену по I113, тогда эта замена не представляла бы собой замену на аланин, если мутации подвергается исключительно I113, хотя замена может быть на аланин, если замене подвергается еще одна аминокислота, перечисленная в (б). Если мутации подвергается исключительно I113, то предпочтительна замена на серин, например, как видно в мутанте #7.

Когда мутантная аминокислотная последовательность fHbp v2 включает замену по V33, то она предпочтительно не представляет собой замену на

изолейцин. Когда мутантная аминокислотная последовательность fHbr v2 включает замену по I113, тогда она предпочтительно не представляет собой замену на треонин или на аланин. Когда мутантная аминокислотная последовательность fHbr v2 включает замену по S151, тогда она предпочтительно не представляет собой замену на фенилаланин. Когда мутантная аминокислотная последовательность fHbr v2 включает замену по H239 и E240, тогда она предпочтительно не представляет собой замену на R239 и Q240.

Когда осуществляют более чем одну замену, тогда они могут быть выбраны из групп 2А - 2О в соответствии со следующим:

- 2А: остатки 239 и 240, например мутант #1.
- 2Б: остатки 32 и 123, например мутант #3.
- 2В: остатки 125 и 126, например мутант #5.
- 2Г: остатки 100, 125 и 126, например мутант #6.
- 2Д: остатки 33 и 39, например мутант #8.
- 2Е: остатки 41 и 69, например мутант #9.
- 2Ж: остатки 122 и 151, например мутант #10.
- 2З: остатки 100, 125, 126, 239 и 240, например мутант #11.
- 2И: остатки 32 и 125, например мутанты #19 и #21.
- 2К: остатки 32, 123 и 125, например мутанты #20 и #22.
- 2Л: остатки 33 и 39, оба заменены на Cys, например мутант #8.
- 2М: остатки 41 и 69, оба заменены на Cys, например мутант #9.
- 2Н: остатки 122 и 151, оба заменены на Cys, например мутант #10.
- 2О: остатки 123, 124, 125, 126, 127 и 128, например мутант #12.
- 2П: остатки 32, 123, 124, 125, 126, 127 и 128.

Таким образом, например, если должен быть заменен остаток 239, то предпочтительный второй остаток для замены представляет собой 240 (т.е. группа 2А); кроме того, остатки 100, 125 и 126 также могут быть модифицированы (т.е. группа 2З, которая представляет собой комбинацию групп 2А и 2Г). В группах 2А – 2О и 2П предпочтительные замены в указанных позициях представляют собой замены, перечисленные выше. Для групп 2Л, 2М и 2Н в изобретение должна быть введена дисульфидная мостиковая связь. В пределах групп 2А-2О предпочтительные мутанты представляют собой 2А, 2Б,

2В, 2Г, 2И, 2К и 2О. Более предпочтительными являются 2В, 2И и 2О, причем 2О является особенно предпочтительной. В группе 2Б предложены наиболее предпочтительные мутации, и в частности S32V и L123R (например, последовательности SEQ ID NO: 20 и 45). Группа 2П представляет собой еще один предпочтительный набор мутаций, которые комбинируют 2Б, 2В и три другие мутации (например, для получения последовательности SEQ ID NO: 58).

Аминокислотные остатки, указанные для мутации в последовательности v2, нумеруются в соответствии с последовательностью SEQ ID NO: 5, полученной из штамма 2996. Соответствующие аминокислотные остатки в v2 fHbr из любого другого штамма, могут быть легко идентифицированы при помощи выравнивания последовательностей, например, представлять собой аминокислоту, которая при выравнивании с последовательностью SEQ ID NO: 5 с использованием алгоритма попарного выравнивания (например, алгоритма глобального выравнивания Нидлемана-Вунша, подробно описанного ниже), оказывается выровненной с упомянутой здесь аминокислотой. Часто аминокислота является той же самой, как видно в последовательности SEQ ID NO: 5 (например, остаток 32 представляет собой серин), но выравнивание легче осуществлять в ином случае.

Помимо мутации(й), указанных выше, которые служат для повышения стабильности, полипептид по изобретению может включать одну или более чем одну дополнительную мутацию, например, для нарушения взаимодействия полипептида с сидерофорами или, более предпочтительно, для нарушения способности полипептида связываться с fH.

В источниках 19 и 25 сообщается о том, что взаимодействие между fH и v2 fHbr может быть нарушено при помощи мутаций по остаткам R80, D211, E218, E248, T220+H222 (двойная мутация) и G236. Будучи пронумерованными в соответствии с последовательностью SEQ ID NO: 5, эти остатки представляют собой R73, D203, E210, E240, T213+H215 и G228. Из этих позиций предпочтительны полипептиды, подвергшиеся мутации по D203, E210 или T213+H215, поскольку в источнике 25 не сообщается о повреждении важных эпитопов у этих мутантов. Специфические замены, исследованные в источнике 25, представляли собой R73A, D203A, E210A, T213A+H215A, G228I и E240A; эти замены подходят для применения в соответствии с изобретением.

В источнике 24 сообщается о том, что взаимодействие между fH и v2 fHbp может быть нарушено посредством мутаций по остаткам R145, S193, F194, L195, A265, E267, K268, V272, I273, L274, E283, T286, H288, F292, T304 и E313, и E283+T304 (двойная мутация). Будучи пронумерованными в соответствии с последовательностью SEQ ID NO: 5, эти остатки представляют собой R73, S121, F122, L123, A192, E194, K195, V199, I200, L201, E210, T213, H215, F219, T231 и E240, и E210+T231. Четыре из них перекрываются с источником 25 (E210, T213, H215, E240). Специфические замены, исследованные в источнике 24, использовали аланин (за исключением A265P и T304E), и эти замены подходят для применения в соответствии с изобретением.

В источнике 24 сообщается о том, что некоторые замены в v2 могут повышать аффинность к fH, что необходимо избегать в том случае, если предполагается нарушить связывание с fH, например, E85 в последовательности SEQ ID NO: 5 (остаток 157 в источнике 24).

Остатки, которые взаимодействуют с сидерофорами, могут подвергаться мутации с использованием руководства, приведенного в источниках 16 и 34, например, путем выравнивания последовательности SEQ ID NO: 5 с последовательностью SEQ ID NO: 4 из источника 16 для идентификации остатков, которые могут взаимодействовать с сидерофорами, например, с катехолатами, гидроксаматами или карбоксилатами.

Другие остатки, которые могут подвергаться мутации, включают S23, L24, D30, Q31, R34, D95 и/или L102, но не ограничиваются ими, например, с использованием мутаций, предложенных в источнике 27.

Полипептид в соответствии с первым воплощением может содержать любую из последовательностей SEQ ID NO: 18-36. Аналогично, принимая во внимание мутацию 'ΔG' (т.е. усечение N-конца на стадии роста цепи и включение нативной последовательности поли-Gly), полипептид в соответствии с первым воплощением может содержать любую из последовательностей SEQ ID NO: 18-36, за исключением аминокислот 1-26 в ней. Например, полипептид в соответствии с первым воплощением может содержать последовательность SEQ ID NO: 45 или может содержать последовательность SEQ ID NO: 58.

Рассматривая возможность дополнительных точечных мутаций (например, для нарушения взаимодействий с сидерофорами и/или fH),

полипептид в соответствии с первым воплощением может содержать любую из последовательностей SEQ ID NO: 18-36 (или любую из последовательностей SEQ ID NO: 18-36 за исключением их аминокислот 1-26, такую как последовательность SEQ ID NO: 45), но быть модифицирован путем единичных изменений аминокислот в количестве до 5 (т.е. 1, 2, 3, 4 или 5 единичных аминокислотных замен, делеций и/или вставок), при условии, что модифицированная последовательность может после введения животному-хозяину вызывать образование антител, которые связываются с менингококковым полипептидом fHbp, состоящим из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 46. Такие изменения аминокислот не должны изменять мутации в этих последовательностях на противоположные относительно последовательности дикого типа, например, последовательность SEQ ID NO: 45 не должна подвергаться мутации по остатку V32 или R123.

В изобретении также предложен полипептид, содержащий аминокислотную последовательность fHbp v2, где аминокислотная последовательность v2 идентична аминокислотной последовательности v2 дикого типа за исключением мутации по аминокислотной позиции, соответствующей Leu-123 в последовательности SEQ ID NO: 5, при условии, что мутация не представляет собой замену на аланин (например, когда мутация представляет собой замену на аргинин). Например, полипептид может содержать последовательность SEQ ID NO: 5, но с мутацией (отличающейся от L123A) по L123.

Последовательности SEQ ID NO: 59 и 60 представляют собой два дополнительных примера мутантов v2, а именно, зрелую форму мутантов #3 и #4 для штамма 8047.

Мутации по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 17

Полипептиды в соответствии со вторым воплощением изобретения содержат аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере *j*% идентичность последовательности SEQ ID NO: 17, и/или содержат фрагмент последовательности SEQ ID NO: 17. Тем не менее, по сравнению с последовательностью SEQ ID NO: 17, эта аминокислотная последовательность имеет модификацию по одному или более чем одному из аминокислотных остатков S32, I33, L39, L41, F72, V103, T116, F125, L126, V127, S128, G129,

L130, G131, S154, H242 и/или E243, например, по 2, 3, 4, 5 или более из 17 остатков. Эти остатки пронумерованы в соответствии с последовательностью SEQ ID NO: 17; для того, чтобы соответствовать последовательности дикого типа (SEQ ID NO: 3) на стадии роста цепи, нумерацию следует изменять на +31 (т.е. Ser-32 в последовательности SEQ ID NO: 17 представляет собой Ser-63 в последовательности SEQ ID NO: 3), и для того, чтобы соответствовать зрелой последовательности дикого типа (SEQ ID NO: 40), нумерация должна изменяться на +12.

Предпочтительные остатки для мутации представляют собой S32, V103, L126, V127, S128, G129, L130, G131, H242 и/или E243. В этой подгруппе предпочтительные остатки представляют собой S32, L126, V127, S128, G129, L130 и/или G131. Наиболее предпочтительные позиции представляют собой S32, L126, V127, S128, G129, L130 и/или G131, где остатки S32 и/или L126 являются особенно предпочтительными, например S32V и/или L126R.

Конкретный остаток может подвергаться делеции, но предпочтительно заменен на отличающуюся аминокислоту. Например, Ser-32 может быть заменен на любую из других 19 встречающихся в природе аминокислот. При осуществлении замены заменяющая аминокислота в некоторых воплощениях может представлять собой простую аминокислоту, такую как глицин или аланин. В других воплощениях заменяющая аминокислота представляет собой консервативную замену, например, она осуществляется в пределах следующих четырех групп: (1) кислотные, т.е. аспартат, глутамат; (2) основные, т.е. лизин, аргинин, гистидин; (3) неполярные, т.е. аланин, валин, лейцин, изолейцин, пролин, фенилаланин, метионин, триптофан; и (4) незаряженные полярные, т.е. глицин, аспарагин, глутамин, цистеин, серин, треонин, тирозин. В других воплощениях замена является не консервативной. В некоторых воплощениях в замене не используется аланин.

Предпочтительные замены по конкретным остаткам представляют собой следующие: S32V; I33C; L39C; L41C; F72C; V103T; T116S; F125C; L126R; V127I; S128G или S128T; G129D; L130I; G131A; S154C; H242R; E243H.

Когда мутантная аминокислотная последовательность fHbp v3 включает замену по E243, тогда эта замена не представляет собой замену на аланин, если только E243 подвергается мутации, хотя замена может быть на аланин,

если замене подвергается еще одна аминокислота, перечисленная в (б), например, если оба остатка E243 и H242 подвергаются мутации. В идеале не только E243 подвергается мутации, и, таким образом, мутантная аминокислотная последовательность fHbp v3 с заменой по E243 также должна включать замену по второму остатку, например, по обоим E243 и H242.

Когда мутантная аминокислотная последовательность fHbp v3 включает замену по F125, тогда эта замена не представляет собой замену на аланин, если только F125 подвергается мутации, хотя замена может быть на аланин, если замене подвергается еще одна аминокислота, перечисленная в (б), например, если оба остатка F125 и S154 подвергаются мутации. В идеале не только F125 подвергается мутации, и, таким образом, мутантная аминокислотная последовательность fHbp v3 с заменой по F125 также должна включать замену по второму остатку. Когда F125 подвергается замене, тогда предпочтительно, чтобы S154 также подвергался замене, например, оба подвергаются замене на цистеин, для того, чтобы дать возможность для образования дисульфидной мостиковой связи.

Когда мутантная аминокислотная последовательность fHbp v3 включает замену по L126, тогда эта замена не представляет собой замену на аланин, если только L126 подвергается мутации, хотя замена может быть на аланин, если замене подвергается еще одна аминокислота, перечисленная в (б), например, если оба остатка L126 и S32 подвергаются мутации. Если мутации подвергается исключительно L126, тогда замена на аргинин является предпочтительной. Тем не менее, в некоторых воплощениях не только L126 подвергается мутации, и, таким образом, мутантная аминокислотная последовательность fHbp v3 с заменой по L126 может также включать замену по второму остатку. Когда L126 подвергается замене, тогда может быть предпочтительно, чтобы: (1) S32 также подвергался замене, и возможно S128 также подвергался замене; или (2) один или более чем один из остатков 127-131 также подвергался(лись) замене.

Когда мутантная аминокислотная последовательность fHbp v3 включает замену по V127, тогда предпочтительно, чтобы эта замена не представляла собой замену на аланин, если только V127 подвергается мутации, хотя замена может быть на аланин, если замене подвергается еще одна аминокислота,

перечисленная в (б), например, если один или более чем один из остатков 126-131 также подвергается мутации. Если мутации подвергается исключительно V127, тогда замена на изолейцин является предпочтительной. Тем не менее, в идеале не только V127 подвергается мутации, и, таким образом, мутантная аминокислотная последовательность fHbp v3 с заменой по V127 также должна включать замену по второму остатку. Когда V127 подвергается замене, тогда предпочтительно, чтобы один или более чем один из остатков 127-131 также подвергался(лись) замене.

Когда мутантная аминокислотная последовательность fHbp v3 включает замену по L130, то предпочтительно, чтобы эта замена не представляла собой замену на аланин, если мутации подвергается исключительно L130, хотя замена может быть на аланин, если замене подвергается еще одна аминокислота, перечисленная в (б), например, если один или более чем один из остатков 126-131 также подвергся(лись) мутации. Если мутации подвергся исключительно L130, тогда предпочтительна замена на изолейцин. Тем не менее, в идеале не только L130 подвергается мутации, и, таким образом, мутантная аминокислотная последовательность fHbp v3 с заменой по L130 должна также включать замену по второму остатку. Когда L130 подвергается замене, тогда предпочтительно, чтобы один или более чем один из остатков 127-131 также подвергался(лись) замене.

Когда мутантная аминокислотная последовательность fHbp v3 включает замену по S32, тогда предпочтительно, чтобы эта замена не представляла собой замену на аланин, если мутации подвергается исключительно S32, хотя замена может быть на аланин, если замене подвергается еще одна аминокислота, перечисленная в (б), например, если мутации подвергаются оба остатка L126 и S32. Если мутации подвергается исключительно S32, то предпочтительна замена на валин. Тем не менее, в идеале не только S32 подвергается мутации, и, таким образом, мутантная аминокислотная последовательность fHbp v3 с заменой по S32 должна также включать замену по второму остатку. Когда S32 подвергается замене, тогда предпочтительно, чтобы (1) L126 также подвергался замене, и возможно S128 также подвергался замене; или (2) S128 также подвергался замене.

Когда мутантная аминокислотная последовательность fHbp v3 включает замену по T113, тогда эта замена не представляет собой замену на аланин, если мутации подвергается исключительно T113, хотя замена может быть на аланин, если замене подвергается еще одна аминокислота, перечисленная в (б). Если мутации подвергается исключительно T113, то предпочтительна замена на серин.

Когда мутантная аминокислотная последовательность fHbp v3 включает замену по I33, то она предпочтительно не представляет собой замену на валин. Когда мутантная аминокислотная последовательность fHbp v3 включает замену по T116, то она предпочтительно не представляет собой замену на изолейцин. Когда мутантная аминокислотная последовательность fHbp v3 включает замену по G129, то она предпочтительно не представляет собой замену на серин. Когда мутантная аминокислотная последовательность fHbp v3 включает замену по H242 и E243, тогда она предпочтительно не представляет собой замену на R242 и Q243.

Когда осуществляют более чем одну замену, тогда они могут быть выбраны из групп 3А - 3О в соответствии со следующим:

- 3А: остатки 242 и 243.
- 3Б: остатки 32 и 126.
- 3В: остатки 128 и 129.
- 3Г: остатки 103, 128 и 129.
- 3Д: остатки 33 и 39.
- 3Е: остатки 41 и 72.
- 3Ж: остатки 125 и 154.
- 3З: остатки 103, 128, 129, 242 и 243.
- 3И: остатки 32 и 128.
- 3К: остатки 32, 126 и 128.
- 3Л: остатки 33 и 39, оба заменены на Cys.
- 3М: остатки 41 и 72, оба заменены на Cys.
- 3Н: остатки 125 и 154, оба заменены на Cys.
- 3О: остатки 126, 127, 128, 129, 130 и 131.
- 3П: остатки 32, 126, 127, 128, 129, 130 и 131.

Таким образом, например, если должен быть заменен остаток 242, то предпочтительный второй остаток для замены представляет собой 243 (т.е. группа 3А); кроме того, остатки 103, 128 и 129 также могут быть модифицированы (т.е. группа 3З, которая представляет собой комбинацию групп 3А и 3Г). В группах 3А - 3О и 3П предпочтительные замены в указанных позициях представляют собой замены, перечисленные выше. Для групп 3Л, 3М и 3Н в изобретение должна быть введена дисульфидная мостиковая связь. В пределах групп 3А-3О предпочтительные мутанты представляют собой 3А, 3Б, 3В, 3Г, 3И, 3К и 3О. Более предпочтительными являются 3В, 3И и 3О, причем 3О является особенно предпочтительной. В группе 3Б предложены наиболее предпочтительные мутации, и, в частности, S32V и L126R (например, содержащая последовательность SEQ ID NO: 44). Группа 3П представляет собой еще один предпочтительный набор мутаций, которые комбинируют 3Б, 3В и три другие мутации (например, для получения последовательности SEQ ID NO: 61). Мутация L126R также обеспечивает получение последовательности SEQ ID NO: 53.

Аминокислотные остатки, указанные для мутации в последовательности v3, нумеруются в соответствии с последовательностью SEQ ID NO: 17, полученной из штамма M1239. Соответствующие аминокислотные остатки в v3 fHbr из любого другого штамма могут быть легко идентифицированы посредством выравнивания последовательностей, например, представлять собой аминокислоту, которая при выравнивании с последовательностью SEQ ID NO: 17 с использованием алгоритма попарного выравнивания (например, алгоритма глобального выравнивания Нидлемана-Вунша, подробно описанного ниже), оказывается выровненной с упомянутой здесь аминокислотой. Часто аминокислота является той же самой, как видно в последовательности SEQ ID NO: 17 (например, остаток 32 представляет собой серин), но выравнивание легче осуществлять не в этом случае.

Помимо мутации(й), указанных выше, которые служат для повышения стабильности, полипептид по изобретению может включать одну или более чем одну дополнительную мутацию, например, для нарушения взаимодействия полипептида с сидерофорами или, более предпочтительно, для нарушения способности полипептида связываться с fH.

В источнике 24 сообщается о том, что взаимодействие между fH и v3 fHbp может быть нарушено посредством мутаций по остаткам Q107, I147, L156, A157, L195, V196, V272, E283, T286, T304, V311, E313 и E283+T304 (двойная мутация). Будучи пронумерованными в соответствии с последовательностью SEQ ID NO: 17, эти остатки представляют собой Q35, I78, L87, A88, L126, V127, V202, E213, T216, T234, V241, E243 и E213+T234. В специфических заменах, исследованных в источнике 24, использовали аланин (за исключением A157E и T231E), и эти замены подходят для применения в соответствии с изобретением. Об остатках T216 и E243 также сообщали в источнике 23. В источнике 27 сообщается о том, что взаимодействие между fH и v3 fHbp может быть нарушено путем мутаций по остаткам H288 и G318 (нумерация H218 и G248 в соответствии с последовательностью SEQ ID NO: 17), и эти замены подходят для применения в соответствии с изобретением, например, H218R, G248D.

В источнике 24 сообщается о том, что некоторые замены в v3 могут повышать аффинность к fH, и последнего необходимо избегать в том случае, если предполагается нарушить связывание с fH, например, P44 в последовательности SEQ ID NO: 17 (остаток 106 в источнике 24).

Остатки, которые взаимодействуют с сидерофорами, могут подвергаться мутации с использованием руководства, приведенного в источниках 16 и 34, например, путем выравнивания последовательности SEQ ID NO: 17 с последовательностью SEQ ID NO: 4 из источника 16 для идентификации остатков, которые могут взаимодействовать с сидерофорами, например, с катехолатами, гидроксаматами или карбоксилатами.

Полипептид в соответствии со вторым воплощением может содержать любую из последовательностей SEQ ID NO: 41-44. Рассматривая возможность дополнительных точечных мутаций (например, для нарушения взаимодействий с сидерофорами и/или fH), полипептид в соответствии с первым воплощением может содержать любую из последовательностей SEQ ID NO: 41-44, но быть модифицирован путем единичных изменений аминокислот в количестве до 5 (т.е. 1, 2, 3, 4 или 5 единичных аминокислотных замен, делеций и/или вставок), при условии, что модифицированная последовательность может после введения животному-хозяину вызывать образование антител, которые

связываются с менингококковым полипептидом fHbp, состоящим из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 40. Такие изменения аминокислот не должны изменять мутации в этих последовательностях на противоположные относительно последовательности дикого типа, например, последовательность SEQ ID NO: 44 не должна подвергаться мутации по остатку V32 или R126.

В изобретении также предложен полипептид, содержащий аминокислотную последовательность fHbp v3, где аминокислотная последовательность v3 идентична аминокислотной последовательности v3 дикого типа за исключением мутации по аминокислотной позиции, соответствующей Leu-126 в последовательности SEQ ID NO: 17, при условии, что мутация не представляет собой замену на аланин (например, когда мутация представляет собой замену на аргинин). Например, полипептид может содержать последовательность SEQ ID NO: 17, но с мутацией (отличающейся от L126A) по L126.

Полипептиды

Полипептиды по изобретению могут быть получены различными способами, например, путем химического синтеза (по меньшей мере частично), путем расщепления более длинных полипептидов с использованием протеаз, путем трансляции с РНК, путем очистки из культуры клеток (например, из культуры рекомбинантных экспрессирующих клеток или из культуры *N. meningitidis*) и т.д. Предпочтительным путем экспрессии является гетерологическая экспрессия в хозяине *E. coli*.

Полипептиды по изобретению теоретически имеют длину, составляющую по меньшей мере 100 аминокислот, например, 150ак, 175ак, 200ак, 225ак или длиннее. Они включают мутантную аминокислотную последовательность fHbp v2 и/или v3, и мутантная аминокислотная последовательность fHbp v2 или v3 аналогично должна иметь длину, составляющую по меньшей мере 100 аминокислот, например, 150ак, 175ак, 200ак, 225ак или длиннее.

fHBP является природным липопротеином *N. meningitidis*. Также обнаружено, что он липидизируется при экспрессии в *E. coli* с нативной лидерной последовательностью или с гетерологичными лидерными последовательностями. Полипептиды по изобретению могут иметь N-концевой

остаток цистеина, который может быть липидизирован, например, содержать группу пальмитоила, обычно с образованием трипальмитоил-S-глицерилцистеина. В других воплощениях полипептиды не липидизированы.

Полипептиды предпочтительно получают в по существу чистой или по существу выделенной форме (т.е. в форме, по существу не содержащей других полипептидов *Neisseria* или клеток-хозяев). Как правило, полипептиды предложены в неприродном окружении, например, они отделены от природной окружающей среды. В некоторых воплощениях полипептид представлен в композиции, которая обогащена полипептидом по сравнению с исходным материалом. Таким образом, предложен очищенный полипептид, при этом очищенный означает, что полипептид представлен в композиции, которая по существу не содержит других экспрессированных полипептидов, при этом по существу не содержащий означает, что более чем 50% (например 75% и более, 80% и более, 90% и более, 95% и более или 99% и более) от всех полипептидов в композиции представляют собой полипептид по изобретению.

Полипептиды могут принимать различные формы (например, нативную, слитые, гликозилированную, негликозилированную, липидизированную, с дисульфидными мостиковыми связями и т.д.).

Последовательности SEQ ID NO 4, 5, 17 и 40 не включают N-концевой метионин. Если полипептид по изобретению получают путем трансляции в биологическом хозяине, то требуется стартовый кодон, который будет обеспечивать наличие N-концевого метионина у большинства хозяев. Таким образом, полипептид по изобретению будет по меньшей мере на стадии роста цепи включать остаток метионина, расположенный выше относительно указанной последовательности SEQ ID NO.

Отщепление последовательностей на стадии роста цепи означает, что мутантная аминокислотная последовательность v2 или v3 сама может представлять N-конец полипептида. Тем не менее, в других воплощениях полипептид по изобретению может включать N-концевую последовательность, расположенную выше относительно мутантной аминокислотной последовательности fHbp v2 или v3. В некоторых воплощениях полипептид имеет один метионин на N-конце, непосредственно за которым следует мутантная аминокислотная последовательность v2 или v3; в других

воплощениях может быть использована более длинная расположенная выше последовательность. Такая расположенная выше последовательность может быть короткой (например, 40 или меньше аминокислот, т.е. 39, 38, 37, 36, 35, 34, 33, 32, 31, 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1). Примеры включают лидерные последовательности для направления транспортирования белка или короткие пептидные последовательности, которые облегчают клонирование или очистку (например, гистидиновая концевая метка, т.е. His_n, где n=4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более чем 10). Другие подходящие N-концевые аминокислотные последовательности будут понятны для специалистов в данной области техники, например, нативные расположенные выше последовательности, представленные в последовательности SEQ ID NO: 2 или последовательности SEQ ID NO: 3.

Полипептид по изобретению также может включать аминокислоты, расположенные ниже концевой аминокислоты мутантной аминокислотной последовательности fHbr v2 или v3. Такие C-концевые удлинения могут быть короткими (например 40 или меньше аминокислот, т.е. 39, 38, 37, 36, 35, 34, 33, 32, 31, 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1). Примеры включают последовательности для управления транспортированием белков, короткие пептидные последовательности, которые облегчают клонирование или очистку (например, содержащие гистидиновую концевую метку, т.е. His_n, где n=3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более чем 10), или последовательности, которые повышают стабильность полипептида. Другие подходящие C-концевые аминокислотные последовательности будут понятны специалистам в данной области техники.

В некоторых воплощениях в изобретении исключены полипептиды, которые включают гистидиновую концевую метку (смотри источники 24 и 25), и, в частности, гексагистидиновую концевую метку по C-концу.

Термин "полипептид" относится к аминокислотным полимерам любой длины. Полимер может быть линейным или разветвленным, он может содержать модифицированные аминокислоты и он может прерываться остатками, отличными от аминокислотных. Термины также охватывают аминокислотный полимер, который был модифицирован естественным образом

или в результате вмешательства; например, путем образования дисульфидной мостиковой связи, гликозилирования, липидизации, ацетилирования, фосфорилирования или путем любой другой обработки или модификации, такой как конъюгирование с агентом мечения. Также в указанное определение включены, например, полипептиды, содержащие один или более чем один аналог аминокислот (включающий, например, неприродные аминокислоты и т.д.), а также другие модификации, известные в области техники. Полипептиды могут существовать в виде единичных цепей или ассоциированных цепей.

Полипептиды по изобретению могут быть связаны или иммобилизованы на твердом носителе.

Полипептиды по изобретению могут содержать регистрируемую метку, например, радиоактивную метку, флуоресцирующую метку или биотиновую метку. Такие полипептиды особенно полезны в способах иммуноанализа.

Как раскрыто в источнике 164, fHbp могут быть разделены на три домена, названные А, В и С. В отношении последовательности SEQ ID NO: 1 три домена представляют собой (А) 1-119, (В) 120-183 и (С) 184-274:

MNRTAFCCSLTTALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKGLQS
 LTLDQSVRKNEKLKLAAGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRLFIRQIEVDGQLIT
 LESGEFQVYKQSHSALTAFQTEQIQDSEHSGKMVAKRQFRIGDIAGEHTSFDKLPE
GGRATYRGTAFGSDDAGGKLTYTIDFAAKQGNGKIEHLKSPELNVDLAAADIKPDG
 KRHAVISGSVLYNQAEKGSYSLGIFGGKAQEVAGSAEVKTVNGIRHIGLAAKQ

Зрелую форму домена "А" от Cys-20 на его N-конце до Lys-119 называют "А_{зрелый}".

Известно множество последовательностей fHBP, и их можно легко выравнивать, используя стандартные способы. Путем таких выравниваний специалист в данной области техники может идентифицировать (а) домены "А" (и "А_{зрелый}"), "В" и "С" в любой заданной последовательности fHBP путем сравнения с координатами в последовательности MC58, и (б) единичные остатки в множественных последовательностях fHBP, например, для идентификации замен. Тем не менее, для упрощения ссылок домены определены ниже:

- Домен "А" в данной последовательности fHBP представляет собой фрагмент такой последовательности, который при выравнивании с

последовательностью SEQ ID NO: 1 с использованием алгоритма попарного выравнивания начинается с аминокислоты, выравниваемой с Met-1 последовательности SEQ ID NO: 1, и заканчивается аминокислотой, выравниваемой с Lys-119 последовательности SEQ ID NO: 1

- Домен "Азрелый" в данной последовательности fHBP представляет собой фрагмент такой последовательности, который при выравнивании с последовательностью SEQ ID NO: 1 с использованием алгоритма попарного выравнивания начинается с аминокислоты, выравниваемой с Cys-20 последовательности SEQ ID NO: 1, и заканчивается аминокислотой, выравниваемой с Lys-119 последовательности SEQ ID NO: 1.

- Домен "В" в данной последовательности fHBP представляет собой фрагмент такой последовательности, который при выравнивании с последовательностью SEQ ID NO: 1 с использованием алгоритма попарного выравнивания начинается с аминокислоты, выравниваемой с Gln-120 последовательности SEQ ID NO: 1, и заканчивается аминокислотой, выравниваемой с Gly-183 последовательности SEQ ID NO: 1.

- Домен "С" в данной последовательности fHBP представляет собой фрагмент такой последовательности, который при выравнивании с последовательностью SEQ ID NO: 1 с использованием алгоритма попарного выравнивания начинается с аминокислоты, выравниваемой с Lys-184 последовательности SEQ ID NO: 1, и заканчивается аминокислотой, выравниваемой с Gln-274 последовательности SEQ ID NO: 1.

Предпочтительным алгоритмом попарного выравнивания для определения доменов является алгоритм глобального выравнивания Нидлемана-Вунша [158] с использованием параметров по умолчанию (например, с использованием штрафа на внесение делеции в выравнивание =10,0 и штрафа на продолжение делеции = 0,5, используя матрицу подсчета EBLOSUM62). Такой алгоритм удобно реализован в инструменте *needle* в пакете EMBOS [159].

В некоторых воплощениях мутантная аминокислотная последовательность fHbp v2 или v3 по изобретению усечена для удаления ее домена А. Тем не менее, как правило, тогда предпочтительно, чтобы мутантная

аминокислотная последовательность fHbr v2 или v3 должна была включать как N-концевую β -бочку, так и C-концевую β -бочку.

В некоторых воплощениях полипептид содержит описанную выше аминокислотную последовательность за исключением того, что 10 аминокислот (т.е. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10) по N-концу и/или до 10 аминокислот (т.е. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10) по C-концу удалены.

Полипептиды по изобретению, как правило, состоят из искусственной аминокислотной последовательности, а именно последовательности, которая не представлена у природных менингококков.

Аффинность к фактору Н может быть количественно определена с использованием поверхностного плазмонного резонанса, например, раскрытого в источниках 18 и 21-24 с иммобилизованным человеческим fH. Предпочтительны мутации, которые приводят к уменьшению аффинности (т.е. увеличению константы диссоциации K_D) по меньшей мере в 10 раз, и в идеале по меньшей мере в 100 раз (при измерении в тех же самых экспериментальных условиях относительно того же самого полипептида, но без мутации).

Нуклеиновые кислоты

В изобретении предложена нуклеиновая кислота, кодирующая определенный выше полипептид по изобретению.

Нуклеиновые кислоты по изобретению могут быть получены различными способами, например, путем химического синтеза (например, путем фосфорамидитного синтеза ДНК) полностью или частично, путем расщепления более длинных нуклеиновых кислот с использованием нуклеаз (например, ферментов рестрикции), путем связывания более коротких нуклеиновых кислот или нуклеотидов (например, с использованием лигаз или полимераз), из библиотек геномной или кДНК и т.д.

Нуклеиновые кислоты по изобретению могут принимать различные формы, например, одноцепочечные, двухцепочечные, векторы, праймеры, зонды, меченые, немеченые и т.д.

Нуклеиновые кислоты по изобретению предпочтительно находятся в выделенной или по существу выделенной форме.

Термин "нуклеиновая кислота" включает ДНК и РНК, а также их аналоги, такие как аналоги, содержащие модифицированные скелеты, а также пептидные нуклеиновые кислоты (ПНК) и т.д.

Нуклеиновая кислота по изобретению может быть меченой, например, при помощи радиоактивной или флуоресцентной метки.

В изобретении также предложены векторы (такие как плазмиды), содержащие нуклеотидные последовательности по изобретению (например, клонирующие или экспрессирующие векторы, такие как векторы, подходящие для иммунизации нуклеиновыми кислотами) и клетки-хозяева, трансформированные такими векторами.

Бактерицидные ответы

Предпочтительные полипептиды по изобретению могут вызывать ответы в виде антител, которые являются бактерицидными по отношению к менингококкам. Образование бактерицидных антител обычно измеряют у мышей, и они являются стандартным показателем эффективности вакцины (например, смотри заключительное примечание 14 в источнике 37; также источник 38).

Полипептиды в соответствии с первым воплощением изобретения могут предпочтительно вызывать ответы в виде антител, которые являются бактерицидными по отношению к штамму *N.meningitidis*, который экспрессирует последовательность v2 fHbp, например одному или более чем одному из штаммов 961-5945, 2996, 96217, 312294, 11327, a22, gb013 (=M01-240013), e32, m1090, m4287, 860800, 599, 95N477, 90-18311, c11, m986, m2671, 1000, m1096, m3279, bz232, dk353, m3697, ngh38, и/ или L93/4286. Бактерицидные ответы могут быть определены, например, против var2 штамма M2091 (АТСС (Американская коллекция типовых культур) 13091).

Предпочтительные полипептиды в соответствии с первым воплощением изобретения могут вызывать образование у мышей антител, которые являются бактерицидными против штамма M2091 в бактерицидном анализе на сыворотке крови.

Полипептиды в соответствии со вторым воплощением изобретения могут предпочтительно вызывать ответы в виде антител, которые являются бактерицидными по отношению к штамму *N.meningitidis*, который экспрессирует

последовательность v3 fHbp, например одному или более чем одному из штаммов M1239, 16889, gb355 (=M01-240355), m3369, m3813, ngr165. Например, бактерицидные ответы могут быть определены в отношении var3 штамма M01-240355, который представляет собой референсный штамм *Neisseria* MLST (идентификационный номер 19265 в источнике 27), который был полностью секвенирован (смотри EMBL ID CP002422 [27])

Предпочтительные полипептиды в соответствии со вторым воплощением изобретения могут вызывать образование у мышей антител, которые являются бактерицидными против штамма M01-240355 в бактерицидном анализе на сыворотке крови.

Например, иммуногенная композиция, содержащая эти полипептиды, может обеспечивать бактерицидный титр в сыворотке крови не меньше 1:4 с использованием анализа Гольшнайдера с человеческим комплементом [27-28, 29] и/или обеспечивать бактерицидный титр в сыворотке крови не меньше 1:128 с использованием комплемента крольчонка.

Иммунизация

Полипептиды по изобретению могут быть использованы в качестве активного ингредиента иммуногенных композиций, и, таким образом, в изобретении предложена иммуногенная композиция (например, вакцина), содержащая полипептид по изобретению.

В изобретении также предложен способ для индуцирования антительного ответа у млекопитающего, включающий введение млекопитающему иммуногенной композиции по изобретению. Антительный ответ предпочтительно представляет собой ответ в виде защитного и/или бактерицидного антитела. В изобретении также предложены полипептиды по изобретению для применения в таких способах.

В изобретении также предложен способ защиты млекопитающего от инфекции, вызванной *Neisseria* (например, менингококковой инфекции), включающий введение млекопитающему иммуногенной композиции по изобретению.

В изобретении предложены полипептиды по изобретению для применения в качестве лекарственных средств (например, в качестве иммуногенных композиций или в качестве вакцин) или в качестве

диагностических реагентов. В изобретении также предложено применение нуклеиновой кислоты или полипептида по изобретению в изготовлении лекарственного средства для предупреждения инфекции, вызванной *Neisseria* (например, менингококковой инфекции), у млекопитающего.

Млекопитающее предпочтительно представляет собой человека. Человек может представлять собой взрослого человека или предпочтительно ребенка. В том случае, когда вакцина предназначена для профилактического применения, тогда человек предпочтительно представляет собой ребенка (например, ребенка раннего возраста или новорожденного); в том случае, когда вакцина предназначена для терапевтического применения, тогда человек предпочтительно представляет собой взрослого человека. Вакцина, предназначенная для детей, также может быть введена взрослым людям, например для оценки безопасности, дозы, иммуногенности и т.д.

Применения и способы особенно полезны для предупреждения/лечения заболеваний, включая менингит (в частности, бактериальный, такой как менингококковый менингит) и бактериемию, но не ограничивающихся ими. Например, они подходят для активной иммунизации индивидов против инвазивного менингококкового заболевания, вызванного *N.meningitidis* (например, в серогруппе B).

Эффективность терапевтического лечения можно проверить при помощи мониторинга вызванной *Neisseria* инфекции после введения композиции по изобретению. Эффективность профилактического лечения можно тестировать посредством мониторинга иммунных ответов против fHBP после введения композиции. Иммуногенность композиций по изобретению можно определить путем их введения тестируемым субъектам (например, детям в возрасте 12-16 месяцев или в моделях на животных) и последующего определения стандартных параметров, включающих бактерицидные антитела сыворотки крови (SBA) и титры ELISA (иммуноферментный анализ) (GMT). Эти иммунные ответы, как правило, можно определить приблизительно через 4 недели после введения композиции и сравнить со значениями, определенными до введения композиции. Предпочтительным является увеличение SBA по меньшей мере в 4 раза или 8 раз. При введении более одной дозы композиции можно осуществить более одного определения после введения.

Предпочтительные композиции по изобретению могут приводить к титру антител у пациента, который превосходит критерий серологической защиты в отношении каждого антигенного компонента для приемлемой процентной доли людей. Хорошо известны антигены с ассоциированным титром антител, выше которых хозяина рассматривают как сероконвертированного против антигена, и такие титры публикуются такими организациями, как ВОЗ (Всемирная Организация Здравоохранения). Предпочтительно сероконвертированными являются более чем 80% статистически значимых образцов субъектов, более предпочтительно более чем 90%, еще более предпочтительно более чем 93% и наиболее предпочтительно 96-100%.

Композиции по изобретению, как правило, можно будет непосредственно вводить пациенту. Прямую доставку можно осуществлять путем парентеральной инъекции (например, подкожно, внутривенно, внутримышечно или в интерстициальное пространство ткани) или путем ректального, перорального, вагинального, местного, трансдермального, интраназального, глазного, ушного, легочного или другого введения через слизистую оболочку. Предпочтительным является внутримышечное введение в бедро или плечо. Инъекцию можно осуществлять посредством иглы (например, иглы для подкожных инъекций), но альтернативно можно использовать безыгольную инъекцию. Типичная внутримышечная доза составляет приблизительно 0,5 мл.

Изобретение можно использовать для того, чтобы вызвать системный и/или мукозный иммунитет.

Лечение при помощи доз может быть осуществлено по схеме с разовой дозой или по схеме с использованием дробных доз. Дробные дозы можно использовать в схеме первичной иммунизации и/или в схеме бустер-иммунизации. После схемы введения первичных доз может следовать схема введения бустер-доз. Подходящий период времени между возбуждающими дозами (например, от 4 до 16 недель) и между примированием и реиммунизацией можно определить стандартными способами.

Иммуногенная композиция по изобретению, как правило, будет включать фармацевтически приемлемый носитель, который может представлять собой любое вещество, которое само по себе не вызывает продукцию антител,

опасных для пациента, получающего композицию, и которое можно вводить, не опасаясь чрезмерной токсичности. Фармацевтически приемлемые носители могут включать жидкости, такие как вода, физиологический раствор, глицерин и этанол. Вспомогательные вещества, такие как увлажнители или эмульгаторы, вещества pH-буферов и т.п, также могут быть представлены в таких разбавителях. Всестороннее обсуждение подходящих носителей приведено в источнике 27.

Инфекции, вызванные *Neisseria*, поражают различные области организма и, следовательно, композиции по изобретению могут быть приготовлены в различных формах. Например, композиции могут быть приготовлены в виде инъектируемых препаратов, либо в виде жидких растворов или суспензий. Также могут быть приготовлены твердые формы, подходящие для растворения или суспендирования в жидких разбавителях перед инъекцией. Композиция может быть приготовлена для местного введения, например в виде мази, крема или порошка. Композиция может быть приготовлена для перорального введения, например в виде таблетки или капсулы, или в виде сиропа (возможно с корригентами). Композиция может быть приготовлена для легочного введения, например в виде ингалятора с использованием тонкодисперсного порошка или спрея. Композиция может быть приготовлена в виде суппозитория или пессария. Композиция может быть приготовлена для назального, ушного или глазного введения, например, в виде капель. Наиболее предпочтительны композиции, подходящие для парентеральной инъекции.

Композиция предпочтительно является стерильной. Предпочтительно, композиция является апиrogenной. Предпочтительно, она забуферена, например при pH от 6 до 8, как правило приблизительно при pH 7. В том случае, когда композиция содержит соль гидроксида алюминия, предпочтительно используют гистидиновый буфер [27]. Композиции по изобретению могут быть изотоничными для людей.

Иммуногенные композиции содержат иммунологически эффективное количество иммуногена, а также, при необходимости, любые другие определенные компоненты. Под "иммунологически эффективным количеством" подразумевают, что введение такого количества индивиду или в разовой дозе, или в виде части серий доз, является эффективным для лечения или

предупреждения. Термин “предупреждение” означает, что прогресс заболевания уменьшается и/или устраняется, или что устраняется возникновение заболевания. Например, иммунная система субъекта может быть примирована (например, путем вакцинации) для запуска иммунного ответа и подавления инфекции, таким образом, что устраняется возникновение заболевания. Таким образом, вакцинируемый субъект может быть инфицирован, но обладает более хорошей способностью бороться с инфекцией по сравнению с контрольным субъектом. Такое количество варьирует в зависимости от состояния здоровья и физического состояния пациента, которого лечат, возраста, таксономической группы пациента, которого лечат (например, примата, отличающегося от человека, примата и т.д.), способности иммунной системы индивида синтезировать антитела, степени желаемой защиты, композиции вакцины, оценки медицинской ситуации лечащим врачом и других релевантных факторов. Ожидают, что количество будет оказываться в относительно широком диапазоне, который может быть определен в стандартных испытаниях. Лечение при помощи доз может быть осуществлено по схеме с использованием разовой дозы или по схеме с использованием дробных доз (например, включающей бустер-дозы). Композицию можно вводить в сочетании с другими иммунорегулирующими агентами.

Адъюванты, которые могут быть использованы в композициях по изобретению, включают нерастворимые соли металлов, эмульсии масло-в-воде (например, MF59 или AS03, обе содержат сквален), сапонины, нетоксичные производные LPS (липополисахаридов) (такие как монофосфориллипид A или 3-O-деацилированный MPL), иммуностимулирующие олигонуклеотиды, обезвреженные бактериальные АДФ-рибозилирующие токсины, микрочастицы, липосомы, имидазохинолоны или их смеси, но не ограничиваются ими. Другие вещества, которые действуют в качестве иммуностимулирующих агентов, раскрыты в главе 7 источника 46.

Особенно предпочтительно применение адъюванта на основе гидроксида алюминия и/или фосфата алюминия, и полипептиды, как правило, адсорбированы на этих солях. Эти соли включают оксигидроксиды и гидроксифосфаты (например, смотри главы 8 и 9 в источнике 46). Соли могут

принимать любую подходящую форму (например, гель, кристаллическую форму, аморфную форму и т.п.).

Дополнительные антигенные компоненты

Композиции по изобретению включают мутантную последовательность v2 и/или v3 fHbp. Полезно, если композиция не включает сложные или неопределенные смеси антигенов, например, предпочтительно не включать везикулы наружной мембраны в композицию. Полипептиды по изобретению предпочтительно экспрессируют рекомбинантно в гетерологичном хозяине и затем очищают.

Наряду с включением полипептида fHbp, композиция по изобретению также может включать один или более чем один дополнительный иммуноген *Neisseria*, так как вакцина, которая направлена против более чем одного иммуногена бактерии, уменьшает вероятность селекции "ускользнувших" мутантов. Таким образом, композиция может включать второй полипептид, который при введении млекопитающему вызывает ответ в виде антител, которые являются бактерицидными против менингококка. Второй полипептид может представлять собой менингококковый fHbp, но часто не представляет собой fHbp, например, он может представлять собой последовательность NHBA, последовательность NadA и т.п.

Любой такой дополнительный иммуноген *Neisseria* может быть представлен в виде полипептида, отдельного от мутанта v2 или v3 fHbp по изобретению, или может быть представлен в виде слитого полипептида с модифицированным fHbp. Например, известно слияние менингококкового полипептида 936 и полипептидов fHbp [55, 56]. Особенно предпочтительны слитые белки, содержащие последовательность SEQ ID NO: 44 и/или последовательность SEQ ID NO: 45, возможно когда последовательности SEQ ID NO: 44 и/или 45 модифицирована(ы) единичными аминокислотными заменами в количестве до 5 (т.е. 1, 2, 3, 4 или 5 единичных аминокислотных замен, делеций и/или вставок), как здесь описано.

Композиция по изобретению может включать антиген NHBA. Антиген NHBA включен в опубликованную последовательность генома для менингококковой серогруппы B штамма MC58 [27] как ген NMB2132 (идентификационный номер GenBank GI:7227388; здесь последовательность

SEQ ID NO: 6). С того момента были опубликованы последовательности антигена NHBA из многих штаммов. Например, аллельные формы NHBA можно увидеть на Фиг. 5 и 15 источника 27, и в примере 13 и фиг. 21 источника 1 (в нем SEQ ID с 3179 по 3184). Также сообщалось о различных иммуногенных фрагментах антигена NHBA. Предпочтительные 287 антигенов для применения в изобретении содержат аминокислотную последовательность: (а) имеющую 50% или более чем 50% идентичность (например 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% или более чем 99,5%) с последовательностью SEQ ID NO: 6; и/или (б) содержащую фрагмент по меньшей мере 'n' последовательных аминокислот последовательности SEQ ID NO: 6, где 'n' равен 7 или больше (например 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250 или больше). Предпочтительные фрагменты (б) содержат эпитопы последовательности SEQ ID NO: 6. Наиболее полезные антигены NHBA по изобретению могут вызывать образование антител, которые после введения субъекту могут связываться с менингококковым полипептидом, состоящим из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 6. Благоприятные антигены NHBA для применения в изобретении могут после введения субъекту вызывать образование бактерицидных антител против менингококка.

Композиция по изобретению может включать антиген NadA. Антиген NadA включен в опубликованную последовательность генома для менингококковой серогруппы В штамм MC58 [47] как ген NMB1994 (идентификационный номер GenBank GI:7227256; здесь последовательность SEQ ID NO: 7). С тех пор были опубликованы последовательности антигена NadA из многих штаммов, и хорошо документирована белковая активность в качестве адгезина *Neisseria*. Также сообщалось о различных иммуногенных фрагментах NadA. Предпочтительные антигены NadA для применения в изобретении содержат аминокислотную последовательность: (а) имеющую 50% или более чем 50% идентичность (например 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% или более чем 99,5%) с последовательностью SEQ ID NO: 7; и/или (б) содержащую фрагмент по меньшей мере 'n' последовательных аминокислот последовательности SEQ ID NO: 7, где 'n' равен 7 или больше (например 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 25, 30,

35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250 или больше). Предпочтительные фрагменты (б) содержат эпитоп последовательности SEQ ID NO: 7. Наиболее полезные антигены NadA по изобретению могут вызывать образование антител, которые после введения субъекту могут связываться с менингококковым полипептидом, состоящим из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 7. Благоприятные антигены NadA для применения в изобретении могут после введения субъекту вызывать образование бактерицидных антител против менингококка. Последовательность SEQ ID NO: 15 представляет собой один такой фрагмент.

Композиция по изобретению может включать антиген NspA. Антиген NspA включен в опубликованную последовательность генома для менингококковой серогруппы В штамм MC58 [47] как ген NMB0663 (идентификационный номер GenBank GI:7225888; здесь последовательность SEQ ID NO: 8). Этот антиген ранее был известен из источников 49 и 50. С того момента были опубликованы последовательности антигена NspA из многих штаммов. Также сообщалось о различных иммуногенных фрагментах NspA. Предпочтительные антигены NspA для применения в изобретении содержат аминокислотную последовательность: (а) имеющую 50% или более чем 50% идентичность (например 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% или более чем 99,5%) с последовательностью SEQ ID NO: 8; и/или (б) содержащую фрагмент по меньшей мере 'n' последовательных аминокислот последовательности SEQ ID NO: 8, где 'n' равен 7 или более чем 7 (например 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250 или больше). Предпочтительные фрагменты (б) содержат эпитоп последовательности SEQ ID NO: 8. Наиболее полезные антигены NspA по изобретению могут вызывать образование антител, которые после введения субъекту могут связываться с менингококковым полипептидом, состоящим из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 8. Благоприятные антигены NspA для применения в изобретении могут после введения субъекту вызывать образование бактерицидных антител против менингококка.

Композиции по изобретению могут включать менингококковый антиген HmbR. Полноразмерная последовательность HmbR включена в опубликованную последовательность генома для менингококковой серогруппы

В штамм MC58 [47] как ген NMB1668 (здесь последовательность SEQ ID NO: 9). В изобретении может использоваться полипептид, который содержит полноразмерную последовательность HmbR, но часто используется полипептид, который содержит частичную последовательность HmbR. Таким образом, в некоторых воплощениях последовательность HmbR, используемая по изобретению, может содержать аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере идентичность последовательности $i\%$ с последовательностью SEQ ID NO: 9, где величина i равна 50, 60, 70, 80, 90, 95, 99 или больше. В других воплощениях последовательность HmbR, используемая по изобретению, может содержать фрагмент по меньшей мере j последовательных аминокислот последовательности SEQ ID NO: 9, где величина j равна 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250 или больше. В других воплощениях последовательность HmbR, используемая по изобретению, может содержать аминокислотную последовательность, (1) имеющую по меньшей мере идентичность последовательности $i\%$ с последовательностью SEQ ID NO: 9, и/или (2) содержащую фрагмент по меньшей мере j последовательных аминокислот последовательности SEQ ID NO: 9. Предпочтительные фрагменты j аминокислот содержат эпитоп последовательности SEQ ID NO: 9. Такие эпитопы обычно содержат аминокислоты, которые располагаются на поверхности HmbR. Полезные эпитопы включают эпитопы с аминокислотами, вовлеченными в связывание HmbR с гемоглобином, так как антитела, которые связываются с этими эпитопами, могут блокировать способность бактерии связываться с гемоглобином хозяина. Топологию HmbR и его критические функциональные остатки исследовали в источнике 51. Наиболее полезные антигены HmbR по изобретению могут вызывать образование антител, которые после введения субъекту могут связываться с менингококковым полипептидом, состоящим из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 9. Благоприятные антигены HmbR для применения в изобретении могут после введения субъекту вызывать образование бактерицидных антител против менингококка.

Композиция по изобретению может включать антиген NhhA. Антиген NhhA включен в опубликованную последовательность генома для

менингококковой серогруппы В штамм MC58 [47] как ген NMB0992 (идентификационный номер GenBank GI:7226232; здесь последовательность SEQ ID NO: 10). С того момента были опубликованы последовательности антигена NhhA из многих штаммов, например источники 48 и 52, и сообщалось о различных иммуногенных фрагментах NhhA. Он также известен как Hsf. Предпочтительные антигены NhhA для применения в изобретении содержат аминокислотную последовательность: (а) имеющую идентичность последовательности 50% или больше (например 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% или больше) с SEQ ID NO: 10; и/или (б) содержащую фрагмент по меньшей мере 'n' последовательных аминокислот последовательности SEQ ID NO: 10, где 'n' равен 7 или больше (например 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250 или больше). Предпочтительные фрагменты (б) содержат эпитоп последовательности SEQ ID NO: 10. Наиболее полезные антигены NhhA по изобретению могут вызывать образование антител, которые после введения субъекту могут связываться с менингококковым полипептидом, состоящим из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 10. Благоприятные антигены NhhA для применения в изобретении могут после введения субъекту вызывать образование бактерицидных антител против менингококка.

Композиция по изобретению может включать антиген App. Антиген App включен в опубликованную последовательность генома для менингококковой серогруппы В штамм MC58 [47] как ген NMB1985 (идентификационный номер GenBank GI:7227246; здесь последовательность SEQ ID NO: 11). С того момента были опубликованы последовательности антигена App из многих штаммов. Также сообщалось о различных иммуногенных фрагментах App. Предпочтительные антигены App для применения в изобретении содержат аминокислотную последовательность: (а) имеющую идентичность последовательности 50% или больше (например 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% или больше) с SEQ ID NO: 11; и/или (б) содержащую фрагмент по меньшей мере 'n' последовательных аминокислот последовательности SEQ ID NO: 11, где 'n' равен 7 или больше (например 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70,

80, 90, 100, 150, 200, 250 или больше). Предпочтительные фрагменты (б) содержат эпитоп последовательности SEQ ID NO: 11. Наиболее полезные антигены App по изобретению могут вызывать образование антител, которые после введения субъекту могут связываться с менингококковым полипептидом, состоящим из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 11. Благоприятные антигены App для применения в изобретении могут после введения субъекту вызывать образование бактерицидных антител против менингококка.

Композиция по изобретению может включать антиген Omp85. Антиген Omp85 включен в опубликованную последовательность генома для менингококковой серогруппы B штамм MC58 [47] как ген NMB0182 (идентификационный номер GenBank GI:7225401; здесь последовательность SEQ ID NO: 12). С того момента были опубликованы последовательности антигена Omp85 из многих штаммов. Дополнительную информацию о Omp85 можно найти в источниках 53 и 54. Также сообщалось о различных иммуногенных фрагментах Omp85. Предпочтительные антигены Omp85 для применения в изобретении содержат аминокислотную последовательность: (а) имеющую идентичность последовательности 50% или больше (например 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% или больше) с SEQ ID NO: 12; и/или (б) содержащую фрагмент по меньшей мере 'n' последовательных аминокислот последовательности SEQ ID NO: 12, где 'n' равен 7 или больше (например 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250 или больше). Предпочтительные фрагменты (б) содержат эпитоп последовательности SEQ ID NO: 12. Наиболее полезные антигены Omp85 по изобретению могут вызывать образование антител, которые после введения субъекту могут связываться с менингококковым полипептидом, состоящим из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 12. Благоприятные антигены Omp85 для применения в изобретении могут после введения субъекту вызывать образование бактерицидных антител против менингококка.

Композиция по изобретению может включать антиген 936. Антиген 936 включен в опубликованную последовательность генома для менингококковой серогруппы B штамм MC58 [47] как ген NMB2091 (здесь последовательность

SEQ ID NO: 13). Предпочтительные антигены 936 для применения в изобретении содержат аминокислотную последовательность: (а) имеющую идентичность последовательности 50% или больше (например 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% или больше) с SEQ ID NO: 13; и/или (б) содержащую фрагмент по меньшей мере 'n' последовательных аминокислот последовательности SEQ ID NO: 13, где 'n' равен 7 или больше (например 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250 или больше). Предпочтительные фрагменты (б) содержат эпитоп последовательности SEQ ID NO: 13. Наиболее полезные антигены 936 по изобретению могут вызывать образование антител, которые после введения субъекту могут связываться с менингококковым полипептидом, состоящим из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 13. Антиген 936 представляет собой хороший партнер для слияния с fHbp (например, смотри источники 55 и 56).

Композиция может содержать: полипептид, содержащий последовательность SEQ ID NO: 14; полипептид, содержащий последовательность SEQ ID NO: 15; и полипептид по изобретению, содержащий мутантную аминокислотную последовательность fHbp v2 и SEQ ID NO: 13 (смотри источники 55 и 56).

Композиция может содержать: полипептид, содержащий последовательность SEQ ID NO: 14; полипептид, содержащий последовательность SEQ ID NO: 15; и полипептид по изобретению, содержащий мутантную аминокислотную последовательность fHbp v3 и SEQ ID NO: 13 (смотри источники 55 и 56).

В некоторых воплощениях полипептид по изобретению комбинирован с другой менингококковой последовательностью fHbp. В частности, полипептид v2 может быть комбинирован с полипептидом v1 и/или v3 для увеличения спектра покрытия штаммов [162]. Таким образом, композиция может содержать: (1) полипептид по изобретению, содержащий мутантную аминокислотную последовательность fHbp v2; и (2) полипептид v1 fHbp и/или полипептид v3 fHbp. В других воплощениях полипептид по изобретению может содержать (1) мутантную аминокислотную последовательность fHbp v2 и (2) аминокислотную последовательность v1 fHbp и/или аминокислотную последовательность v3

fHbp. Таким образом, последовательности v1 и/или v3 могут быть комбинированы с мутантной последовательностью v2 в виде отдельных единиц в композиции или в слитом полипептиде.

Аналогично, полипептид v3 может быть комбинирован с полипептидом v1 и/или v2 для увеличения спектра покрытия штаммов [162]. Таким образом, композиция может содержать: (1) полипептид по изобретению, содержащий мутантную аминокислотную последовательность fHbp v3; и (2) полипептид v1 fHbp и/или полипептид v2 fHbp. В других воплощениях полипептид по изобретению может содержать (1) мутантную аминокислотную последовательность fHbp v3 и (2) аминокислотную последовательность v1 fHbp и/или аминокислотную последовательность v2 fHbp. Таким образом, последовательности v1 и/или v2 могут быть комбинированы с мутантной последовательностью v3 в виде отдельных сущностей в композиции или в слитом полипептиде.

Кроме того, мутантные полипептиды v2 и v3 могут быть комбинированы друг с другом для увеличения покрытия штаммов. Таким образом, композиция может содержать: (1) полипептид по изобретению, содержащий мутантную аминокислотную последовательность fHbp v2; (2) полипептид по изобретению, содержащий мутантную аминокислотную последовательность fHbp v3; и (3) полипептид fHbp v1. В других воплощениях полипептид по изобретению может содержать (1) мутантную аминокислотную последовательность fHbp v2 (2) мутантную аминокислотную последовательность v3 fHbp и (3) аминокислотную последовательность fHbp v1. Таким образом, мутантные последовательности v2 и v3 могут быть комбинированы с последовательностью v1 в виде отдельных единиц в композиции или в слитом полипептиде. Последовательность v1 может представлять собой последовательность дикого типа или мутантную последовательность.

v1 fHbp может содержать (а) аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере идентичность $k\%$ с последовательностью SEQ ID NO: 16, и/или (б) фрагмент последовательности SEQ ID NO: 16. Информация о 'k' и фрагментах приведена выше. Фрагмент, как правило, включает по меньшей мере один эпитоп последовательности SEQ ID NO: 16, и полипептид v1 fHbp включает по меньшей мере один эпитоп, который не представлен в

аминокислотной последовательности v2 или v3 по изобретению, таким образом, что антитела, образование которых вызывается v1 fHbp, могут распознавать штаммы v1. В идеале, v1 fHbp могут вызывать образование антител, которые являются бактерицидными против штаммов v1, например против штамма MC58 (доступен в ATCC как 'BAA-335'). v1 fHbp может включать аминокислотную мутацию, которая нарушает его способность связываться с fH.

v2 fHbp может содержать (а) аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере идентичность $k\%$ с последовательностью SEQ ID NO: 5, и/или (б) фрагмент последовательности SEQ ID NO: 5. Информация о 'k' и фрагментах приведена выше. Фрагмент, как правило, включает по меньшей мере один эпитоп последовательности SEQ ID NO: 5, и полипептид v2 fHbp включает по меньшей мере один эпитоп, который не представлен в аминокислотной последовательности v3 по изобретению, таким образом, что антитела, образование которых вызывается v2 fHbp, могут распознавать штаммы v2. В идеале, v2 fHbp могут вызывать образование антител, которые являются бактерицидными против штаммов v2, например против штамма M2091 (ATCC 13091). v2 fHbp может представлять собой полипептид в соответствии с первым воплощением.

v3 fHbp может содержать (а) аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере идентичность $k\%$ с последовательностью SEQ ID NO: 17, и/или (б) фрагмент последовательности SEQ ID NO: 17. Информация о 'k' и фрагментах приведена выше. Фрагмент, как правило, включает по меньшей мере один эпитоп последовательности SEQ ID NO: 17, и полипептид v3 fHbp включает по меньшей мере один эпитоп, который не представлен в аминокислотной последовательности v2 по изобретению, таким образом, что антитела, образование которых вызывается v3 fHbp, могут распознавать штаммы v3. В идеале v3 fHbp может вызывать образование антител, которые являются бактерицидными против штаммов v3, например против штамма M01-240355. v3 fHbp может представлять собой полипептид в соответствии со вторым воплощением.

Таким образом, например, в изобретении предложен полипептид, содержащий в единой полипептидной цепи каждый из: (1) аминокислотной последовательности fHbp v1; (2) мутантной аминокислотной

последовательности fHbp v2; и (3) мутантной аминокислотной последовательности fHbp v3. Этот полипептид может после введения животному-хозяину вызывать образование антител, которые связываются с каждым из: менингококкового полипептида fHbp, состоящего из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 46; менингококкового полипептида fHbp, состоящего из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 4; и менингококкового полипептида fHbp, состоящего из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 40. Последовательность (1) может содержать аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере $k\%$ идентичность последовательности SEQ ID NO: 16. Последовательность (2) может содержать аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере $k\%$ идентичность последовательности SEQ ID NO: 5, но отличается от последовательности SEQ ID NO: 5 по одному или более чем одному из следующих остатков: S32, V33, L39, L41, F69, V100, I113, F122, L123, V124, S125, G126, L127, G128, S151, H239 и/или E240. Последовательность (3) может содержать аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере $k\%$ идентичность последовательности SEQ ID NO: 17, но отличается от последовательности SEQ ID NO: 17 по одному или более чем одному из следующих остатков: S32, I33, L39, L41, F72, V103, T116, F125, L126, V127, S128, G129, L130, G131, S154, H242 и/или E243. В предпочтительном воплощении: последовательность (1) содержит последовательность SEQ ID NO: 16, возможно модифицированную единичными аминокислотными изменениями в количестве до 5 (т.е. 1, 2, 3, 4 или 5 единичными аминокислотными заменами, делециями и/или вставками); последовательность (2) содержит последовательность SEQ ID NO: 45, возможно модифицированную единичными аминокислотными изменениями в количестве до 5 (т.е. 1, 2, 3, 4 или 5 единичными аминокислотными заменами, делециями и/или вставками), при условии, что такие аминокислотные изменения не изменяют мутации в этих последовательностях на противоположные относительно последовательности дикого типа; и последовательность (3) содержит последовательность SEQ ID NO: 44, возможно модифицированную до 5 единичными аминокислотными изменениями (т.е. 1, 2, 3, 4 или 5 единичными аминокислотными заменами, делециями и/или вставками, например с

получением последовательности SEQ ID NO: 53), при условии, что такие аминокислотные изменения не изменяют мутации в этих последовательностях на противоположные относительно последовательности дикого типа. Аминокислотные последовательности (1), (2) и (3) могут быть расположены в любом порядке от N- к C-концу в полипептиде, но предпочтительно в порядке (2), затем (3), затем (1). Например, в изобретении предложен полипептид формулы –A-B-C– где: A содержит последовательность SEQ ID NO: 45, возможно модифицированную единичными аминокислотными заменами в количестве до 3; B содержит последовательность SEQ ID NO: 44, возможно модифицированную единичными аминокислотными заменами в количестве до 3; и C содержит последовательность SEQ ID NO: 16, возможно модифицированную единичными аминокислотными заменами в количестве до 3 (например, замена(ы) для нарушения связывания с fH). Предпочтительный C содержит последовательность SEQ ID NO: 49, где остаток Arg-34 подвергнут мутации до Ser, как сообщается для мутации 'R41S' в источнике 21.

Особенно предпочтительный полипептид содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 47. Эта последовательность включает от N-концу к C-концу: мутант v2 (SEQ ID NO: 45); мутант v3 (SEQ ID NO: 44); и мутант v1 (SEQ ID NO: 49). Между этими тремя мутантными последовательностями fHbp в каждом случае находится связывающая последовательность SEQ ID NO: 50. В одном из воплощений полипептид содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 48, которая имеет N-концевой метионин, затем последовательность SEQ ID NO: 37 и затем последовательность SEQ ID NO: 47.

Последовательность SEQ ID NO: 47 (сама по себе или в последовательности SEQ ID NO: 48) возможно может быть модифицирована единичными аминокислотными изменениями в количестве до 5 (т.е. 1, 2, 3, 4 или 5 единичными аминокислотными заменами, делециями и/или вставками), при условии, что такие аминокислотные изменения не изменяют мутации в последовательностях v1, v2, и v3 на противоположные относительно последовательности дикого типа, т.е. аминокислотные остатки V32, R123, V285, R379 и S543 последовательности SEQ ID NO: 47 не должны подвергаться мутации до S32, L123, S285, L379, и R543. Тем не менее, в одном из

исключительных воплощений V285 может изменяться назад до S285, и/или V32 может изменяться назад до S32.

Слияние мутантных последовательностей может в идеале вызывать образование антител, которые связываются с каждым из следующих: менингококковым полипептидом дикого типа v1 fHbp, состоящим из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 46; менингококковым полипептидом дикого типа v2 fHbp, состоящим из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 4; и менингококковым полипептидом дикого типа v3 fHbp, состоящим из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 40.

Помимо полипептидных антигенов *Neisseria* композиция может включать антигены для иммунизации против других заболеваний или инфекций. Например, композиция может включать один или более чем один из следующих дополнительных антигенов:

- сахаридный антиген *N.meningitidis* серогрупп А, С, W135 и/или Y, такой как сахарид, раскрытый в источнике 57 из серогруппы С (смотри также источник 58) или в источнике 59;
- сахаридный антиген *Streptococcus pneumoniae* [например 60, 61, 62];
- антиген вируса гепатита А, такой как инактивированный вирус [например 63, 64];
- антиген вируса гепатита В, такой как поверхностные и/или ядерные антигены [например 64, 65];
- дифтерийный антиген, такой как дифтерийный анатоксин [например глава 3 из источника 66], например мутант CRM₁₉₇ [например 67];
- столбнячный антиген, такой столбнячный анатоксин [например, глава 4 из источника 66];
- антиген *Bordetella pertussis*, такой как коклюшный холотоксин (PT) и филаментный гемагглютинин (FHA) из *B.pertussis*, возможно также в комбинации с пертактином и/или агглютиногенами 2 и 3 (например, источники 68 и 69);
- сахаридный антиген *Haemophilus influenzae* В [например 58];
- полиовирусный(е) антиген(ы) (например 70, 71], такой как IPV;
- антигены кори, свинки и/или краснухи (например главы 9, 10 и 11 из источника 66);

- антиген(ы) гриппа (например, глава 19 из источника 66), такие как поверхностные белки гемагглютинин и/или нейраминидаза;
- антиген *Moraxella catarrhalis* [например 72];
- белковый антиген *Streptococcus agalactiae* (стрептококк группы В) [например, 73, 74];
- сахаридный антиген *Streptococcus agalactiae* (стрептококк группы В);
- антиген *Streptococcus pyogenes* (стрептококк группы А) [например, 74, 75, 76];
- антиген *Staphylococcus aureus* [например 77].

Композиция может содержать один или более чем один из этих дополнительных антигенов.

Токсичные белковые антигены при необходимости могут быть обезврежены (например, обезвреживание коклюшного токсина при помощи химических и/или генетических способов [69]).

В том случае, когда в композицию включен дифтерийный антиген, тогда предпочтительно также включать столбнячный антиген и коклюшные антигены. Аналогично, когда включен столбнячный антиген, тогда предпочтительно также включать дифтерийный и коклюшный антигены. Аналогично, когда включен коклюшный антиген, тогда предпочтительно также включать дифтерийный и столбнячный антигены. Таким образом, предпочтительны комбинации DTP.

Сахаридные антигены предпочтительно находятся в форме конъюгатов. Белки-носители для конъюгатов более подробно обсуждаются ниже.

Антигены в композиции как правило будут представлены в концентрации, составляющей по меньшей мере 1 мкг/мл для каждого. В общем, концентрация любого данного антигена будет достаточной для того, чтобы вызвать иммунный ответ против такого антигена.

Иммуногенные композиции по изобретению можно применять терапевтически (т.е. для лечения существующей инфекции) или профилактически (т.е. для предотвращения будущей инфекции).

В качестве альтернативы применению белковых антигенов в иммуногенных композициях по изобретению можно использовать нуклеиновую кислоту (которая может представлять собой РНК, такую как

самореплицирующаяся РНК, или ДНК, такая как плаزمид), кодирующую антиген.

В некоторых воплощениях композиция по изобретению содержит кроме последовательности fHBP конъюгированные капсульные сахаридные антигены из 1, 2, 3 или 4 менингококковых серогрупп A, C, W135 и Y. В других вариантах композиция по изобретению содержит кроме последовательности fHBP по меньшей мере один конъюгированный пневмококковый капсульный сахаридный антиген

Менингококковые серогруппы Y, W135, C и A

Современные вакцины серогруппы C (Menjugate™ [57,78], Meningitec™ и NeisVac-C™) включают конъюгированные сахараиды. Menjugate™ и Meningitec™ имеют олигосахаридные антигены, конъюгированные с носителем CRM₁₉₇, тогда как для NeisVac-C™ используют полный полисахарид (де-О-ацетилованный), конъюгированный с носителем в виде столбнячного анатоксина. Вакцина Menactra™ содержит конъюгированные капсульные сахаридные антигены из каждой из серогрупп Y, W135, C и A.

Композиции по настоящему изобретению могут включать капсульные сахаридные антигены из одной или более чем одной серогруппы менингококков Y, W135, C и A, где антигены конъюгированы с белком-носителем (белками-носителями) и/или представляют собой олигосахариды. Например, композиция может включать капсульный сахаридный антиген из: серогруппы C; серогрупп A и C; серогрупп A, C и W135; серогрупп A, C и Y; серогрупп C, W135 и Y; или из всех четырех серогрупп A, C, W135 и Y.

Типичное количество каждого менингококкового сахаридного антигена на дозу составляет от 1 мкг до 20 мкг, например, приблизительно 1 мкг, приблизительно 2,5 мкг, приблизительно 4 мкг, приблизительно 5 мкг или приблизительно 10 мкг (выраженное в расчете на сахарид).

Когда смесь содержит капсульные сахараиды из обеих серогрупп A и C, тогда соотношение (масс./масс.) сахараид MenA:сахарид MenC может быть больше 1 (например 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 10:1 или выше). Когда смесь содержит капсульные сахараиды из серогруппы Y и одной или обеих серогрупп C и W135, тогда соотношение (масс./масс.) сахараид Men Y:сахарид MenW135 может быть больше 1 (например 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 10:1 или выше) и/или такое соотношение

(масс./масс.) сахарид MenY:сахарид MenC может быть меньше 1 (например 1:2, 1:3, 1:4, 1:5 или ниже). Предпочтительные соотношения (масс./масс.) для сахаридов серогрупп A:C:W135:Y составляют: 1:1:1:1; 1:1:1:2; 2:1:1:1; 4:2:1:1; 8:4:2:1; 4:2:1:2; 8:4:1:2; 4:2:2:1; 2:2:1:1; 4:4:2:1; 2:2:1:2; 4:4:1:2 и 2:2:2:1. Предпочтительные соотношения (масс./масс.) сахаридов из серогрупп C:W135:Y составляют: 1:1:1; 1:1:2; 1:1:1; 2:1:1; 4:2:1; 2:1:2; 4:1:2; 2:2:1 и 2:1:1. Предпочтительно использование по существу равных масс каждого сахарада.

Капсульные сахарады можно использовать в форме олигосахаридов. Они обычно образуются при фрагментации очищенного капсульного полисахарида (например, путем гидролиза), после которой обычно следует очистка фрагментов желаемого размера.

Фрагментацию полисахаридов предпочтительно осуществляют, получая конечную среднюю степень полимеризации (DP) в олигосахариде менее чем 30 (например, от 10 до 20, предпочтительно приблизительно 10 для серогруппы A; от 15 до 25 для серогрупп W135 и Y, предпочтительно приблизительно 15-20; от 12 до 22 для серогруппы C; и т.д.). DP обычно можно измерить с использованием ионообменной хроматографии или с помощью колориметрических анализов [79].

Если осуществляют гидролиз, то гидролизат, как правило, будет подвергнут сортировке по размеру, чтобы удалить короткие олигосахариды [58]. Это можно осуществить различными путями, такими как ультрафильтрация с последующей ионообменной хроматографией. Олигосахариды со степенью полимеризации меньше или равной приблизительно 6 предпочтительно удаляют в случае серогруппы A, и со степенью полимеризации меньше чем приблизительно 4 предпочтительно удаляют в случае серогрупп W135 и Y.

Предпочтительные сахаридные антигены MenC раскрыты в источнике 78, такие как используемые в Menjugate™.

Сахаридный антиген может быть химически модифицирован. Последнее особенно полезно для восстанавливающего гидролиза в случае серогруппы A [80]. Может быть осуществлено де-О-ацетилирование менингококковых сахаридов. В случае олигосахаридов модификация может происходить до или после деполимеризации.

Когда композиция согласно изобретению включает сахаридный антиген MenA, тогда антиген предпочтительно представляет собой модифицированный сахарид, в котором одна или более чем одна гидроксильная группа нативного сахарада заменена блокирующей группой [80]. Такая модификация повышает устойчивость к гидролизу.

Ковалентная конъюгация

Капсульные сахарады в композициях по изобретению обычно могут быть конъюгированы с белком-носителем (белками-носителями). Как правило, конъюгирование усиливает иммуногенность сахаридов, так как превращает их из Т-независимых антигенов в Т-зависимые антигены, таким образом, обеспечивая примирование иммунологической памяти. Конъюгирование особенно полезно для педиатрических вакцин и представляет собой хорошо известный способ.

Типичные белки-носители представляют собой бактериальные токсины, такие как дифтерийный или столбнячный токсины, или анатоксины или их мутанты. Полезен мутант дифтерийного токсина CRM₁₉₇ [81], и он является носителем в продукте PREVNAR™. Другие подходящие белки-носители представляют собой комплекс белков наружной мембраны *N. meningitidis* [82], синтетические пептиды [83,84], белки теплового шока [85,86], коклюшные белки [87,88], цитокины [89], лимфокины [89], гормоны [89], факторы роста [89], искусственные белки, содержащие множественные эпитопы Т-клеток CD4⁺человека из различных полученных из патогенов антигенов [90], такие как N19 [91], белок D из *H. influenzae* [92-94], пневмолизин [95] или его нетоксичные производные [96], пневмококковый поверхностный белок PspA [97], белки, связывающие железо [98], токсин А или В из *C. difficile* [99], рекомбинантный экзобелок А *P. aeruginosa* (rEPA) [100] и т.д.

Можно использовать любую подходящую реакцию конъюгирования, при необходимости с любым подходящим линкером.

Сахарид обычно может быть активирован или функционализирован перед конъюгированием. Для активации можно использовать, например, цианилирующие реагенты, такие как CDAP (например, 1-циано-4-диметиламинопиридиний тетрафторборат [101, 102 и т.п.]). В других подходящих способах используют карбодиимиды, гидразиды, активные

сложные эфиры, норборан, *пара*-нитробензойную кислоту, N-гидроксисукцинимид, S-NHS, EDC (1-этил-3-[3-диметиламинопропил]карбодиимид), TSTU (O-(N-сукцинимидил)-1,1,3,3-тетраметилуроний тетрафторборат) и т.д.

Связывание через линкерную группу может быть осуществлено с использованием любого известного способа, например способов, описанных в источниках 103 и 104. Один из типов связывания заключается в восстановительном аминировании полисахарида, связывании полученной аминогруппы с одним концом линкерной группы на основе адипиновой кислоты и затем связывании белка с другим концом линкерной группы на основе адипиновой кислоты [105, 106]. Другие линкеры включают В-пропионамидогруппу [107], нитрофенилэтиламин [108], галоацилгалогениды [109], гликозидные связи [110], 6-аминокапроновую кислоту [111], ADH [112], группировки C₄-C₁₂ [113] и т.п. В качестве альтернативы использованию линкера можно использовать прямое связывание. Прямое связывание с белком может включать окисление полисахарида с последующим восстановительным аминированием с использованием белка, как описано, например, в источниках 114 и 115.

Предпочтительным является способ, включающий введение аминогрупп в сахарид (например, путем замены концевых =O-групп на группу -NH₂) с последующей дериватизацией сложными диэфирами адипиновой кислоты (например, сложным N-гидроксисукцинимидодиэфиром адипиновой кислоты) и путем взаимодействия с белком-носителем. В другой предпочтительной реакции используют активацию CDAP белком-носителем D, например, в случае MenA или MenC.

Везикулы наружной мембраны

Некоторые композиции по изобретению не включают сложные или неопределенные смеси антигенов, которые представляют собой типичные характеристики OMV (везикул наружной мембраны). Тем не менее, изобретение может быть использовано в сочетании с OMV, так как обнаружили, что fHbp усиливает их эффективность [4], в частности, в результате сверхэкспрессии полипептидов по изобретению в штаммах, используемых для получения OMV. Также смотри ниже.

Данный подход в общем можно применять для улучшения препаратов микровезикул *N. meningitidis* серогруппы В [116], "нативных OMV" [117], пузырьков или везикул наружной мембраны [например источники 118-123 и т.д.]. Они могут быть получены из бактерий, с которыми были проведены генетические манипуляции [124-127], например для увеличения иммуногенности (например, сверхэкспрессия иммуногенов), для уменьшения токсичности, для ингибирования синтеза капсульных полисахаридов, для понижающей регуляции экспрессии PorA и т.д. Везикулы могут быть получены из штаммов со сверхпузырением (hyperblebbing strains) [128-131]. Могут быть включены везикулы из непатогенных *Neisseria* [132]. OMV могут быть получены без применения детергентов [133, 134]. Они могут экспрессировать белки, отличающиеся от белков *Neisseria* на своей поверхности [135]. Они могут быть истощены по LPS (липополисахаридам). Они могут быть смешаны с рекомбинантными антигенами [118, 136]. Можно использовать везикулы из бактерий с разными подтипами белков наружной мембраны класса I, например шестью разными подтипами [137, 138], используя две разных популяции генетически сконструированных везикул, каждая из которых презентрует три подтипа, или девятью разными подтипами, используя три разных популяции генетически сконструированных везикул, каждая из которых презентует три подтипа, и т.д. Полезные подтипы включают P1.7,16, P1.5-1,2-2, P1.19,15-1, P1.5-2,10, P1.12-1,13, P1.7-2,4, P1.22,14, P1.7-1,1, P1.18-1,3,6.

Клетки-хозяева

В изобретении предложена бактерия, которая экспрессирует полипептид по изобретению. Бактерия может представлять собой менингококк или *E.coli*. Бактерия может конститутивно экспрессировать полипептид, но в некоторых воплощениях экспрессия может быть под контролем индуцируемого промотора. Бактерия может сверхэкспрессировать полипептид (смотри источник 139). Экспрессия полипептида в идеале может не варьировать в зависимости от фазы.

В изобретении также предложены везикулы наружной мембраны, полученные из бактерии по изобретению (в частности из менингококка). В изобретении также предложен способ получения везикул из бактерии по изобретению. Везикулы, полученные из этих штаммов, предпочтительно

включают полипептид по изобретению, который должен находиться в везикулах в иммунодоступной форме, т.е. антитело, которое может связываться с очищенным полипептидом по изобретению, также должно быть способно связываться с полипептидом, который присутствует в везикулах.

Эти везикулы наружной мембраны включают любую протеолипосомную везикулу, полученную при разрушении или пузырении наружной мембраны менингококка с образованием из нее везикул, которые включают белковые компоненты наружной мембраны. Таким образом, термин включает OMV (иногда называемые "пузырьками"), микровезикулы (MV [1116]) и "нативные OMV" ("NOMV" [117]).

MV и NOMV представляют собой природные мембранные везикулы, которые образуются спонтанно во время роста бактерий и высвобождаются в культуральную среду. MV могут быть получены в результате выращивания *Neisseria* в бульонной культуральной среде, отделения целых клеток от меньших по размеру MV в бульонной культуральной среде (например путем фильтрации или низкоскоростного центрифугирования для того, чтобы осадить только клетки, а не меньшие по размеру везикулы), и затем сбора MV из обедненной клетками среды (например путем фильтрации, путем дифференциального осаждения или путем агрегации MV, путем высокоскоростного центрифугирования для осаждения MV). Штаммы для применения при получении MV как правило могут быть выбраны на основе количества MV, продуцируемых в культуре, например в источниках 130 и 131 описаны *Neisseria* с высокой продукцией MV.

OMV получают искусственно из бактерий, и они могут быть получены с использованием обработки детергентом (например дезоксихолатом), или при помощи недетергентных средств (например, смотри источник 134). Способы образования OMV заключаются в обработке бактерий детергентом на основе солей желчных кислот (например солей литохолевой кислоты, хенодезоксихолевой кислоты, урсодезоксихолевой кислоты, дезоксихолевой кислоты, холевой кислоты, урсохолевой кислоты и т.д., при этом дезоксихолат натрия [140 и 141] является предпочтительным для обработки *Neisseria*) при pH, достаточно высоком для того, чтобы не осаждал детергент [142]. Другие способы могут быть осуществлены по существу в отсутствие детергента [134] с

использованием таких способов, как обработка ультразвуком, гомогенизация, микрофлюидизация, кавитация, осмотический шок, измельчение, френч-пресс, смешивание и т.д. Способы без использования детергента или с использованием низкой концентрации детергента могут сохранять полезные антигены, такие как NspA и fHbp [134]. Таким образом, в способе можно использовать буфер для экстракции OMV, содержащий приблизительно 0,5% дезоксихолата или меньше, например приблизительно 0,2%, приблизительно 0,1%, меньше 0,05% или не содержать дезоксихолат.

Полезный способ получения OMV описан в источнике 143 и включает ультрафильтрацию неочищенных OMV вместо высокоскоростного центрифугирования. Способ может включать стадию ультрацентрифугирования после ультрафильтрации. OMV также могут быть очищены с использованием двухстадийного способа гель-фильтрации, описанного в источнике 154.

Везикулы для применения в изобретении могут быть получены из любого менингококкового штамма. Обычно везикулы получают из штамма серогруппы B, но их можно получать из других серогрупп, отличающихся от серогруппы B (например, в источнике 142 описан способ для серогруппы A), таких как A, C, W135 или Y. Штамм может иметь любой серотип (например, 1, 2a, 2b, 4, 14, 15, 16 и т.д.), любой сероподтип и любой иммунотип (например, L1; L2; L3; L3,3,7; L10 и т.д.). Менингококки могут быть из любой подходящей линии, включая гиперинвазивные и гипервирулентные линии, например из любой из следующих семи гипервирулентных линий: подгруппа I; подгруппа III; подгруппа IV-1; комплекс ET-5; комплекс ET-37; кластер A4; линия 3.

Бактерии по изобретению, кроме кодирования полипептида по изобретению, могут иметь одну или несколько дополнительных модификаций. Например, они могут иметь модифицированный ген *fur* [144]. Экспрессия *nspA* может подвергаться повышающей регуляции при сопутствующем нокауте *porA* и *cps*. Дополнительные нокаутированные мутанты *N. meningitidis* для получения OMV раскрыты, например, в источнике 150. В источнике 145 раскрыто конструирование везикул из штаммов, модифицированных для экспрессии шести разных подтипов PorA. Также можно использовать мутант *Neisseria* с низкими уровнями эндотоксина, достигаемыми в результате нокаута ферментов, вовлеченных в биосинтез LPS [146, 147]. В изобретении может

быть использован мутант *Neisseria*, сконструированный для уменьшения или отключения экспрессии по меньшей мере одного гена, вовлеченного в придание токсичности фрагменту липида А в LPS, в частности гена *lpxI* [148]. Аналогично, в изобретении может быть использован мутант *Neisseria*, сконструированный для уменьшения или отключения экспрессии по меньшей мере одного гена, вовлеченного в синтез или экспорт капсульного полисахарида, в частности генов *synX* и/или *ctrA*. Все эти или другие мутанты можно использовать в изобретении.

Таким образом, штамм, используемый в изобретении, в некоторых воплощениях может экспрессировать более одного подтипа PorA. Ранее были сконструированы 6-валентные и 9-валентные по PorA штаммы. Штамм может экспрессировать 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или 9 подтипов PorA: P1.7,16; P1.5-1,2-2; P1.19,15-1; P1.5-2,10; P1.12-1,13; P1.7-2,4; P1.22,14; P1.7-1,1 и/или P1.18-1,3,6. В других воплощениях штамм может быть подвергнут понижающей регуляции в отношении экспрессии PorA, например при которой количество PorA уменьшается по меньшей мере на 20% (например не менее 30%, не менее 40%, не менее 50%, не менее 60%, не менее 70%, не менее 80%, не менее 90%, не менее 95% и т.п.), или он даже нокаутирован по сравнению с уровнями дикого типа (например, по сравнению со штаммом H44/76).

В некоторых воплощениях штамм может сверхэкспрессировать (по сравнению с соответствующим штаммом дикого типа) некоторые белки. Например, штаммы могут сверхэкспрессировать NspA, белок 287 [118], fHBP [139], TbpA и/или TbpB [136], Cu,Zn-супероксиддисмутаза, HmbR и т.д.

Ген, кодирующий полипептид по изобретению, может быть интегрирован в бактериальную хромосому или может присутствовать в эпизомной форме, например в плазмиде.

Благоприятным образом для получения везикул, менингококк может быть генетически сконструирован так, чтобы гарантировать то, что экспрессия полипептида не подвергнется фазовым вариациям. Способы уменьшения или устранения фазовой вариабельности генной экспрессии у менингококков раскрыты в источнике 149. Например, ген может быть помещен под контроль конститутивного или индуцируемого промотора, или может быть удален или заменен на мотив ДНК, который ответственен за его фазовую вариабельность.

В некоторых воплощениях штамм может включать одну или более чем одну мутацию в результате нокаута и/или связанных со сверхэкспрессией мутаций, раскрытых в источниках 122, 124, 128 и 150. Например, в соответствии с руководством и номенклатурой в этих четырех источниках полезные гены для понижающей регуляции и/или нокаута включают: (а) *Cps*, *CtrA*, *CtrB*, *CtrC*, *CtrD*, *FrpB*, *GalE*, *HtrB/MsbB*, *LbpA*, *LbpB*, *LpxK*, *Opa*, *Opс*, *PilC*, *PorB*, *SiaA*, *SiaB*, *SiaC*, *SiaD*, *TbpA*, и/или *TbpB*; (б) *CtrA*, *CtrB*, *CtrC*, *CtrD*, *FrpB*, *GalE*, *HtrB/MsbB*, *LbpA*, *LbpB*, *LpxK*, *Opa*, *Opс*, *PhoP*, *PilC*, *PmrE*, *PmrF*, *SiaA*, *SiaB*, *SiaC*, *SiaD*, *TbpA*, и/или *TbpB*; (в) *ExbB*, *ExbD*, *ompM*, *CtrA*, *CtrB*, *CtrD*, *GalE*, *LbpA*, *LpbB*, *Opa*, *Opс*, *PilC*, *PorB*, *SiaA*, *SiaB*, *SiaC*, *SiaD*, *TbpA*, и/или *TbpB*; или (г) *CtrA*, *CtrB*, *CtrD*, *FrpB*, *OpA*, *OpC*, *PilC*, *PorB*, *SiaD*, *SynA*, *SynB*, *SynX* и/или *SynC*.

В случае использования мутантного штамма в некоторых воплощениях он может иметь одну или более чем одну, или все следующие характеристики: (1) пониженная регуляция или нокаут *LgtB* и/или *GalE* для усечения LOS (липоолигосахарид) менингококка; (2) повышенная регуляция *TbpA*; (3) повышенная регуляция *NhhA*; (4) повышенная регуляция *Omp85*; (5) повышенная регуляция *LbpA*; (6) повышенная регуляция *NspA*; (7) нокаут *PorA*; (8) пониженная регуляция или нокаут *FrpB*; (9) пониженная регуляция или нокаут *Opa*; (10) пониженная регуляция или нокаут *Opс*; (11) подвергнутый делеции комплекс генов *cps*. Усеченный LOS может представлять собой LOS, который не включает эпитоп сиалиллакто-N-неотетраозы, например, он может представлять собой дефицитный по галактозе LOS. LOS может не иметь α -цепь.

В зависимости от менингококкового штамма, используемого для получения везикул, они могут содержать или не включать антиген нативного fHBP данного штамма [151].

В одном из предпочтительных воплощений менингококк не экспрессирует функциональный белок *MltA*. Как обсуждается в источниках 152 и 153, нокаут *MltA* (связанной с мембраной литической трансгликозилазы, также известной как *GNA33*) у менингококка приводит к бактериям, которые спонтанно высвобождают большие количества мембранных везикул в культуральную среду, из которой они легко могут быть очищены. Например, везикулы могут быть очищены с использованием двухстадийного способа фильтрации по

размеру в соответствии с источником 154, включающего: (1) первую стадию фильтрования, на которой везикулы отделяют от бактерий на основе различия их размеров, причем везикулы проходят в фильтрат; и (2) вторую стадию фильтрования, на которой везикулы остаются в концентрате. Мутацию *MltA* (понижающая регуляция или нокаут) используют в вакцинах 'GMMA' [155], и она для удобства может быть комбинирована с дополнительной понижающей регуляцией или нокаутом в частности по меньшей мере одного гена, вовлеченного в придании токсичности фрагменту липида A в LPS, в частности *lpxI1*, и/или по меньшей мере одного гена, вовлеченного в синтез или экспорт капсульного полисахарида, в частности генов *synX* и/или *ctrA*. GMMA (генерализованные модули для мембранных антигенов) генетически обезвреживают OMV, которые получают из менингококковых штаммов, сконструированных для высвобождения GMMA, обладающих уменьшенной реакционностью и увеличенной иммуногенностью. GMMA индуцируют меньше провоспалительных цитокинов, чем OMV при тестировании в тесте активации моноцитов (MAT).

Предпочтительный менингококковый штамм для вакцины 'GMMA' с использованием этого подхода экспрессирует мутант v2 fHbp и/или мутант v3 fHbp по изобретению, и экспрессия может управляться сильными промоторами. Везикулы, высвобождаемые этим штаммом, включают мутантные белки v2 и/или v3 fHbp в иммуногенной форме, и введение везикул может обеспечивать бактерицидный антибактериальный ответ, как обсуждается в источнике 155. Штамм также может экспрессировать v1 fHbp, или вместо этого v1 fHbp может быть предложен в виде отдельного рекомбинантного белка в растворимой форме (и v1 fHbp может быть дикого типа или представлять собой мутантную последовательность, например подвергнутую мутации для нарушения ее способности связываться с fH, как обсуждается выше). В изобретении предложены такие штаммы, и также предложены везикулы, которые высвобождают эти штаммы, например очищенные из культуральных сред после роста штаммов. Предпочтительный для экспрессии в этих штаммах мутант v2 имеет мутацию по S32 и/или L123 в соответствии с обсуждаемым здесь, и предпочтительный для экспрессии в этих штаммах мутант v3 имеет мутацию по S32 и/или L126 в соответствии с обсуждаемым здесь. Таким

образом, везикулы, полученные из менингококков, экспрессирующих эти мутантные последовательности v2 и v3 fHbp, представляют собой особенно предпочтительные иммуногены для применения в вакцинах по изобретению. Таким образом, полезная для мутагенеза последовательность дикого типа v2 содержит SEQ ID NO: 51 или SEQ ID NO: 54 (содержащая форму ΔG SEQ ID NO: 55), и, таким образом, полезная для мутагенеза последовательность дикого типа v3 содержит SEQ ID NO: 52.

Полезные для использования в таких штаммах промоторы включают промоторы, обсуждаемые в источниках 156 и 157. Например, промотор может представлять собой: (а) промотор гена порина, предпочтительно *porA* или *porB*, в частности из *N.meningitidis*; или (б) промотор гена рРНК (такого как ген 16S рРНК), в частности из *N.meningitidis*. Когда используют менингококковый промотор порина, тогда он предпочтительно получен из *porA*, и более конкретно область -10 менингококкового промотора гена *porA* и/или область -35 менингококкового промотора гена *porA* (предпочтительно, где область -10 и область -35 разделены промежуточной последовательностью из 12-20 нуклеотидов, и где промежуточная последовательность или не содержит последовательность поли-G, или включает последовательность поли-G, имеющую не более чем восемь последовательных нуклеотидов G). Когда используют промотор гена рРНК, тогда он может содержать в частности (1) область -10 менингококкового промотора гена рРНК и/или (2) область -35 менингококкового промотора гена рРНК. Также возможно использовать гибрид (а) и (б), например имеющий область -10 промотора *porA* и область -35 промотора рРНК (которая может представлять собой консенсусную область -35). Таким образом, полезный промотор может представлять собой промотор, который включает или (1) область -10 (в частности менингококкового) гена рРНК и область -35 (в частности менингококкового) гена *porA*, или (2) область -10 (в частности менингококкового) гена *porA* и область -35 (в частности менингококкового) гена рРНК.

Если в везикуле присутствуют LOS, то можно обрабатывать везикулу таким образом, чтобы связывать его LOS и белковые компоненты (конъюгация “внутри везикулы” [150]).

Общая информация

Термин "содержащий" охватывает "включающий", а также "состоящий", например, композиция, "содержащая" X, может состоять исключительно из X или может что-то включать дополнительно, например, X+Y. Ссылки на "содержащий" (или "содержит" и т.п.) могут возможно быть заменены на "состоящий из" (или "состоит из" и т.п.). Термин "по существу состоящий из" ограничивает объем формулы изобретения конкретными материалами или стадиями "и теми, которые не влияют существенно на основную(ые) и новую(ые) характеристику(и)" заявленного изобретения.

Термин "приблизительно" в отношении численного значения x является дополнительным и означает, например, $x \pm 10\%$.

Слово "по существу" не исключает "полностью", например композиция, которая "по существу не содержит" Y, может совсем не содержать Y. При необходимости слово "по существу" может быть исключено из определения по изобретению.

"Идентичность последовательностей" может быть определена при помощи алгоритма поиска гомологии Смита-Ватермана, реализованного в программе MPSRCH (Oxford Molecular), с использованием поиска аффинного пропуска с параметрами *штрафа на внесение делеции в выравнивание*=12 и *штрафа на продолжение делеции* =1, но предпочтительно определена при помощи алгоритма глобального выравнивания Нидлемана-Вунша [158] с использованием параметров по умолчанию (например, штрафа на внесение делеции в выравнивание = 10,0 и штрафа на продолжение делеции = 0,5, используя матрицу подсчета EBLOSUM62). Этот алгоритм удобно реализован в инструменте *needle* в пакете EMBOSS [159]. Когда применение относится к идентичности последовательности к конкретной SEQ ID, тогда идентичность должна рассчитываться по всей длине этой SEQ ID.

Термин "фрагмент" в отношении полипептидных последовательностей означает, что полипептид представляет собой фракцию полноразмерного белка. Такие фрагменты могут оказывать качественную биологическую активность, такую же как полноразмерный белок, например фрагмент может содержать или кодировать один или более чем один эпитоп, такой как иммунодоминантные эпитопы, которые дают возможность для возникновения

похожего иммунного ответа на фрагмент, а также на полноразмерную последовательность. Полипептидные фрагменты как правило имеют делецию по N-концевому фрагменту и/или С-концевому фрагменту по сравнению с нативным белком, но где оставшаяся аминокислотная последовательность фрагмента идентична аминокислотной последовательности нативного белка. Полипептидные фрагменты могут содержать, например: пример 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 24, 26, 28, 40, 45, 50, 55, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262 последовательных аминокислот, включая все целочисленные значения между ними, референсной полипептидной последовательности, например от 50 до 260, от 50 до 255, от 50 до 250, от 50 до 200, от 50 до 150 последовательных аминокислот референсной полипептидной последовательности. Термин фрагмент однозначно исключает полноразмерные полипептиды fHbp и их зрелые липопротеины.

После определения серогруппы классификация менингококков включает серотип, сероподтип и затем иммунотип, и стандартная номенклатура указывает на серогруппу, серотип, сероподтип и иммунотип, каждые из которых отделены двоеточием, например B:4:P1.15:L3,7,9. В серогруппе B некоторые линии часто вызывают заболевание (гиперинвазивные), некоторые линии вызывают более тяжелые формы заболевания, чем другие (гипервирулентные), и другие совсем редко вызывают заболевание. Идентифицировано семь гипервирулентных линий, а именно подгруппы I, III и IV-1, комплекс ET-5, комплекс ET-37, кластер A4 и линия 3. Такие линии определены с использованием мультилокусного ферментативного электрофореза (MLEE), но для классификации менингококков также использовали мультилокусное типирование последовательностей (MLST). Четыре основных гипервирулентных кластера представляют собой комплексы ST32, ST44, ST8 и ST11.

В общем, изобретение не охватывает различные последовательности fHbp, в частности раскрытые в источниках 2, 3, 5, 6, 7, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166 и 167.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

Фиг. 1 демонстрирует отличающуюся чувствительность вариантов fHbp к расщеплению химотрипсином. Стрелка демонстрирует положение полноразмерных белков fHbp.

Фиг. 2 демонстрирует анализ путем вестерн-блоттинга мутантов v2 мутанты. Дорожки представляют собой: (1 и 2) рекомбинантный очищенный v2 дикого типа; (4) лизат v2 дикого типа; (5) мутант #1; (6) мутант #2; (7) мутант #4; (8) мутант #5; (9) мутант #7; (10) мутант #8; (11) мутант #12; (12) мутант #14 (13) мутант #15; (14) контроль fHbp var2 Δ G-trx, т.е. белок v2, где N-концевая последовательность GPDSRLQRR (SEQ ID NO: 37) заменена на GSKDISS (SEQ ID NO: 38). Дорожки 2-14 включали химотрипсин. M представляет собой молекулярные маркеры.

Фиг. 3 демонстрирует дополнительный анализ путем вестерн-блоттинга мутантов v2. Дорожки представляют собой: (1 и 2) мутант #3; (3 и 4) мутант #6; (5 и 6) мутант #9; (7 и 8) мутант #10; (9 и 10) мутант #13; (11 и 12) Δ gopv; (13 и 14) v2 дикого типа; (15 и 16) мутант #22. Нечетные дорожки относятся к белкам, которые были инкубированы без химотрипсина, тогда как четные дорожки относятся к белкам, которые были инкубированы с химотрипсином. Белок ' Δ gopv' представляет собой рекомбинантный v2, где N-концевая последовательность (SEQ ID NO: 37) удалена.

Фиг. 4 демонстрирует дополнительный анализ путем вестерн-блоттинга для мутантов v2. Дорожки представляют собой: (1 и 2) мутант #11; (3 и 4) N-trx; (5-7) мутант #19; (8 и 9) мутант #20; (10 и 11) мутант #21. Дорожки 2, 4, 7, 9 и 11 для белков, которые инкубировали с химотрипсином, тогда как другие дорожки были без химотрипсина. Белок 'N-trx' представляет собой рекомбинантный v2, где N-концевая последовательность (SEQ ID NO: 37) заменена на SEQ ID NO: 39.

Фиг. 5 демонстрирует результаты DSC для v2 fHbp дикого типа и мутанта S58V/L149R. На C-концевой домен не влияла мутация, но T_m N-концевого домена увеличивалась на $>20^\circ\text{C}$ (обозначена стрелкой). Ось y демонстрирует C_p (ккал/моль/ $^\circ\text{C}$), а ось x демонстрирует температуру ($^\circ\text{C}$).

Фиг. 6 демонстрирует ответ в SPR (поверхностном плазмонном резонансе) для v2 fHbp дикого типа (сплошная линия) и мутанта (пунктирная линия).

Фиг. 7 демонстрирует ответ в SPR для v3 fHbp, как дикого типа (сверху) или с различными мутациями.

Фиг. 8 демонстрирует результаты DSC для тройного слитого белка SEQ ID NO: 48. Оси являются такими как на Фиг.5.

КОНКРЕТНЫЕ ВОПЛОЩЕНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В изобретении предложены следующие конкретные пронумерованные воплощения:

1. Мутант v3 или v2 fHbp, который обладает повышенной стабильностью по сравнению с fHbp дикого типа и, предпочтительно, также обладает меньшей аффинностью в отношении человеческого фактора H, чем fHbp дикого типа;

например:

(A) полипептид, содержащий мутантную аминокислотную последовательность fHbp v2, где: (а) аминокислотная последовательность имеет по меньшей мере 80% идентичность последовательности SEQ ID NO: 5 и/или содержит фрагмент SEQ ID NO: 5, длина которого составляет по меньшей мере 7 аминокислот и который содержит по меньшей мере один из остатков, указанных в (б); но (б) аминокислотная последовательность отличается от SEQ ID NO: 5 по одному или более из следующих остатков: 32, 33, 39, 41, 69, 100, 113, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 151, 239, и/или 240; при условии, что:

- если мутантная аминокислотная последовательность fHbp v2 включает замену только по остатку 32, то либо эта замена не представляет собой замену на аланин, либо заменен по меньшей мере один дополнительный остаток, перечисленный в (б);

- если мутантная аминокислотная последовательность fHbp v2 включает замену только по остатку 113, то либо эта замена не представляет собой замену на аланин, либо заменен по меньшей мере один дополнительный остаток, перечисленный в (б).

- если мутантная аминокислотная последовательность fHbp v2 включает замену только по остатку 122, то либо эта замена не представляет собой замену на аланин, либо заменен по меньшей мере один дополнительный остаток, перечисленный в (б);

- если мутантная аминокислотная последовательность fHbp v2 включает замену по остатку 123, то либо эта замена не представляет собой

замену на аланин, либо заменен по меньшей мере один дополнительный остаток, перечисленный в (б);

- если мутантная аминокислотная последовательность fHbp v2 включает замену только по остатку 124, то либо эта замена не представляет собой замену на аланин, либо заменен по меньшей мере один дополнительный остаток, перечисленный в (б);

- если мутантная аминокислотная последовательность fHbp v2 включает замену только по остатку 127, то либо эта замена не представляет собой замену на аланин, либо заменен по меньшей мере один дополнительный остаток, перечисленный в (б); и

- если мутантная аминокислотная последовательность fHbp v2 включает замену только по остатку 240, то либо эта замена не представляет собой замену на аланин, либо заменен по меньшей мере один дополнительный остаток, перечисленный в (б).

или (Б) полипептид, содержащий мутантную аминокислотную последовательность fHbp v3, где: (а) аминокислотная последовательность обладает по меньшей мере 80% идентичностью последовательности SEQ ID NO: 17 и/или содержит фрагмент SEQ ID NO: 17, длина которого составляет по меньшей мере 7 аминокислот и который содержит по меньшей мере один из остатков, перечисленных в (б); но (б) аминокислотная последовательность отличается от SEQ ID NO: 17 по одному или более чем одному из следующих остатков: 32, 33, 39, 41, 72, 103, 116, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 154, 242, и/или 243; при условии, что:

- если мутантная аминокислотная последовательность fHbp v3 включает замену по остатку 32, то либо эта замена не представляет собой замену на аланин, либо заменен по меньшей мере один дополнительный остаток, перечисленный в (б);

- если мутантная аминокислотная последовательность fHbp v3 включает замену по остатку 113, то либо эта замена не представляет собой замену на аланин, либо заменен по меньшей мере один дополнительный остаток, перечисленный в (б).

- если мутантная аминокислотная последовательность fHbp v3 включает замену только по остатку 125, то либо эта замена не представляет

собой замену на аланин, либо заменен по меньшей мере один дополнительный остаток, перечисленный в (б);

- если мутантная аминокислотная последовательность fHbp v3 включает замену по остатку 126, то либо эта замена не представляет собой замену на аланин, либо заменен по меньшей мере один дополнительный остаток, перечисленный в (б);

- если мутантная аминокислотная последовательность fHbp v3 включает замену по остатку 127, то либо эта замена не представляет собой замену на аланин, либо заменен по меньшей мере один дополнительный остаток, перечисленный в (б);

- если мутантная аминокислотная последовательность fHbp v3 включает замену по остатку 130, то либо эта замена не представляет собой замену на аланин, либо заменен по меньшей мере один дополнительный остаток, перечисленный в (б); и

- если мутантная аминокислотная последовательность fHbp v3 включает замену только по остатку 243, то либо эта замена не представляет собой замену на аланин, либо заменен по меньшей мере один дополнительный остаток, перечисленный в (б).

2. Полипептид в соответствии с воплощением 1(Б), где аминокислотная последовательность отличается от SEQ ID NO: 17 заменой по одному или более чем одному из остатков, перечисленных в (б); например, где замена(ы) выбрана(ы) из группы, состоящей из: S32V; I33C; L39C; L41C; F72C; V103T; T116S; F125C; L126R; V127I; S128G или S128T; G129D; L130I; G131A; S154C; H242R; и E243H.

3. Полипептид в соответствии с воплощением 1(Б) или воплощением 2, содержащий более чем одну замену по остаткам, перечисленным в (б), и выбранную из групп 3А-3П, как указано выше.

4. Полипептид в соответствии с воплощением 1(А), где аминокислотная последовательность отличается от SEQ ID NO: 5 заменой по одному или более чем одному из остатков, перечисленных в (б); например, когда замена(ы) выбрана(ы) из группы, состоящей из: S32V; V33C; L39C; L41C; F69C; V100T; I113S; F122C; L123R; V124I; S125G или S125T; G126D; L127I; G128A; S151C; H239R; и E240H.

5. Полипептид в соответствии с воплощением 1(A) или воплощением 4, содержащий более чем одну замену по остаткам, перечисленным в (б), и выбранную из групп 2А-2П, как указано выше.

6. Полипептид в соответствии с любым из воплощений 1-5, также включающий одну или более чем одну дополнительную(ые) мутацию(и), которая(ые) нарушает(ют) способность полипептида связываться с человеческим фактором H; например, v2, включающий замену по одному или более чем одному из R73, D203, E210, G228, S121, F122, L123, A192, E194, V199, I200, L201, T213, H215, F219, T231, и E240, или v3, включающий замену по одному или более чем одному из Q35, I178, L87, A88, L126, V127, V202, E213, T216, T234, V241, и E243.

7. Полипептид, содержащий:

- аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 44, возможно с 1, 2, 3, 4 или 5 единичными аминокислотными заменами, делециями и/или вставками, где полипептид может вызывать образование антител, которые связываются с менингококковым полипептидом fHbp, состоящим из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 40 (например, содержащим аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 44 с 1, 2 или 3 единичными аминокислотными заменами), но без мутации по остатку V32 или R126;
- аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 45, возможно с 1, 2, 3, 4 или 5 единичными аминокислотными заменами, делециями и/или вставками, где полипептид может вызывать образование антител, которые связываются с менингококковым полипептидом fHbp, состоящим из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 2 (например, содержащим аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 45 с 1, 2, или 3 единичными аминокислотными заменами), но без мутации по остатку V32 или R123;
- аминокислотная последовательность fHbp v3, которая идентична аминокислотной последовательности v3 дикого типа, за исключением мутации по аминокислотному положению, соответствующему Leu-126 в SEQ ID NO: 17, при условии, что мутация не представляет собой замену на аланин (например, когда мутация представляет собой замену на аргинин);
- аминокислотная последовательность fHbp v2, которая идентична аминокислотной последовательности v2 дикого типа, за исключением мутации

по аминокислотному положению, соответствующему Leu-123 в SEQ ID NO: 5, при условии, что мутация не представляет собой замену на аланин (например, когда мутация представляет собой замену на аргинин); или

- аминокислотная последовательность SEQ ID NO: 47, возможно с 1, 2, 3, 4 или 5 единичными аминокислотными заменами, делециями и/или вставками, где полипептид может вызывать образование антител, которые связываются с каждым из: менингококкового полипептида fHbp, состоящего из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 46; менингококкового полипептида fHbp, состоящего из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 4; и менингококкового полипептида fHbp, состоящего из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 40 (например, состоящего из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 48).

8. Плазмида или другая нуклеиновая кислота, содержащая нуклеотидную последовательность, кодирующую полипептид в соответствии с любым из воплощений 1-7.

9. Клетка-хозяин, трансформированная плазмидой в соответствии с воплощением 8; например где клетка представляет собой бактерию менингококк, такую как бактерия менингококк, имеющую понижающую регуляцию или нокаут гена *mltA* и также возможно имеющую понижающую регуляцию или нокаут: (1) по меньшей мере одного гена, вовлеченного в придание токсичности фрагменту липида A в LPS, в частности гена *lpxI1*; и/или (2) по меньшей мере одного гена, вовлеченного в синтез или экспорт капсульного полисахарида или, в частности *synX* и/или *ctrA*.

10. Мембранные везикулы, полученные из клетки-хозяина в соответствии с воплощением 9, которые включают полипептид в соответствии с любым из воплощений 1-7.

11. Иммуногенная композиция, содержащая полипептид в соответствии с любым из воплощений 1-7, или везикулу в соответствии с воплощением 10.

12. Композиция в соответствии с воплощением 11, дополнительно содержащая второй полипептид, который при введении млекопитающему вызывает ответ в виде антител, которые являются бактерицидными в отношении менингококка.

13. Композиция в соответствии с воплощением 11 или 12, дополнительно содержащая (1) конъюгированный капсульный сахарид *N.meningitidis* серогруппы A, C, W135 и/или Y, и/или (2) конъюгированный капсульный сахарид *S.pneumoniae*.

14. Способ индуцирования антительного ответа у млекопитающего, включающий введение иммуногенной композиции в соответствии с любым из воплощений 11-13.

СПОСОБЫ РЕАЛИЗАЦИИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Мутации fHbp

Считается, что v2 fHbp является нестабильным. Для анализа лежащих в основе этого нежелательного свойства структурных причин с намерением сконструировать последовательность для улучшения стабильности, авторы изобретения проанализировали выравнивание последовательности и 3D структуры полипептидов fHbp. Одна из областей конкретного интереса представляла собой структурную границу между N-концевым и C-концевым доменами [168].

Авторы изобретения идентифицировали мутации, разъясняемые в таблице 1. Три из положений, идентифицированных для мутации, перекрываются с источниками 24 и 25, но изобретение не охватывает полипептиды, о которых сообщалось в предшествующем уровне техники, т.е. когда полипептиды включают замены исключительно по этим положениям на аланин. Например, E240 может быть заменен на гистидин для того, чтобы соответствовать v1, и предпочтительно находится в сочетании с заменой по остатку H239 (мутанты #1 и #11). Аналогично, если F122 заменен, то он предпочтительно находится в сочетании с заменой по S151, оба с цистеином для того, чтобы дать возможность для образования дисульфидной мостиковой связи (мутант #10). Кроме того, если L123 заменен, то он может быть заменен на аргинин (нежели чем на аланин), или он может находиться в сочетании с заменой по другим остаткам, например по S32 (смотри мутант #3), по S125 (смотри мутанты #20 и #22), или с заменой по остаткам 124-128 (смотри мутант #12).

Исследования стабильности

Нестабильные белки имеют тенденцию к меньшему сворачиванию и по этой причине предрасположены к расщеплению и деградации протеазами. Фиг. 1 демонстрирует, что v2 fHbp более чувствителен к деградации химотрипсином, нежели чем v1 и v3, и, таким образом, этот тест может быть использован для оценки стабильности мутантных белков.

Для Фиг. 1, v1, v2 и v3 fHbp дикого типа готовили в концентрации 0,5 мг/мкл в 50 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, pH 8. Химотрипсин добавляли в отношении 1:100 (масс./масс.). Образцы инкубировали при 24°C в объеме 50 мл без встряхивания. Образцы экстрагировали и кипятили в течение 0, 1, 3 или 6 часов; затем анализировали на 12% геле бис-Tris (буфер MES). Полоса слева, обозначенная *, указывает на образец, инкубируемый в течение 6 часов без протеазы.

Клеточные лизаты *E. coli*, экспрессирующей рекомбинантные белки, инкубировали с химотрипсином в отношении 1:100 масс./масс. в течение 3 часов при 25°C. Картину деградации анализировали при помощи вестерн-блоттинга с последующей инкубацией с иммунной поликлональной сывороткой крови, образующейся у кролика против всех трех вариантов fHbp. Присутствие продуктов расщепления с меньшей кажущейся молекулярной массой (Фиг. 2-4) интерпретируется как показатель нестабильности, тогда как присутствие полосы, соответствующей кажущейся MW приблизительно 30 кДа интерпретируется как показатель увеличенной стабильности. Все мутанты #1-6, #12 и #22 продемонстрировали увеличенную устойчивость к расщеплению химотрипсином по сравнению с диким типом v2.

DSC использовали в качестве независимого подхода для оценки действия мутаций в отношении стабильности очищенных рекомбинантных белков fHbp v2. T_m (температура плавления), измеренная при помощи DSC, соответствует температуре, при которой анализируемый белок на 50% находится в свернутом состоянии и на 50% в развернутом состоянии. Изменения, которые стабилизируют конформацию белка, увеличивают T_m , тогда как дестабилизирующие изменения уменьшают T_m . Как видно на Фиг. 3D в источнике 24, профиль DSC для v2 fHbp дикого типа демонстрирует два значения T_m : T_{m1} при приблизительно 40°C, которая соответствует

температуре плавления N-концевого домена, и T_{m2} при приблизительно 80°C, соответствующая температуре плавления C-концевого домена. Значения T_{m1} и T_{m2} для анализируемых мутантов представлены в таблице 1. Мутанты #2, #4, #5, #12, #19 и #21 демонстрировали уменьшенную T_m для N-концевого домена по сравнению с белком дикого типа, и это действие было более значительным для мутантов #2, #4 и #12.

Гель-фильтрационную хроматографию (SEC) использовали для оценки процента мономерного белка, и результаты также представлены в таблице 1.

Мутанты #2, #3 и #4

Мутант #3 (группа 2Б) продемонстрировал самые лучшие суммарные результаты в исследованиях стабильности v2. Этот белок (SEQ ID NO: 20) включает мутации по Ser-58 (S32 в SEQ ID NO: 5) и Leu-149 (L123 в SEQ ID NO: 5), с заменами на Val и Arg, соответственно. Мутантный белок v2 (SEQ ID NO: 20, содержащий SEQ ID NO: 45) анализировали при помощи DSC и, по сравнению с последовательностью дикого типа, T_m для его N-концевого домена была более чем на 20°C выше (Фиг. 5).

В бактерицидном анализе сыворотки крови этот мутант v2 может конкурировать за связывание с человеческими антителами, которые возникают при использовании последовательности v2 дикого типа.

Хотя мутации S58V и L149R введены для улучшения стабильности и действительно достигли этой цели, Фиг. 6 демонстрирует, что мутантный полипептид v2 (пунктирная линия) неожиданно демонстрировал намного уменьшенное связывание с fH по сравнению с последовательностью v2 дикого типа (сплошная линия) при измерении при помощи поверхностного плазмонного резонанса против иммобилизованного fH. Сама мутация S58V оказывает небольшое воздействие на связывание fH, и двойной мутант S58V/L149R демонстрировал более высокое связывание с fH чем с fHbp, несущем только мутант L149R.

Когда мутант #3 дополнительно комбинировали с мутацией 'E313A' в v2, тогда обнаружена полная потеря связывания fH, измеряемая при помощи SPR.

Эквивалентные мутации вводили в последовательность v3 (SEQ ID NO: 17) с получением мутанта v3 SEQ ID NO: 44. Действия индивидуальных мутаций S58V и L149R на связывание fH исследовали в v3 (т.е. эквиваленты v3

мутантов v2 #2 и #4). Таким образом, пронумерованную в соответствии с SEQ ID NO: 17 мутацию S32V или L126R вводили в последовательность v3. Эти два мутанта сравнивали с двумя отличающимися последовательностями v3 дикого типа, и также с мутантом 'E313A', который, как известно, нарушает связывание с fH в v3 [23].

Как представлено на Фиг. 7, v3 дикого типа связывается с fH (две верхние полосы). Мутация S58V, которая была сконструирована для улучшения стабильности, уменьшала величину пика SPR приблизительно в 2 раза. Самое неожиданное то, что мутация L149R (опять же сконструированная для улучшения стабильности) уменьшала аффинность fH на уровень, близкий к уровню для известного мутанта E313A (нижние две полосы).

Мутации S58V и L149R в v3 также исследовали при помощи DSC, и обнаружили, что они увеличивают T_m для N-конца на 5,5°C (S58V) или на 6,7°C (L149R) по сравнению с диким типом. T_m для обоих мутантов была выше, чем обнаруженная в двойном мутанте v2 (63,5°C – смотри таблицу 1). Мутант L149R v3 также демонстрировал более высокое значение T_m для своего C-концевого домена, тогда как почти отсутствовал сдвиг для мутанта S58V v3. SPR продемонстрировал, что связывание с fH мутанта #2 уменьшалось приблизительно вдвое, но для мутанта #4 аффинность к fH уменьшалась до уровня, близкого к известному мутанту E313A (в соответствии с также обнаруженным для v2). Когда комбинировали две мутации (т.е. мутант #3), тогда T_m увеличение по сравнению с диким типом составило 11,2°C. Когда мутацию 'E313A' добавляли к мутанту #3, тогда связывание с fH полностью устранялось, хотя T_m для N-концевого домена также уменьшалась на 2,9°C при сравнении с мутантом #3 (оставаясь на 8,3°C выше чем для v3 дикого типа). Сама мутация 'E313A' была гораздо менее стабильной, чем дикий тип, демонстрируя уменьшение T_m на 6,3°C.

Таким образом, мутации #2 и #4 могут быть использованы сами по себе или в комбинации (т.е. мутант #3), возможно с дополнительными мутациями для стабилизации v2 или v3 fHbp, а также для нарушения аффинности к fH.

Бактерицидный анализ с сывороткой использовали для оценки иммуногенной эффективности мутантов #3 и #4 в v2 и v3. Кроме того, мутант 'E313A' также тестировали в v2 и v3, сам по себе или в комбинации с

мутациями #3. Для сравнения, также тестировали v2 и v3 fHbp дикого типа. Белки вводили в количестве 20 мкг/дозу с гидроксидом алюминия в качестве адъюванта, и образующуюся в результате сыворотку крови тестировали в отношении бактерицидной активности против панели семи штаммов (четыре штамма v2, три штамма v3), включающих штаммы, которые экспрессируют тот же самый fHbp, как исходные последовательности fHbp дикого типа (т.е. последовательность v2 2.16 и последовательность v3 3.42).

Результаты для белков v2 также были следующими (SEQ ID для формы ΔG ; * = гомологичный fHbp):

Белок	SEQ ID	SBA против штаммов v2				SBA против штаммов v3		
		v2.16*	v2.19	v2.21	v2.24	v3.42*	v3.28	v3.30
Дикий тип	5	32768	32	32	1024	>32768	<16	32
#4	21	32768	<16	<16	128	1024	<16	16
#3	45	4096	32	<16	<16	>32768	128	<16
#3+E313A	57	4096	16	<16	<16	>32768	<16	<16
E313A	56	128	16	<16	<16	4096	<16	<16

Результаты для белков v3 были следующими:

Белок	SEQ ID	SBA против штаммов v3			SBA против штаммов v2			
		v3.42*	v3.28	v3.30	v2.16*	v2.19	v2.21	v2.24
Дикий тип	17	>32768	512	1024	1024	32	64	256
#4	53	1024	<16	16	<16	16	<16	128
#3	44	4096	32	16	4096	<16	16	16
#3+E313A	43	256	<16	16	64	<16	<16	16
E313A	41	4096	32	256	8192	32	32	128

Комбинация мутантов #2 и #12

Каждый из мутантов #2 и #12 демонстрировал улучшения в стабильности v2, таким образом, эти два мутанта комбинировали в одном fHbp (SEQ ID NO: 58, форма ΔG). По сравнению с мутантом #12 T_m для N-конца этого комбинированного мутанта увеличивалась на дополнительные 4,2°C, приводя к самой высокой T_m для любого из тестируемых мутантных белков v2. Кроме того, мутант продемонстрировал значительно уменьшенное связывание с fH (величина пика SPR уменьшалась приблизительно в 8 раз).

Мутантный слитый белок

Мутантные последовательности v2 и v3 были слиты через линкер GSGGGG (SEQ ID NO: 50), также с мутантной последовательностью v1 с получением SEQ ID NO: 48. Эта последовательность включает мутации S58V и L149R для обоих v2 и v3, и мутацию R41S [21] для v1. SEQ ID NO: 47 включает

от N-конца к С-концу: мутант v2 #3 (SEQ ID NO: 45); мутант v3 #3 (SEQ ID NO: 44); и мутант v1 'R41S' (SEQ ID NO: 49), связанные обогащенной глицином линкерной последовательностью SEQ ID NO: 50. Слитый белок для удобства может экспрессироваться путем добавления по N-концу последовательности Met-[SEQ ID NO: 37]-, таким образом, обеспечивая получение зрелого белка SEQ ID NO: 48.

Таким образом, этот слитый белок обладает преимуществом, заключающимся в том, что обнаружили, что мутант #3 придает обоим v2 и v3 значительное увеличение стабильности (T_m) и значительное уменьшение аффинности к fH. Для v1 мутация R41S оказывает незначительное влияние на температурную стабильность, но значительно уменьшает связывание с fH.

Исследования при помощи DSC тройного слитого белка (Фиг. 8) демонстрируют, что три N-концевых перехода оказываются вместе в пределах широкого пика, имеющего центр при 68°C. Три С-концевых перехода также оказывались вместе. UPLC (сверхэффективная жидкостная хроматография) продемонстрировала, что белок был на 94,9% чистым, и анализ при помощи HPLC (высокоэффективной жидкостной хроматографии) продемонстрировал меньше 1,5% олигомеров.

Мутантные белки, экспрессируемые в мембранных везикулах 'GMMA'

Менингококковый штамм v1 получали с нокаутами по генам *mltA*, *lpxL1* и *synX* с получением генетического фона для гиперэкспрессии липопротенов v2 и v3 fHbp под контролем промотора 'ST2' [157] в вакцине 'GMMA'. Гены v2 встраивали в геном по подвергнутому делеции локусу *lpxL1*, тогда как гены v3 встраивали по локусу *synX*. Кроме того, нативный ген v1 *fHbp* подвергали делеции таким образом, что v2 и v3 могли быть исследованы без взаимного влияния.

Мутанты #3 и #4 тестировали для v2, и мутант #4 тестировали для v3. Кроме того, получали штамм с обоими мутантами v2 и v3 #4. Для этих бактерий экспрессия fHbp и связывание fH оценивали при помощи FACS (клеточного сортера с активацией флуоресценцией).

Для штаммов, экспрессирующих только v2 fHbp, FACS продемонстрировал, что различные белки экспрессировались с похожими

уровнями, причем с уровнями на 2 логарифма выше, чем базовый штамм *Δfhhp*. Тем не менее, с точки зрения связывания fH мутанты #3 и #4 демонстрировали гораздо меньшее связывание, причем связывание в мутанте #4 было лишь слегка выше фонового. Эти результаты отражают данные SPR, полученные с рекомбинантными белками v2.

Для штамма, экспрессирующего мутант v3 #4, FACS продемонстрировал полную экспрессию fHbp, но его связывание с fH устранилось (соответствуя связыванию fH, обнаруженному для мутации 'H222R' [19,25]).

Для штамма, экспрессирующего мутант #4 из v2 и v3, оба белка fHbp могут быть обнаружены при помощи FACS, но связывание с fH было лишь слегка выше, чем обнаруженное для базового штамма *Δfhhp*.

Анализ путем вестерн-блоттинга использовали для тестирования стабильности экспрессии fHbp у этих бактерий, выращиваемых в жидкой культуре в течение 6 суток. Экспрессия мутантных белков v2 оставалось стабильной с течением времени, даже когда коэкспрессировался v3. Экспрессия мутантных белков v3 также оставалось стабильной за исключением штамма, экспрессирующего оба мутанта v2 и v3, где экспрессия v3 уменьшалась с течением времени.

Понятно, что изобретение описано выше исключительно в качестве примера, и модификации могут быть осуществлены, оставаясь в объеме и сущности изобретения.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ:

>SEQ ID NO: 1 [MC58, v1]

MNRTAFCCLSLTTALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKGLQS
LTLDQSVRKNEKLKLAQAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSFRDFIRQIEVDGQLIT
LESGEFQVYKQSHSALTAFQTEQIQDSEHSGKMKVAKRQFRIGDIAGEHTSFDKLPE
GGRATYRGTAFGSDDAGGKLTYTIDFAAQGNGKIEHLKSPELNVDLAAADIKPDGK
RHAVISGSVLYNQAEEKGSYSLGIFGGKAQEVAGSAEVKTVNGIRHIGLAAKQ

>SEQ ID NO: 2 [2996, v2]

MNRTAFCCLSLTAALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSL
TLDQSVRKNEKLKLAQAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSFRDFIRQIEVDGQLITL
ESGEFQIYKQDHSVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPDGKA

EYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAAKQGHGKIEHLKTPEQNVELAAAELKADEKSHAV
ILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

>SEQ ID NO: 3 [M1239, v3]

MNRTAFCCLSLTTALILTACSSGGGGSGGGGVAADIGTGLADALTAPLDHKD
KGLKSLTLED SIPQNGTLT LSAQGA EKTFKAGDKDNSLNTGKLKNDKISRFD FVQKIE
VDGQTITLASGEFQIYKQNHSAVVALQIEKINNPDKTDSLINQRSFLVSGLGGEHTAF
NQLPGGKAEYHGKAFSSDDPNGRLHYSIDFTKKQGYGRIEHLKTLEQNVELAAAEL
KADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

>SEQ ID NO: 4 [зрелый 2996]

CSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSLTLDQSVRKNEKLKLAQA
GAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVS RFD FIRQIEVDGQLITLESGEFQIYKQDHS AVVA
LQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPDGKAEYHGKAFSSDDAGGKL
TYTIDFAAKQGHGKIEHLKTPEQNVELAAAELKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYH
LALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

>SEQ ID NO: 5 [2996 ΔG]

VAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSLTLDQSVRKNEKLKLAQA GAEKTYGN
GDSLNTGKLKNDKVS RFD FIRQIEVDGQLITLESGEFQIYKQDHS AVVALQIEKINNP
DKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPDGKAEYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAAK
QGHGKIEHLKTPEQNVELAAAELKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRA
QEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

>SEQ ID NO: 6 [NHBA]

MFKRSVIAMACIFALSACGGGGGGSPDVKSADTL SKPAAPV VSEKETEAKED
APQAGSQGQGAPSAQGSQDMAAVSEENTGN GGAVTADNP KNEDEVAQN DMPQN
AAGTDSSTPNHTPD PNM LAGNMENQATDAGESSQPANQPDMANAADGMQ GDDP
SAGGQNAGNTAAQGANQAGNNQAAGSSDPIPASNPAPANGGSNFGRVDLANGVLI
DGPSQNITLTHCKGDSCSGNNFLDEEVQLKSEFEKLS DADKISNYKKDGKNDK FVG
LVADSVQMKGINQYIIFYKPKPTS FARFRRSARSRRSLPAEMPLIPVNQADTLIVDGE
AVSLTGHSGNIFAPEGNRYR LTYGA EKLP GGSYALRVQGEPAKGEMLAGAAVYNG
EVLHFHTENGRPYPTRGRFAAKVDFGSKSVDGIIDSGDDLHMG TQKFKA AIDGN GF
KGTWTENGSGDVSGKFYGPAGEEVAGKYSYRPTDAEKGGFGVFAGKKEQD

>SEQ ID NO: 7 [NadA]

MSMKHFPSKVLTTAILATFCSGALAATSDDDVKKAATVAIVAAYNNGQEINGF
KAGETIYDIGEDGTITQKDATAADVEADDFKGLGLKKVVTNLTKTVNENKQNVDAKV

KAAESEIEKLTTKLADTDAALADTDAALDETTNALNKLGENITTFAEETKTNIVKIDEKL
EAVADTVDKHAEAFNDIADSLDETNTKADEAVKTANEAKQTAEETKQNVDAKVCAA
ETAAGKAEAAAAGTANTAADKAEAVAAKVTDIKADIATNKADIAKNSARIDSLDKNVAN
LRKETRQGLAEQAALSGLFQPYNVGRFNVTAAVGGYKSESABAIGTGFRFTENFAA
KAGVAVGTSSGSSAAYHVGVNVEW

>SEQ ID NO: 8 [NspA]

MKKALATLIALALPAAALAEASGFYVQADAAHAKASSSLGSAKGFSPRISAG
YRINDLRFAVDYTRYKNYKAPSTDFKLYSIGASAIYDFDTQSPVKPYLGARLSLNRAS
VDLGGSDSFSQTSIGLGVLTGVSAYVTPNVDLDAGYRYNYIGKVNTVKNVRSGELS
AGVRVKF

>SEQ ID NO: 9 [HmbR]

MKPLQMLPIAALVGSIFGNPVLADEAATETTPVKAEIKAVRVKGQRNAPAAV
ERVNLNRIKQEMIRDNDLVRYSTDVGLSDSGRHQKGFVRGVEGNRVGVSIDGV
NLPDSEENSLYARYGNFNSSRLSIDPELVRNIEIVKGADSFNTGSGALGGGVNYQTL
QGRDLLLDDRQFGVMMKNGYSTRNREWTNTLGFGVSNDRVDAALLYSQRRGHET
ESAGNRGYAVEGEGSGANIRGSARGIPDSSKHKYNHHALGKIAYQINDNHRIGASL
NGQQGHNYTVEESYNLTASSWREADDVNRRRNANLFYEWMPDSNWLSSLKADFD
YQKTKVAAVNNKGSFPMDYSTWTRNYNQKDLDEIYNRSMDTRFKRFTLRDLSHPL
QLGGGRHRLSFKTFVSRRDFENLRDDYYFSGRVVRTTSSIQHPVKTTNYGFSLSLSD
QIQWNDVFSSRAGIRYDHTKMTPQELNAECHACDKTPPAANTYKGWSGFVGLAAQ
LNQAWRVGYDITSGYRVPNASEVYFTYNHSGSNWLPNPNLKAERSTHTLSLQGR
SEKGMLDANLYQSNYRNFLSEEQKLTTSGTPGCTEENAYYGICSDPYKEKLDWQM
KNIDKARIRGIELTGRLNVDKVASFVPEGWKLFGLGYAKSKLSGDNSLLSTQPLKVI
AGIDYESPSEKWGVFSRLTYLGAKKVKAQYTVYENKGWGTPLQKKVKDYPWLNK
SAYVFDMYGFYKPAKNLTLRAGVYNLFNRKYTTWDSLRGLYSYSTTNAVDRDGKG
LDRYRAPGRNYAVSLEWKF

>SEQ ID NO: 10 [NhhA]

MNKIYRIIWNALNAWVVSELTRNHTKRASATVKTAVLATLLFATVQASANN
EEQEEDLYLDPVQRTVAVLIVNSDKEGTGEKEKVEENSDWAVYFNEKGVLTAREITL
KAGDNLKIKQNGTNFTYSLKKDLTDLTSVGTEKLSFSANGNKVNITSDTKGLNFAKE
TAGTNGDTTVHLNGIGSTLTDLLNTGATTNVTNDNVTDDEKKRAASVKDVLNAGW
NIKGVKPGTTASDNVDFVRTYDTVEFLSADTKTTTVNVESKDNGKKTEVKIGAKTSVI
KEKDGLVLTGKDKGENGSSTDEGEGLVTAKEVIDAVNKAGWRMKT TTANGQTGQA

DKFETVTS GTNVTFASGKGTTATVSKDDQGNITVMYDVNVGDALNVNQLQNSGWN
 LDSKAVAGSSGKVISGNVSPSKGKMDETVNINAGNNIEITRNGKNIDIATSMTPQFSS
 VSLGAGADAPTLSDGDALNVGSKKDNKPVRITNVAPGVKEGDVTNVAQLKGVAQ
 NLNNRIDNVDGNARAGIAQAIATAGLVQAYLP GKSMMAIGGGTYRGEAGYAIGYSSI
 SDGGNWIIGKTASGNSRGHFGASASVGYQW

>SEQ ID NO: 11 [App]

MKTTDKRTTETHRKAPKTGRIRFSPAYLAICLSFGILPQAWAGHTYFGINYQY
 YRDFAEKNGKFAVGAKDIEVYNKKGELVGKSMTKAPMIDFSVSRNGVAALVGDQY
 IVSVAHNGGGYNNVDFGAEGRNPDQHRFTYKIVKRNNYKAGTKGHPYGGDYHMPRL
 HKFVTDAEPVEMTSYMDGRKYIDQNNYPDRVRIGAGRQYWRSEDEPNNRESSY
 HIASAYSWLVGGNTFAQNGSGGGTVNLGSEKIKHSPYGFLPTGGSFGDSGSPMFIY
 DAQKQKWLINGVLQTGNPYIGKSNGFQLVRKDWFYDEIFAGDTHSVFYEP RQNGK
 YSFNDDNNGTGKINAKHEHNSLPNRLKTRTVQLFNVSLSETAREPVYHAAGGVNSY
 RPRLNNGENISFIDEGKGELILTSNINQGAGGLYFQGDFTVSPENNETWQGAGVHIS
 EDSTVTWKVNGVANDRLSKIGKGT LHVQAKGENQGSISVGDGTVILDQQADDK GK
 KQAFSEIGLVSGRGT VQLNADNQFNPDKLYFGFRGGRLDLNGHSLSFHRIQNTDEG
 AMIVNHNQDKESTVTITGNKDIA TTGNNNSLDSKKEIAYNGWFG EKDTTKTNGRLNL
 VYQPAAEDRTL LLSGGTNLNGNITQTNGKLFFSGRPTPHAYNHLNDHWSQKEGIPR
 GEIVWDNDWINRTFKAENFQIKGGQAVVSRNVAKVKGDWHL SNHAQAVFGVAPHQ
 SHTICTRSDWTGLTNCVEKTITDDKVIASLT KTDISGNVDLADHAHLNLTGLATLNGN
 L SANGDTRYTVSHNATQNGNLSLVGNAQATFNQATLNGNTSASGNASFNLS DHAV
 QNGSLT LSGNAKANVSHSALNGNVSLADKAVFHFESSRFTGQISGGKDTALHLKDS
 EWTLP SGTELGNLNDNATITLNSAYRHDAAGAQTGSATDAPRRRSRRSRRSLLSV
 TPPTSVESRFNTLTVNGKLNGQGTFRFMSELF GYRSDKLKLAESSEGT YTLAVNNT
 GNEPASLEQLTVVEGKDNKPLSENLFNLQNEHVDAGAWRYQLIRKDG EFR LHNPV
 KEQELSDKLGKAEAKKQAEKDNAQSLDALIAAGRDAVEKTESVAEPARQAGGENV
 GIMQAE EKKRVQADKDTALAKQREAE TRPATTAFPRARRARRDL PQLQPQPQPQ
 PQRDLISRYANSGLSEFSATLNSVF AVQDELDRVFAEDRRNAVWTS GIRD TKHYRS
 QDFRAYRQQTDLRQIGMQKNLGSGRVGILFSHNRTENTFDDGIGNSARLAHGAVF
 GQYGIDRFYIGISAGAGFSSGSLSDGIGGKIRRRVLHYGIQARYRAGFGGFGIEPHIG
 ATRYFVQKADYRYENVNIATPGLAFNRYRAGIKADYSFKPAQHISITPYLSLSYTDAA
 SGKVRTRVNTAVLAQDFGKTRSAEWGVNAEIKGFTLSLHAAA AKGPQLEAQHSAGI
 KLG YRW

>SEQ ID NO: 12 [Omp85]

MKLKQIASALMMLGISPLALADFTIQDIRVEGLQRTEPSTVFNYLPVKVGDTY
 NDTHGSIIKSLYATGFFDDVRVETADGQLLLTVIERPTIGSLNITGAKMLQNDAIKKN
 LESFGLAQSQYFNQATLNQAVAGLKEEYLGRGKLNQITPKVTKLARNRVDIDITIDE
 GKSAKITDIEFEGNQVYSDRKLMRQMSLTEGGIWTWLTRSNQFNEQKFAQDMEKV
 TDFYQNNGYFDFRILDTDIQTNEDKTKQTIKITVHEGGRFRWGWKVSIEGDTNEVPA
 ELEKLLTMKPGKWYERQQMTAVLGEIQNRMGSAGYAYSEISVQPLPNAETKTVDFV
 LHIEPGRKIYVNEIHITGNNKTRDEVVRRELQRMESAPYDTSKLQRSKERVELLGYF
 DNVQFDAVPLAGTPDKVDLNMSLTERSTGSLDLSAGWWQDTGLVMSAGVSQDNLF
 GTGKSAALRASRSKTTLNGSLSFTDPYFTADGVSLGYDVYGKAFFDPRKASTSIKQY
 KTTTAGAGIRMSVPVTEYDRVNFGLVAEHLTVNTYNKAPKHYADFIKKYGKTDGTD
 GSFKGWLYKGTVGWGRNKTDLSALWPTRGYLTGVNAEIALPGSKLQYYSATHNQT
 WFFPLSKTFTLMLGGEVGIAGGYGRTKEIPFFENFYGGGLGSVRGYESGTLGPKVY
 DEYGEKISYGGNKKANVSAELLFPMPGAKDARTVRLSLFADAGSVWDGKTYDDNS
 SSATGGRVQNIYGAGNTHKSTFTNELRYSAGGAVTWLSPLGPMKFSYAYPLKKKPE
 DEIQRFFQFLGTTTF

>SEQ ID NO: 13 [NMB2091]

MVSAVIGSAAVGAKSAVDRRTTGAQTDDNVMALRIETTARSYLQRNNQTKG
 YTPQISVVGYDRHLLLLGQVATEGEKQFVGQIARSEQAAEGVYNYITVASLPRTAGD
 IAGDTWNTSKVRATLLGISPATRARVKIVTYGNVTYVMGILTPEEQAQITQKVSTTVG
 VQKVITLYQNYVQR

>SEQ ID NO: 14 [слияние NHBA]

MASPDVKSADTLSPKPAAPVVSEKETEAKEDAPQAGSQGGGAPSAQGGQDM
 AAVSEENTGNGGAAATDKPKNEDEGAQNDMPQNAADTDSLTPNHTPASNMPAGN
 MENQAPDAGESEQPANQPDMANTADGMQGGDDPSAGGENAGNTAAQGTNQAEN
 NQTAGSQNPASSTNPSATNSGGDFGRTNVGNSSVIDGPSQNITLTHCKGDSCSGN
 NFLDEEVQLKSEFEKLSADAKISNYKKDGKNDGKNDKFVGLVADSVQMKGINQYIIF
 YKPKPTSFARFRRSARSRRSLPAEMPLIPVNQADTLIVDGEAVSLTGHSGNIFAPEG
 NYRYLTYGAEKLPGGSYALRVQGEPSKGEMLAGTAVYNGEVLHFHTENGRPSPSR
 GRFAAKVDFGSKSVDGIIDSGDGLHMGTTQKFKAIDGNGFKGTWTENGGGDVSGK
 FYGPAGEEVAGKYSYRPTDAEKGGFGVFAGKKEQDGSGGGGATYKVDEYHANAR
 FAIDHFNTSTNVGGFYGLTGSVEFDQAKRDGKIDITIPVANLQSGSQHFTDHLKSADI

FDAAQYPDIRFVSTKFNFNKGKLVSDGNLTMHGKTAPVKLKAKEFNICYQSPMAKT
EVC GGDFSTTIDRTKWGV DYL VNVGMTKSVRIDIQIEAAKQ

>SEQ ID NO: 15 [фрагмент NadA]

ATNDDDVKKAATVAIAAAYNNGQEINGFKAGETIYDIDEDGTITKKDATAADV
EADDFKGLGLKKVVTNLTKTVNENKQNVDAKVKAASEIEKLTTKLADTDAALADTD
AALDATTNALNKLGENITTFAEETKTNIVKIDEKLEAVADTVDKHAEAFNDIADSLDET
NTKADEAVKTANEAKQTAEETKQNVDAKVKAETAAGKAEAAAGTANTAADKAEAV
AAKVTDIKADIATNKDNIAKKANSADV TREESDSKFVRIDGLNATTEKLDTRLASAE
KSIADHDTRLNGLDKTVSDLRKETRQGLAEQAALSGLFQPYNVG

>SEQ ID NO: 16 [MC58, ΔG]

VAADIGAGLADALTAPLDHKDKGLQSLTLDQSVRKNEKLKLAQAQGAEKTYGN
GDSLNTGKLKNDKVS RFD FIRQIEVDGQLITLES GEFQVYKQSHSALTAFQTEQIQD
SEHSGKMVAKRQFRIGDIAGEHTSFDKLPEGGRATYRGTAFGSDDAGGKLTYTIDF
AAKQGNKGIEHLKSPELNVDLAAADIKPDGKRHAVISGSVLYNQAEEKGSYSLGIFGG
KAQEVAGSAEVKTVNGIRHIGLA AKQ

>SEQ ID NO: 17 [M1239, ΔG]

VAADIGTGLADALTAPLDHKDKGLKSLTLED SIPQNGTLTLSAQGAEKTFKAG
DKDNSLNTGKLKNDKISRFD FVQKIEVDGQTITLASGEFQIYKQNHSAVVALQIEKIN
NPDKTDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPGGKAEYHGKAFSSDDPNGLHYSIDF
TKKQGYGRIEHLKTLEQNVELAAAE LKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYHLALFGD
RAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

>SEQ ID NO: 18 [MYTAHT #1]

MNRTAFCCSLTAALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSL
TLDQSVRKNEKLKLAQAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVS RFD FIRQIEVDGQLITL
ESGEFQIYKQDHS AVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPDGKA
EYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAAKQGHGKIEHLKTPEQNVELAAAE LKADEKSHAV
ILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVRHIGIAGKQ

>SEQ ID NO: 19 [MYTAHT #2]

MNRTAFCCSLTAALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSL
TLDQVVRKNEKLKLAQAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVS RFD FIRQIEVDGQLITL
ESGEFQIYKQDHS AVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPDGKA
EYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAAKQGHGKIEHLKTPEQNVELAAAE LKADEKSHAV
ILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVRHIGIAGKQ

>SEQ ID NO: 20 [MYTAHT #3]

MNRTAFCCLSLTAALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSL
 TLDQVVRKNEKLKLAQAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSFRDFIRQIEVDGQLITL
 ESGEFQIYKQDHSVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFRVSGLGGEHTAFNQLPDGK
 AEYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAAKQGHGKIEHLKTPEQNVELAAAELKADEKSHA
 VILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

>SEQ ID NO: 21 [MYTAHT #4]

MNRTAFCCLSLTAALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSL
 TLDQSVRKNEKLKLAQAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSFRDFIRQIEVDGQLITL
 ESGEFQIYKQDHSVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFRVSGLGGEHTAFNQLPDGK
 AEYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAAKQGHGKIEHLKTPEQNVELAAAELKADEKSHA
 VILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

>SEQ ID NO: 22 [MYTAHT #5]

MNRTAFCCLSLTAALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSL
 TLDQSVRKNEKLKLAQAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSFRDFIRQIEVDGQLITL
 ESGEFQIYKQDHSVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLV**G**DLGGEHTAFNQLPDGKA
 EYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAAKQGHGKIEHLKTPEQNVELAAAELKADEKSHAV
 ILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

>SEQ ID NO: 23 [MYTAHT #6]

MNRTAFCCLSLTAALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSL
 TLDQSVRKNEKLKLAQAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSFRDFIRQIEVDGQLITL
 ESGEFQIYKQDHSV**T**ALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLV**G**DLGGEHTAFNQLPDGKA
 EYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAAKQGHGKIEHLKTPEQNVELAAAELKADEKSHAV
 ILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

>SEQ ID NO: 24 [MYTAHT #7]

MNRTAFCCLSLTAALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSL
 TLDQSVRKNEKLKLAQAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSFRDFIRQIEVDGQLITL
 ESGEFQIYKQDHSVVALQIEKINNPDK**S**DSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPDGK
 AEYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAAKQGHGKIEHLKTPEQNVELAAAELKADEKSHA
 VILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

>SEQ ID NO: 25 [MYTAHT #8]

MNRTAFCCLSLTAALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSL
 TLDQ**S**CRKNEKCKLAQAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSFRDFIRQIEVDGQLITL

ESGEFQIYKQDHS AVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPDGKA
EYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAAKQGHGKIEHLKTPEQNVELAAAELKADEKSHAV
ILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

>SEQ ID NO: 26 [MYTAHT #9]

MNRTAFCCSLTAALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSL
TLDQSVRKNEKLKCAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSRCDFIRQIEVDGQLITL
ESGEFQIYKQDHS AVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPDGKA
EYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAAKQGHGKIEHLKTPEQNVELAAAELKADEKSHAV
ILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

>SEQ ID NO: 27 [MYTAHT #10]

MNRTAFCCSLTAALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSL
TLDQSVRKNEKLKLAQAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVS RFDFIRQIEVDGQLITL
ESGEFQIYKQDHS AVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSCLVSGLGGEHTAFNQLPDGKA
EYHGKAFSCDDAGGKLTYTIDFAAKQGHGKIEHLKTPEQNVELAAAELKADEKSHA
VILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

>SEQ ID NO: 28 [MYTAHT #11]

MNRTAFCCSLTAALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSL
TLDQSVRKNEKLKLAQAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVS RFDFIRQIEVDGQLITL
ESGEFQIYKQDHS AVTALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLV GDLGGEHTAFNQLPDGKA
EYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAAKQGHGKIEHLKTPEQNVELAAAELKADEKSHAV
ILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKV RHIGIAGKQ

>SEQ ID NO: 29 [MYTAHT #12]

MNRTAFCCSLTAALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSL
TLDQSVRKNEKLKLAQAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVS RFDFIRQIEVDGQLITL
ESGEFQIYKQDHS AVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSF RIGDIAGEHTAFNQLPDGKA
EYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAAKQGHGKIEHLKTPEQNVELAAAELKADEKSHAV
ILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

>SEQ ID NO: 30 [MYTAHT #13]

MNRTAFCCSLTAALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSL
TLDQSVRKNEKLKLAQAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVS RFDFIRQIEVDGQLITL
ESGEFQIYKQDHS AVTALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPDGKA
EYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAAKQGHGKIEHLKTPEQNVELAAAELKADEKSHAV
ILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

>SEQ ID NO: 31 [MYTAHT #14]

MNRTAFCCLSLTAALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSL
 TLDQSVRKNEKLKCAAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSFRDFIRQIEVDGQLITL
 ESGEFQIYKQDHS AVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPDGKA
 EYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAAKQGHGKIEHLKTPEQNVELAAAELKADEKSHAV
 ILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

>SEQ ID NO: 32 [MYTAHT #15]

MNRTAFCCLSLTAALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSL
 TLDQSVRKNEKLKLAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSFRDFIRQIEVDGQLITL
 ESGEFQIYKQDHS AVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSCLVSGLGGEHTAFNQLPDGKA
 EYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAAKQGHGKIEHLKTPEQNVELAAAELKADEKSHAV
 ILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

>SEQ ID NO: 33 [MYTAHT #19]

MNRTAFCCLSLTAALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSL
 TLDQVVRKNEKLKLAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSFRDFIRQIEVDGQLITL
 ESGEFQIYKQDHS AVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVTGLGGEHTAFNQLPDGKA
 EYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAAKQGHGKIEHLKTPEQNVELAAAELKADEKSHAV
 ILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

>SEQ ID NO: 34 [MYTAHT #20]

MNRTAFCCLSLTAALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSL
 TLDQVVRKNEKLKLAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSFRDFIRQIEVDGQLITL
 ESGEFQIYKQDHS AVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFRVTGLGGEHTAFNQLPDGKA
 EYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAAKQGHGKIEHLKTPEQNVELAAAELKADEKSHAV
 ILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

>SEQ ID NO: 35 [MYTAHT #21]

MNRTAFCCLSLTAALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSL
 TLDQVVRKNEKLKLAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSFRDFIRQIEVDGQLITL
 ESGEFQIYKQDHS AVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVGGLGGEHTAFNQLPDGKA
 EYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAAKQGHGKIEHLKTPEQNVELAAAELKADEKSHAV
 ILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

>SEQ ID NO: 36 [MYTAHT #22]

MNRTAFCCLSLTAALILTACSSGGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSL
 TLDQVVRKNEKLKLAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSFRDFIRQIEVDGQLITL

ESGEFQIYKQDHSVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFRVGGGLGGEHTAFNQLPDGK
 AEYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAAKQGHGKIEHLKTPEQNVELAAAELKADEKSHA
 VILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

>SEQ ID NO: 37

GPDSDRLLQRR

>SEQ ID NO: 38

GSKDISS

>SEQ ID NO: 39

GSKDISSGGGG

>SEQ ID NO: 40 [зрелый M1239]

CSSGGGGSGGGGVAADIGTGLADALTAPLDHKDKGLKSLTLEDSIPQNGTLT
 LSAQGAECTFKAGDKDNSLNTGKLKNDKISRFDVQKIEVDGQTITLASGEFQIYKQ
 NHSAVVALQIEKINNPDKTDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPGGKAEYHGKAFSS
 DDPNGRLHYSIDFTKKQGYGRIEHLKTLEQNVELAAAELKADEKSHAVILGDTRYGS
 EEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

>SEQ ID NO: 41 [v3(M1239), E243A, ΔG]

VAADIGTGLADALTAPLDHKDKGLKSLTLEDSIPQNGTLT LSAQGAECTFKAG
 DKDNSLNTGKLKNDKISRFDVQKIEVDGQTITLASGEFQIYKQNHSAVVALQIEKIN
 NPDKTDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPGGKAEYHGKAFSSDDPNGLHYSIDF
 TTKQGYGRIEHLKTLEQNVELAAAELKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYHLALFGD
 RAQEIAGSATVKIGEKVHAIGIAGKQ

>SEQ ID NO: 42 [v3(M1239), S32V+E243A, ΔG]

VAADIGTGLADALTAPLDHKDKGLKSLTLEDVIPQNGTLT LSAQGAECTFKAG
 DKDNSLNTGKLKNDKISRFDVQKIEVDGQTITLASGEFQIYKQNHSAVVALQIEKIN
 NPDKTDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPGGKAEYHGKAFSSDDPNGLHYSIDF
 TTKQGYGRIEHLKTLEQNVELAAAELKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYHLALFGD
 RAQEIAGSATVKIGEKVHAIGIAGKQ

>SEQ ID NO: 43 [v3(M1239), S32V+L126R+E243A, ΔG]

VAADIGTGLADALTAPLDHKDKGLKSLTLEDVIPQNGTLT LSAQGAECTFKAG
 DKDNSLNTGKLKNDKISRFDVQKIEVDGQTITLASGEFQIYKQNHSAVVALQIEKIN
 NPDKTDSLINQRSFRVSGLGGEHTAFNQLPGGKAEYHGKAFSSDDPNGLHYSIDF
 TTKQGYGRIEHLKTLEQNVELAAAELKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYHLALFGD
 RAQEIAGSATVKIGEKVHAIGIAGKQ

>SEQ ID NO: 44 [v3, S32V + L126R, ΔG]

VAADIGTGLADALTAPLDHKDKGLKSLTLEDVIPQNGTLTSLAQQGAEKTFKAG
 DKDNSLNTGKLKNDKISRFDVQKIEVDGQTITLASGEFQIYKQNHSAVVALQIEKIN
 NPDKTDSLINQRSFRVSGLGGEHTAFNQLPGGKAHEYHGKAFSSDDPNGRLHYSIDF
 TKKQGYGRIEHLKTLEQNVELAAAELKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYHLALFGD
 RAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

>SEQ ID NO: 45 [v2 MYTAHT #3 S32V + L123R, ΔG]

VAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSLTLDQVVRKNEKLKLAQQGAEKTYGN
 GDSLNTGKLKNDKVSFRDFIRQIEVDGQLITLESGEFQIYKQDHSAAVVALQIEKINNP
 DKIDSLINQRSFRVSGLGGEHTAFNQLPDGKAHEYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAAK
 QGHGKIEHLKTPEQNVELAAAELKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRA
 QEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

>SEQ ID NO: 46 [зрелый MC58, v1]

CSSGGGGVAAADIGAGLADALTAPLDHKDKGLQSLTLDQSVRKNEKLKLAQQ
 GAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSFRDFIRQIEVDGQLITLESGEFQVYKQSHSALTA
 FQTEQIQDSEHSGKMKVAKRQFRIGDIAGEHTSFDKLPEGGRATYRGTAFGSDDAG
 GKLTYTIDFAAKQGNGKIEHLKSPELNVDLAAADIKPDGKRHAVISGSVLYNQAEGK
 SYSLGIFGGKAQEVAGSAEVKTVNGIRHIGLAQKQ

>SEQ ID NO: 47 [мутантный слитый v2-v3-v-1]

VAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSLTLDQVVRKNEKLKLAQQGAEKTYGN
 GDSLNTGKLKNDKVSFRDFIRQIEVDGQLITLESGEFQIYKQDHSAAVVALQIEKINNP
 DKIDSLINQRSFRVSGLGGEHTAFNQLPDGKAHEYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAAK
 QGHGKIEHLKTPEQNVELAAAELKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRA
 QEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQSGSGGGVAAADIGTGLADALTAPLDHKDKGLKSL
 TLEDVIPQNGTLTSLAQQGAEKTFKAGDKDNSLNTGKLKNDKISRFDVQKIEVDGQTI
 TLASGEFQIYKQNHSAVVALQIEKINNPDKTDSLINQRSFRVSGLGGEHTAFNQLPG
 GKAHEYHGKAFSSDDPNGRLHYSIDFTKKQGYGRIEHLKTLEQNVELAAAELKADEK
 SHAVILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQSGSGGG
 GVAADIGAGLADALTAPLDHKDKGLQSLTLDQSVSKNEKLKLAQQGAEKTYGNGDS
 LNTGKLKNDKVSFRDFIRQIEVDGQLITLESGEFQVYKQSHSALTAFQTEQIQDSEHS
 GKMKVAKRQFRIGDIAGEHTSFDKLPEGGRATYRGTAFGSDDAGGKLTYTIDFAAKQ
 GNGKIEHLKSPELNVDLAAADIKPDGKRHAVISGSVLYNQAEGKSYSLGIFGGKAQ
 EVAGSAEVKTVNGIRHIGLAQKQ

>SEQ ID NO: 48 [мутантный слитый, с лидерной последовательностью v2-v3-v-1]

MGPDSDRLLQRRVAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSLTLDQVVRKNEKL
KLAQAQGAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSFRDFIRQIEVDGQLITLESGEFQIYKQDH
SAVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFRVSGLGGEHTAFNQLPDGKAHEYHGKAFSSDD
AGGKLTYTIDFAAKQGHGKIEHLKTPEQNVELAAAELKADEKSHAVILGDTRYGSEE
KGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQGS GGGGVAADIGTGLADALT
APLDHKDKGLKSLTLEDVIPQNGTLTSLAQAQGAEKTFKAGDKDNSLNTGKLKNDKISR
FDFVQKIEVDGQTITLASGEFQIYKQNHSAVVALQIEKINNPDKTDSLINQRSFRVSGL
GGEHTAFNQLPGGKAHEYHGKAFSSDDPNGRLHYSIDFTKKQGYGRIEHLKTLEQNV
ELAAAELKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEI
GIAGKQGS GGGGVAADIGAGLADALTAPLDHKDKGLQSLTLDQSVSKNEKLKLAQA
GAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSFRDFIRQIEVDGQLITLESGEFQVYKQSHSALTA
FQTEQIQDSEHSGKMVAKRQFRIGDIAGEHTSFDKLPEGGRATYRGTAFGSDDAG
GKLTYTIDFAAKQGNKGKIEHLKSPELNVDLAAADIKPDGKRHAVISGSVLYNQAEKG
SYSLGIFGGKAQEVAGSAEVKTVNGIRHIGLAAKQ

>SEQ ID NO: 49 [MC58, ΔG, мутация 'R41S']

VAADIGAGLADALTAPLDHKDKGLQSLTLDQSVSKNEKLKLAQAQGAEKTYGN
GDSLNTGKLKNDKVSFRDFIRQIEVDGQLITLESGEFQVYKQSHSALTAFQTEQIQD
SEHSGKMVAKRQFRIGDIAGEHTSFDKLPEGGRATYRGTAFGSDDAGGKLTYTIDF
AAKQGNKGKIEHLKSPELNVDLAAADIKPDGKRHAVISGSVLYNQAEKGSYSLGIFGG
KAQEVAGSAEVKTVNGIRHIGLAAKQ

>SEQ ID NO: 50 [линкер]

GSGGGG

>SEQ ID NO: 51 [последовательность v2 дикого типа, например для подхода GMMА]

VAADIGARLADALTAPLDHKDKSLQSLTLDQSVRKNEKLKLAQAQGAEKTYGN
GDSLNTGKLKNDKVSFRDFIRQIEVDGQLITLESGEFQIYKQDHSAVVALQIEKINNP
DKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPDGKAHEYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAAK
QGHGKIEHLKTPEQNVELAAAELKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRA
QEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

>SEQ ID NO: 52 [последовательность v3 дикого типа, например для подхода GММА]

VAADIGAGLADALTAPLDHKDKGLQSLTLDQSVRKNEKLKLAQAQGAEKTYGN
GDSLNTGKLKNDKVSFRDFIRQIEVDGKLITLESGEFQVYKQSHSALTALQTEQVQD
SEDSGKMVAKRQFRIGDIAGEHTSFDKLPKGGSATYRGTAFGSDDAGGKLTYTIDF
AAKQGHGKIEHLKSPELNVELATAELKADEKSHAVILGDTRYGGEEKGTYHLALFGD
RAQEIAGSATVKIREKVHEIGIAGKQ

>SEQ ID NO: 53 [m1239, мутация L126R]

VAADIGTGLADALTAPLDHKDKGLKSLTLEDSIPQNGTLTLQAQGAEKTFKAG
DKDNSLNTGKLKNDKISRFDVQKIEVDGQTITLASGEFQIYKQNHSAVVALQIEKIN
NPDKTDSLINQRSFRVSGLGGEHTAFNQLPGGKAEYHGKAFSSDDPNRHLHYSIDF
TKKQGYGRIEHLKTLEQNVELAAAELKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYHLALFGD
RAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

>SEQ ID NO: 54 [v2, штамм 8047 дикого типа]

MNRTAFCCLSLTTALILTACSSGGGGVAADIGARLADALTAPLDHKDKSLQSL
TLDQSVRKNEKLKLAQAQGAEKTYGN GDSLNTGKLKNDKVSFRDFIRQIEVDGQLITL
ESGEFQIYKQDHSAAVVALQIEKINNPDKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPDGKA
EYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAAKQGHGKIEHLKTPEQNVELAAAELKADEKSHAV
ILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

>SEQ ID NO: 55 [v2, штамм 8047, ΔG]

VAADIGARLADALTAPLDHKDKSLQSLTLDQSVRKNEKLKLAQAQGAEKTYGN
GDSLNTGKLKNDKVSFRDFIRQIEVDGQLITLESGEFQIYKQDHSAAVVALQIEKINN
DKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPDGKAEYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAAK
QGHGKIEHLKTPEQNVELAAAELKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRA
QEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

>SEQ ID NO: 56 [v2, мутант 'E313A', ΔG]

VAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSLTLDQSVRKNEKLKLAQAQGAEKTYGN
GDSLNTGKLKNDKVSFRDFIRQIEVDGQLITLESGEFQIYKQDHSAAVVALQIEKINN
DKIDSLINQRSFLVSGLGGEHTAFNQLPDGKAEYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAAK
QGHGKIEHLKTPEQNVELAAAELKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRA
QEIAGSATVKIGEKVHAIGIAGKQ

>SEQ ID NO: 57 [v2, мутант #3 + 'E313A', ΔG]

VAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSLTLDQVVRKNEKLKLAQAQGAEKTYGN
 GDSLNTGKLKNDKVSFRDFIRQIEVDGQLITLESGEFQIYKQDHSAAVALQIEKINNP
 DKIDSLINQRSFRVSGLGGEHTAFNQLPDGKAEYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAAK
 QGHGKIEHLKTPEQNVELAAAELKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRA
 QEIAGSATVKIGEKVHAIGIAGKQ

>SEQ ID NO: 58 [МУТАНТ #2 + #12]

VAADIGAGLADALTAPLDHKDKSLQSLTLDQVVRKNEKLKLAQAQGAEKTYGN
 GDSLNTGKLKNDKVSFRDFIRQIEVDGQLITLESGEFQIYKQDHSAAVALQIEKINNP
 DKIDSLINQRSFRIGDIAGEHTAFNQLPDGKAEYHGKAFSSDDAGGKLTYTIDFAAKQ
 GHGKIEHLKTPEQNVELAAAELKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDRAQE
 IAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

>SEQ ID NO: 59 [v2, штамм 8047, мутант #4, зрелый]

CSSGGGGVAADIGARLADALTAPLDHKDKSLQSLTLDQSVRKNEKLKLAQAQ
 GAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSFRDFIRQIEVDGQLITLESGEFQIYKQDHSAAVA
 LQIEKINNPDKIDSLINQRSFRVSGLGGEHTAFNQLPDGKAEYHGKAFSSDDAGGKL
 TYTIDFAAKQGHGKIEHLKTPEQNVELAAAELKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYH
 LALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

>SEQ ID NO: 60 [v2, штамм 8047, мутант #3, зрелый]

CSSGGGGVAADIGARLADALTAPLDHKDKSLQSLTLDQVVRKNEKLKLAQAQ
 GAEKTYGNGDSLNTGKLKNDKVSFRDFIRQIEVDGQLITLESGEFQIYKQDHSAAVA
 LQIEKINNPDKIDSLINQRSFRVSGLGGEHTAFNQLPDGKAEYHGKAFSSDDAGGKL
 TYTIDFAAKQGHGKIEHLKTPEQNVELAAAELKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYH
 LALFGDRAQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

>SEQ ID NO: 61 [v3, мутант #2 + #12, ΔG]

VAADIGTGLADALTAPLDHKDKGLKSLTLEDVIPQNGTLTSLAQAQGAEKTFKAG
 DKDNSLNTGKLKNDKISRDFVQKIEVDGQTITLASGEFQIYKQNHSAVVALQIEKIN
 NPDKTDSLINQRSFRIGDIAGEHTAFNQLPGGKAEYHGKAFSSDDPNRGLHYSIDFT
 KKQGYGRIEHLKTLEQNVELAAAELKADEKSHAVILGDTRYGSEEKGTYHLALFGDR
 AQEIAGSATVKIGEKVHEIGIAGKQ

ЛИТЕРАТУРНЫЕ ИСТОЧНИКИ:

- [1] WO99/57280.
- [2] Massignani *et al.* (2003) *J Exp Med* 197:789-799.

- [3] Welsch *et al.* (2004) *J Immunol* 172:5605-15.
- [4] Hou *et al.* (2005) *J Infect Dis* 192(4):580-90.
- [5] WO03/063766.
- [6] Fletcher *et al.* (2004) *Infect Immun* 72:2088-2100.
- [7] Zhu *et al.* (2005) *Infect Immun* 73(10):6838-45.
- [8] Cendron *et al.* (2011) *Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun.* 67:531-5.
- [9] Mascioni *et al.* (2009) *J Biol Chem* 284:8738-46.
- [10] Pizza *et al.* (2008) *Vaccine* 26 Suppl 8:I46-8.
- [11] Malito *et al.* (2013) *PNAS USA* 110:3304-9.
- [12] Marshall *et al.* (2012) *Pediatr Infect Dis J* 31:1061-8.
- [13] McNeil *et al.* (2013) *Microbiol Mol Biol Rev* 77:234-52.
- [14] Serruto *et al.* (2012) *Vaccine* 30 Suppl 2: B87-97.
- [15] Scarselli *et al.* (2011) *Sci Transl Med* 3:91ra62.
- [16] WO2011/051893.
- [17] WO2010/046715.
- [18] Schneider *et al.* (2009) *Nature* 458:890-5.
- [19] WO2011/126863.
- [20] Beernink *et al.* (2010) *Clin Vaccine Immunol* 17:1074-8.
- [21] Beernink *et al.* (2011) *J Immunol* 186:3606-14.
- [22] Rossi *et al.* (2013) *Vaccine* 31:5451-7.
- [23] van der Veen *et al.* (2014) *Infect Immun* PMID 24379280.
- [24] Johnson *et al.* (2012) *PLoS Pathogen* 8:e1002981.
- [25] Pajon *et al.* (2012) *Infect Immun* 80:2667-77.
- [26] Granoff *et al.* (2013) *Clin Vaccine Immunol* 20:1099-107.
- [27] Beernink *et al.* (2008) *Infect Immun* 76:4232-40.
- [28] Scarselli *et al.* (2009) *J Mol Biol* 386:97-108.
- [29] Giuntini *et al.* (2012) *PLoS One* 7:e34272.
- [30] Vu *et al.* (2012) *Sci Rep* 2:341.
- [31] Faleri *et al.* (2013) *FASEB J* fj.13-239012.
- [32] Johnson (2013) *Arch Biochem Biophys* 531:100-9.
- [33] Bruylants *et al.* (2005) *Current Medicinal Chemistry* 12:2011-20.
- [34] Veggi *et al.* (2012) *Biochemistry* 51:9384-93.

- [35] WO2014/030003.
- [36] Jongerius *et al.* (2013) *PLoS Pathog* 9(8): e1003528.
- [37] Pizza *et al.* (2000) *Science* 287:1816-1820.
- [38] WO2007/028408.
- [39] <http://pubmlst.org/neisseria/>
- [40] Budroni *et al.* (2011) *PNAS USA* 108:4494-99.
- [41] Goldschneider *et al.* (1969) *J. Exp. Med.* 129:1307-26.
- [42] Santos *et al.* (2001) *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 8:616-23.
- [43] Frasci *et al.* (2009) *Vaccine* 27S:B112-6.
- [44] Gennaro (2000) *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*. 20th edition, ISBN: 0683306472.
- [45] WO03/009869.
- [46] *Vaccine Design...* (1995) eds. Powell & Newman. ISBN: 030644867X. Plenum.
- [47] Tettelin *et al.* (2000) *Science* 287:1809-1815.
- [48] WO00/66741.
- [49] Martin *et al.* (1997) *J Exp Med* 185(7):1173-83.
- [50] WO96/29412.
- [51] Perkins-Balding *et al.* (2003) *Microbiology* 149:3423-35.
- [52] WO01/55182.
- [53] WO01/38350.
- [54] WO00/23595.
- [55] Giuliani *et al.* (2006) *Proc Natl Acad Sci U S A*. 103:10834-9.
- [56] WO2004/032958.
- [57] Costantino *et al.* (1992) *Vaccine* 10:691-698.
- [58] Costantino *et al.* (1999) *Vaccine* 17:1251-1263.
- [59] WO03/007985.
- [60] Watson (2000) *Pediatr Infect Dis J* 19:331-332.
- [61] Rubin (2000) *Pediatr Clin North Am* 47:269-285, v.
- [62] Jedrzejewski (2001) *Microbiol Mol Biol Rev* 65:187-207.
- [63] Bell (2000) *Pediatr Infect Dis J* 19:1187-1188.
- [64] Iwarson (1995) *APMIS* 103:321-326.
- [65] Gerlich *et al.* (1990) *Vaccine* 8 Suppl:S63-68 & 79-80.

- [66] *Vaccines* (1988) eds. Plotkin & Mortimer. ISBN 0-7216-1946-0.
- [67] Del Guidice *et al.* (1998) *Molecular Aspects of Medicine* 19:1-70.
- [68] Gustafsson *et al.* (1996) *N. Engl. J. Med.* 334:349-355.
- [69] Rappuoli *et al.* (1991) *TIBTECH* 9:232-238.
- [70] Sutter *et al.* (2000) *Pediatr Clin North Am* 47:287-308.
- [71] Zimmerman & Spann (1999) *Am Fam Physician* 59:113-118, 125-126.
- [72] McMichael (2000) *Vaccine* 19 Suppl 1:S101-107.
- [73] Schuchat (1999) *Lancet* 353(9146):51-6.
- [74] WO02/34771.
- [75] Dale (1999) *Infect Dis Clin North Am* 13:227-43, viii.
- [76] Ferretti *et al.* (2001) *PNAS USA* 98: 4658-4663.
- [77] Kuroda *et al.* (2001) *Lancet* 357(9264):1225-1240; смотри также страницы 1218-1219.
- [78] Jones (2001) *Curr Opin Investig Drugs* 2:47-49.
- [79] Ravenscroft *et al.* (1999) *Vaccine* 17:2802-2816.
- [80] WO03/080678.
- [81] *Research Disclosure*, 453077 (Jan 2002).
- [82] EP-A-0372501.
- [83] EP-A-0378881.
- [84] EP-A-0427347.
- [85] WO93/17712.
- [86] WO94/03208.
- [87] WO98/58668.
- [88] EP-A-0471177.
- [89] WO91/01146.
- [90] Falugi *et al.* (2001) *Eur J Immunol* 31:3816-3824.
- [91] Baraldo *et al.* (2004) *Infect Immun* 72(8):4884-7.
- [92] EP-A-0594610.
- [93] Ruan *et al.* (1990) *J Immunol* 145:3379-3384.
- [94] WO00/56360.
- [95] Kuo *et al.* (1995) *Infect Immun* 63:2706-13.
- [96] Michon *et al.* (1998) *Vaccine*. 16:1732-41.
- [97] WO02/091998.

- [98] WO01/72337.
- [99] WO00/61761.
- [100] WO00/33882
- [101] Lees *et al.* (1996) *Vaccine* 14:190-198.
- [102] WO95/08348.
- [103] патент США 4882317
- [104] патент США 4695624
- [105] Porro *et al.* (1985) *Mol Immunol* 22:907-919.s
- [106] EP-A-0208375
- [107] WO00/10599
- [108] Gevert *et al.* *Med. Microbiol. Immunol*, 165 : 171-288 (1979).
- [109] патент США 4057685.
- [110] патенты США 4673574; 4761283; 4808700.
- [111] патент США 4459286.
- [112] патент США 4965338
- [113] патент США 4663160.
- [114] патент США 4761283
- [115] патент США 4356170
- [116] WO02/09643.
- [117] Katial *et al.* (2002) *Infect Immun* 70:702-707.
- [118] WO01/52885.
- [119] Европейский патент 0301992.
- [120] Bjune *et al.* (1991) *Lancet* 338(8775):1093-1096.
- [121] Fukasawa *et al.* (1999) *Vaccine* 17:2951-2958.
- [122] WO02/09746.
- [123] Rosenqvist *et al.* (1998) *Dev. Biol. Stand.* 92:323-333.
- [124] WO01/09350.
- [125] Европейский патент 0449958.
- [126] EP-A-0996712.
- [127] EP-A-0680512.
- [128] WO02/062378.
- [129] WO99/59625.
- [130] патент США 6180111.

- [131] WO01/34642.
- [132] WO03/051379.
- [133] патент США 6558677.
- [134] WO2004/019977.
- [135] WO02/062380.
- [136] WO00/25811.
- [137] Peeters *et al.* (1996) *Vaccine* 14:1008-1015.
- [138] Vermont *et al.* (2003) *Infect Immun* 71:1650-1655.
- [139] WO2006/081259.
- [140] Европейский патент 0011243.
- [141] Fredriksen *et al.* (1991) *NIPH Ann.* 14(2):67-80.
- [142] WO01/91788.
- [143] WO2005/004908.
- [144] WO98/56901.
- [145] Claassen *et al.* (1996) 14(10):1001-8.
- [146] WO99/10497.
- [147] Steeghs *et al.* (2001) *The EMBO Journal* 20:6937-6945.
- [148] Fisseha *et al.* (2005) *Infect Immun* 73:4070–80.
- [149] WO2004/015099.
- [150] WO2004/014417.
- [151] WO2004/046177.
- [152] WO2006/046143.
- [153] Adu-Bobie *et al.* (2004) *Infect Immun* 72:1914-19.
- [154] WO2011/036562.
- [155] Koeberling *et al.* (2014) *Vaccine* 32:2688-95.
- [156] WO2013/033398.
- [157] WO2013/113917.
- [158] Needleman & Wunsch (1970) *J. Mol. Biol.* 48, 443-453.
- [159] Rice *et al.* (2000) *Trends Genet* 16:276-277.
- [160] WO01/64920.
- [161] WO03/020756.
- [162] WO2004/048404.
- [163] WO2004/094596

- [164] WO2006/024954.
- [165] WO2007/060548.
- [166] WO2009/104097.
- [167] WO2013/132452.
- [168] Krissinel & Henrick (2007) J. Mol. Biol. 372:774-97

ТАБЛИЦА 1

#	Остаток(ки)*	Мутация(и)	Указания	SEQ ID NO	Хим **	Tm1 °C	Tm2 °C	Мон ***
1	H239+E240	R, H	Поверхность между N- и С-концевыми доменами. Задача заключается в том, чтобы имитировать v1. Дополнительный переход в DSC обнаружен при 100,3°C, и обнаружена некоторая агрегация.	18	Да	Н/Д (нет данных)	83,5	34,29
2	S32	V	N-концевой домен. Гидрофильная боковая цепь S32 направлена в гидрофобную полость. Задача заключается в повышении гидрофобности и стабилизации полости.	19	Да	57,0	84,2	80,38
3	S32+L123	V, R	Мутанты #2 + #4	20	Да	63,5	83,84	76,1
4	L123	R	N-концевой домен. В v1 обратное изменение уменьшало стабильность [11].	21	Да	54,1	84,1	89,97
5	S125+G126	G, D	N-концевой домен. Задача заключается в том, чтобы имитировать v1	22	Да	52,3	83,3	90,48
6	V100+S125+G126	T, G, D	N-концевой домен. Задача заключается в том, чтобы имитировать v1	23	Да	52	83,7	86,41
7	I113	S	Поверхностная петля N-концевого домена. Удаление с поверхности возможного сайта расщепления протеазой.	24	Нет	Н/Д	Н/Д	Н/Д
8	V33+L39	C, C	Кор N-концевого домена. Введение мостиковой связи S-S. Обнаружена некоторая агрегация.	25	Нет	55,9	85	28,71
9	L41+F69	C, C	Кор N-концевого домена. Введение мостиковой связи S-S.	26	Нет	46,4	84,4	33,5 + 53,22
10	F122+S151	C, C	Кор N-концевого домена. Введение мостиковой связи S-S.	27	Нет	-	-	-
11	V100+S125+G126+H239+E240	T, G, D, R, H	Мутанты #1 + #6	28	Нет	47,9	82,2	85,1
12	L123-G128	RIGDIA	N-концевой домен. Задача заключается в том, чтобы имитировать v1 во всей области 123-128	29	Да	62,8	84,4	71,28
13	V100	T	Частичный мутант #6	30	Нет	43	84,3	91,06
14	L41	C	Частичный мутант #9. Обнаружена некоторая агрегация.	31	Нет	-	85	24,82

15	F122	C	Частичный мутант #10. Обнаружена некоторая агрегация.	32	Нет	-	84,4	16,63
19	S32+S125	V, T	N-концевой домен. Дополнительное увеличение гидрофобности по сравнению с #2	33	Нет	50,6	83,5	81,3
20	S32+S125+L123	V, T, R	Комбинация #4 + #19	34	Нет	-	-	-
21	S32+S125	V, G	N-концевой домен. Дополнительное увеличение гидрофобности по сравнению с #2	35	Нет	52,8	84	75,3
22	S32+S125+L123	V, G, R	Комбинация #4 + #21	36	Да	-	-	-
23	S32+L123-G128	RIGDIAS	Комбинация #2 + #12	62	Да	66,3	84,7	-

* Пронумерованы в соответствии с SEQ ID NO: 5; добавлены +26 для того, чтобы соответствовать SEQ ID NO: 18-

39.

** Устойчивость к расщеплению химотрипсином.

*** % мономерная форма

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> NOVARTIS AG

<120> МОДИФИЦИРОВАННЫЕ МЕНИНГОКОККОВЫЕ ПОЛИПЕПТИДЫ fHbp

<130> PAT056080-WO-PCT

<140> PCT/EP2015/ _____

<141> 2015-02-27

<150> EP-14157399.8

<151> 2014-02-28

<150> EP-14177566.8

<151> 2014-07-17

<160> 61

<170> SeqWin2010, версия 1.0

<210> 1

<211> 274

<212> ПРТ

<213> Neisseria meningitidis

<400> 1

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Gln Gly Asn Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Ser Pro Glu Leu

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

His	Leu	Ala	Leu	Phe	Gly	Asp	Arg	Ala	Gln	Glu	Ile	Ala	Gly	Ser	Ala
				245					250					255	

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

Gln

<210> 3

<211> 281

<212> IPT

<213> Neisseria meningitidis

<400> 3

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly Ser Glu Glu Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg
 245 250 255
 Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val
 260 265 270
 His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys Gln
 275 280
 <210> 4
 <211> 254
 <212> ΠPT
 <213> Neisseria meningitidis
 <400> 4
 Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly Ala Gly Leu
 1 5 10 15
 Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp Lys Ser Leu Gln
 20 25 30
 Ser Leu Thr Leu Asp Gln Ser Val Arg Lys Asn Glu Lys Leu Lys Leu
 35 40 45
 Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Tyr Gly Asn Gly Asp Ser Leu Asn
 50 55 60
 Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Val Ser Arg Phe Asp Phe Ile Arg
 65 70 75 80
 Gln Ile Glu Val Asp Gly Gln Leu Ile Thr Leu Glu Ser Gly Glu Phe
 85 90 95
 Gln Ile Tyr Lys Gln Asp His Ser Ala Val Val Ala Leu Gln Ile Glu
 100 105 110
 Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys Ile Asp Ser Leu Ile Asn Gln Arg Ser
 115 120 125
 Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly Gly Glu His Thr Ala Phe Asn Gln Leu
 130 135 140
 Pro Asp Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp
 145 150 155 160
 Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala Ala Lys Gln Gly
 165 170 175
 His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Thr Pro Glu Gln Asn Val Glu Leu
 180 185 190
 Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala Val Ile Leu
 195 200 205
 Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser Glu Glu Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala
 210 215 220
 Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys
 225 230 235 240
 Ile Gly Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys Gln
 245 250
 <210> 5

<211> 247
<212> ПРТ
<213> Neisseria meningitidis

<400> 5
Val Ala Ala Asp Ile Gly Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro
1 5 10 15
Leu Asp His Lys Asp Lys Ser Leu Gln Ser Leu Thr Leu Asp Gln Ser
20 25 30
Val Arg Lys Asn Glu Lys Leu Lys Leu Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys
35 40 45
Thr Tyr Gly Asn Gly Asp Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp
50 55 60
Lys Val Ser Arg Phe Asp Phe Ile Arg Gln Ile Glu Val Asp Gly Gln
65 70 75 80
Leu Ile Thr Leu Glu Ser Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Gln Asp His
85 90 95
Ser Ala Val Val Ala Leu Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys
100 105 110
Ile Asp Ser Leu Ile Asn Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly
115 120 125
Gly Glu His Thr Ala Phe Asn Gln Leu Pro Asp Gly Lys Ala Glu Tyr
130 135 140
His Gly Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr
145 150 155 160
Thr Ile Asp Phe Ala Ala Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu
165 170 175
Lys Thr Pro Glu Gln Asn Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala
180 185 190
Asp Glu Lys Ser His Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser
195 200 205
Glu Glu Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln
210 215 220
Glu Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu
225 230 235 240
Ile Gly Ile Ala Gly Lys Gln
245

<210> 6
<211> 488
<212> ПРТ
<213> Neisseria meningitidis

<400> 6
Met Phe Lys Arg Ser Val Ile Ala Met Ala Cys Ile Phe Ala Leu Ser
1 5 10 15
Ala Cys Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ser Pro Asp Val Lys Ser Ala Asp
20 25 30

Thr	Leu	Ser	Lys	Pro	Ala	Ala	Pro	Val	Val	Ser	Glu	Lys	Glu	Thr	Glu	35	40	45
Ala	Lys	Glu	Asp	Ala	Pro	Gln	Ala	Gly	Ser	Gln	Gly	Gln	Gly	Ala	Pro	50	55	60
Ser	Ala	Gln	Gly	Ser	Gln	Asp	Met	Ala	Ala	Val	Ser	Glu	Glu	Asn	Thr	65	70	75
Gly	Asn	Gly	Gly	Ala	Val	Thr	Ala	Asp	Asn	Pro	Lys	Asn	Glu	Asp	Glu	85	90	95
Val	Ala	Gln	Asn	Asp	Met	Pro	Gln	Asn	Ala	Ala	Gly	Thr	Asp	Ser	Ser	100	105	110
Thr	Pro	Asn	His	Thr	Pro	Asp	Pro	Asn	Met	Leu	Ala	Gly	Asn	Met	Glu	115	120	125
Asn	Gln	Ala	Thr	Asp	Ala	Gly	Glu	Ser	Ser	Gln	Pro	Ala	Asn	Gln	Pro	130	135	140
Asp	Met	Ala	Asn	Ala	Ala	Asp	Gly	Met	Gln	Gly	Asp	Asp	Pro	Ser	Ala	145	150	155
Gly	Gly	Gln	Asn	Ala	Gly	Asn	Thr	Ala	Ala	Gln	Gly	Ala	Asn	Gln	Ala	165	170	175
Gly	Asn	Asn	Gln	Ala	Ala	Gly	Ser	Ser	Asp	Pro	Ile	Pro	Ala	Ser	Asn	180	185	190
Pro	Ala	Pro	Ala	Asn	Gly	Gly	Ser	Asn	Phe	Gly	Arg	Val	Asp	Leu	Ala	195	200	205
Asn	Gly	Val	Leu	Ile	Asp	Gly	Pro	Ser	Gln	Asn	Ile	Thr	Leu	Thr	His	210	215	220
Cys	Lys	Gly	Asp	Ser	Cys	Ser	Gly	Asn	Asn	Phe	Leu	Asp	Glu	Glu	Val	225	230	235
Gln	Leu	Lys	Ser	Glu	Phe	Glu	Lys	Leu	Ser	Asp	Ala	Asp	Lys	Ile	Ser	245	250	255
Asn	Tyr	Lys	Lys	Asp	Gly	Lys	Asn	Asp	Lys	Phe	Val	Gly	Leu	Val	Ala	260	265	270
Asp	Ser	Val	Gln	Met	Lys	Gly	Ile	Asn	Gln	Tyr	Ile	Ile	Phe	Tyr	Lys	275	280	285
Pro	Lys	Pro	Thr	Ser	Phe	Ala	Arg	Phe	Arg	Arg	Ser	Ala	Arg	Ser	Arg	290	295	300
Arg	Ser	Leu	Pro	Ala	Glu	Met	Pro	Leu	Ile	Pro	Val	Asn	Gln	Ala	Asp	305	310	315
Thr	Leu	Ile	Val	Asp	Gly	Glu	Ala	Val	Ser	Leu	Thr	Gly	His	Ser	Gly	325	330	335
Asn	Ile	Phe	Ala	Pro	Glu	Gly	Asn	Tyr	Arg	Tyr	Leu	Thr	Tyr	Gly	Ala	340	345	350
Glu	Lys	Leu	Pro	Gly	Gly	Ser	Tyr	Ala	Leu	Arg	Val	Gln	Gly	Glu	Pro	355	360	365

Ala Lys Gly Glu Met Leu Ala Gly Ala Ala Val Tyr Asn Gly Glu Val
 370 375 380
 Leu His Phe His Thr Glu Asn Gly Arg Pro Tyr Pro Thr Arg Gly Arg
 385 390 395 400
 Phe Ala Ala Lys Val Asp Phe Gly Ser Lys Ser Val Asp Gly Ile Ile
 405 410 415
 Asp Ser Gly Asp Asp Leu His Met Gly Thr Gln Lys Phe Lys Ala Ala
 420 425 430
 Ile Asp Gly Asn Gly Phe Lys Gly Thr Trp Thr Glu Asn Gly Ser Gly
 435 440 445
 Asp Val Ser Gly Lys Phe Tyr Gly Pro Ala Gly Glu Glu Val Ala Gly
 450 455 460
 Lys Tyr Ser Tyr Arg Pro Thr Asp Ala Glu Lys Gly Gly Phe Gly Val
 465 470 475 480
 Phe Ala Gly Lys Lys Glu Gln Asp
 485
 <210> 7
 <211> 364
 <212> IPT
 <213> Neisseria meningitidis
 <400> 7
 Met Ser Met Lys His Phe Pro Ser Lys Val Leu Thr Thr Ala Ile Leu
 1 5 10 15
 Ala Thr Phe Cys Ser Gly Ala Leu Ala Thr Ser Asp Asp Asp Val
 20 25 30
 Lys Lys Ala Ala Thr Val Ala Ile Val Ala Ala Tyr Asn Asn Gly Gln
 35 40 45
 Glu Ile Asn Gly Phe Lys Ala Gly Glu Thr Ile Tyr Asp Ile Gly Glu
 50 55 60
 Asp Gly Thr Ile Thr Gln Lys Asp Ala Thr Ala Ala Asp Val Glu Ala
 65 70 75 80
 Asp Asp Phe Lys Gly Leu Gly Leu Lys Lys Val Val Thr Asn Leu Thr
 85 90 95
 Lys Thr Val Asn Glu Asn Lys Gln Asn Val Asp Ala Lys Val Lys Ala
 100 105 110
 Ala Glu Ser Glu Ile Glu Lys Leu Thr Thr Lys Leu Ala Asp Thr Asp
 115 120 125
 Ala Ala Leu Ala Asp Thr Asp Ala Ala Leu Asp Glu Thr Thr Asn Ala
 130 135 140
 Leu Asn Lys Leu Gly Glu Asn Ile Thr Thr Phe Ala Glu Glu Thr Lys
 145 150 155 160
 Thr Asn Ile Val Lys Ile Asp Glu Lys Leu Glu Ala Val Ala Asp Thr
 165 170 175
 Val Asp Lys His Ala Glu Ala Phe Asn Asp Ile Ala Asp Ser Leu Asp

180							185					190				
Glu	Thr	Asn	Thr	Lys	Ala	Asp	Glu	Ala	Val	Lys	Thr	Ala	Asn	Glu	Ala	
		195						200					205			
Lys	Gln	Thr	Ala	Glu	Glu	Thr	Lys	Gln	Asn	Val	Asp	Ala	Lys	Val	Lys	
	210					215					220					
Ala	Ala	Glu	Thr	Ala	Ala	Gly	Lys	Ala	Glu	Ala	Ala	Ala	Gly	Thr	Ala	
225					230					235					240	
Asn	Thr	Ala	Ala	Asp	Lys	Ala	Glu	Ala	Val	Ala	Ala	Lys	Val	Thr	Asp	
				245					250					255		
Ile	Lys	Ala	Asp	Ile	Ala	Thr	Asn	Lys	Ala	Asp	Ile	Ala	Lys	Asn	Ser	
			260					265					270			
Ala	Arg	Ile	Asp	Ser	Leu	Asp	Lys	Asn	Val	Ala	Asn	Leu	Arg	Lys	Glu	
		275						280					285			
Thr	Arg	Gln	Gly	Leu	Ala	Glu	Gln	Ala	Ala	Leu	Ser	Gly	Leu	Phe	Gln	
	290					295					300					
Pro	Tyr	Asn	Val	Gly	Arg	Phe	Asn	Val	Thr	Ala	Ala	Val	Gly	Gly	Tyr	
305					310					315					320	
Lys	Ser	Glu	Ser	Ala	Val	Ala	Ile	Gly	Thr	Gly	Phe	Arg	Phe	Thr	Glu	
				325					330					335		
Asn	Phe	Ala	Ala	Lys	Ala	Gly	Val	Ala	Val	Gly	Thr	Ser	Ser	Gly	Ser	
			340					345					350			
Ser	Ala	Ala	Tyr	His	Val	Gly	Val	Asn	Tyr	Glu	Trp					
		355				360										
<210>	8															
<211>	174															
<212>	ΠPT															
<213>	Neisseria meningitidis															
<400>	8															
Met	Lys	Lys	Ala	Leu	Ala	Thr	Leu	Ile	Ala	Leu	Ala	Leu	Pro	Ala	Ala	
1				5					10				15			
Ala	Leu	Ala	Glu	Gly	Ala	Ser	Gly	Phe	Tyr	Val	Gln	Ala	Asp	Ala	Ala	
			20					25					30			
His	Ala	Lys	Ala	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Ser	Ala	Lys	Gly	Phe	Ser	Pro	
		35						40				45				
Arg	Ile	Ser	Ala	Gly	Tyr	Arg	Ile	Asn	Asp	Leu	Arg	Phe	Ala	Val	Asp	
	50					55					60					
Tyr	Thr	Arg	Tyr	Lys	Asn	Tyr	Lys	Ala	Pro	Ser	Thr	Asp	Phe	Lys	Leu	
65					70					75					80	
Tyr	Ser	Ile	Gly	Ala	Ser	Ala	Ile	Tyr	Asp	Phe	Asp	Thr	Gln	Ser	Pro	
				85					90					95		
Val	Lys	Pro	Tyr	Leu	Gly	Ala	Arg	Leu	Ser	Leu	Asn	Arg	Ala	Ser	Val	
			100					105					110			
Asp	Leu	Gly	Gly	Ser	Asp	Ser	Phe	Ser	Gln	Thr	Ser	Ile	Gly	Leu	Gly	
		115						120					125			

Val Leu Thr Gly Val Ser Tyr Ala Val Thr Pro Asn Val Asp Leu Asp
130 135 140

Ala Gly Tyr Arg Tyr Asn Tyr Ile Gly Lys Val Asn Thr Val Lys Asn
145 150 155 160

Val Arg Ser Gly Glu Leu Ser Ala Gly Val Arg Val Lys Phe
165 170

<210> 9

<211> 792

<212> ΠPT

<213> Neisseria meningitidis

<400> 9

Met Lys Pro Leu Gln Met Leu Pro Ile Ala Ala Leu Val Gly Ser Ile
1 5 10 15

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

Pro Val Lys Ala Glu Ile Lys Ala Val Arg Val Lys Gly Gln Arg Asn
35 40 45

Ala Pro Ala Ala Val Glu Arg Val Asn Leu Asn Arg Ile Lys Gln Glu
50 55 60

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

Leu Ser Asp Ser Gly Arg His Gln Lys Gly Phe Ala Val Arg Gly Val
85 90 95

Glu Gly Asn Arg Val Gly Val Ser Ile Asp Gly Val Asn Leu Pro Asp
100 105 110

Ser Glu Glu Asn Ser Leu Tyr Ala Arg Tyr Gly Asn Phe Asn Ser Ser
115 120 125

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

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

Asn Tyr Gln Thr Leu Gln Gly Arg Asp Leu Leu Leu Asp Asp Arg Gln
165 170 175

Phe Gly Val Met Met Lys Asn Gly Tyr Ser Thr Arg Asn Arg Glu Trp
180 185 190

Thr Asn Thr Leu Gly Phe Gly Val Ser Asn Asp Arg Val Asp Ala Ala
195 200 205

Leu Leu Tyr Ser Gln Arg Arg Gly His Glu Thr Glu Ser Ala Gly Asn
210 215 220

Arg Gly Tyr Ala Val Glu Gly Glu Gly Ser Gly Ala Asn Ile Arg Gly
225 230 235 240

Ser Ala Arg Gly Ile Pro Asp Ser Ser Lys His Lys Tyr Asn His His
245 250 255

Ala	Leu	Gly	Lys	Ile	Ala	Tyr	Gln	Ile	Asn	Asp	Asn	His	Arg	Ile	Gly	260	265	270
Ala	Ser	Leu	Asn	Gly	Gln	Gln	Gly	His	Asn	Tyr	Thr	Val	Glu	Glu	Ser	275	280	285
Tyr	Asn	Leu	Thr	Ala	Ser	Ser	Trp	Arg	Glu	Ala	Asp	Asp	Val	Asn	Arg	290	295	300
Arg	Arg	Asn	Ala	Asn	Leu	Phe	Tyr	Glu	Trp	Met	Pro	Asp	Ser	Asn	Trp	305	310	315
Leu	Ser	Ser	Leu	Lys	Ala	Asp	Phe	Asp	Tyr	Gln	Lys	Thr	Lys	Val	Ala	325	330	335
Ala	Val	Asn	Asn	Lys	Gly	Ser	Phe	Pro	Met	Asp	Tyr	Ser	Thr	Trp	Thr	340	345	350
Arg	Asn	Tyr	Asn	Gln	Lys	Asp	Leu	Asp	Glu	Ile	Tyr	Asn	Arg	Ser	Met	355	360	365
Asp	Thr	Arg	Phe	Lys	Arg	Phe	Thr	Leu	Arg	Leu	Asp	Ser	His	Pro	Leu	370	375	380
Gln	Leu	Gly	Gly	Gly	Arg	His	Arg	Leu	Ser	Phe	Lys	Thr	Phe	Val	Ser	385	390	395
Arg	Arg	Asp	Phe	Glu	Asn	Leu	Asn	Arg	Asp	Asp	Tyr	Tyr	Phe	Ser	Gly	405	410	415
Arg	Val	Val	Arg	Thr	Thr	Ser	Ser	Ile	Gln	His	Pro	Val	Lys	Thr	Thr	420	425	430
Asn	Tyr	Gly	Phe	Ser	Leu	Ser	Asp	Gln	Ile	Gln	Trp	Asn	Asp	Val	Phe	435	440	445
Ser	Ser	Arg	Ala	Gly	Ile	Arg	Tyr	Asp	His	Thr	Lys	Met	Thr	Pro	Gln	450	455	460
Glu	Leu	Asn	Ala	Glu	Cys	His	Ala	Cys	Asp	Lys	Thr	Pro	Pro	Ala	Ala	465	470	475
Asn	Thr	Tyr	Lys	Gly	Trp	Ser	Gly	Phe	Val	Gly	Leu	Ala	Ala	Gln	Leu	485	490	495
Asn	Gln	Ala	Trp	Arg	Val	Gly	Tyr	Asp	Ile	Thr	Ser	Gly	Tyr	Arg	Val	500	505	510
Pro	Asn	Ala	Ser	Glu	Val	Tyr	Phe	Thr	Tyr	Asn	His	Gly	Ser	Gly	Asn	515	520	525
Trp	Leu	Pro	Asn	Pro	Asn	Leu	Lys	Ala	Glu	Arg	Ser	Thr	Thr	His	Thr	530	535	540
Leu	Ser	Leu	Gln	Gly	Arg	Ser	Glu	Lys	Gly	Met	Leu	Asp	Ala	Asn	Leu	545	550	555
Tyr	Gln	Ser	Asn	Tyr	Arg	Asn	Phe	Leu	Ser	Glu	Glu	Gln	Lys	Leu	Thr	565	570	575
Thr	Ser	Gly	Thr	Pro	Gly	Cys	Thr	Glu	Glu	Asn	Ala	Tyr	Tyr	Gly	Ile	580	585	590
Cys	Ser	Asp	Pro	Tyr	Lys	Glu	Lys	Leu	Asp	Trp	Gln	Met	Lys	Asn	Ile			

595					600					605						
Asp	Lys	Ala	Arg	Ile	Arg	Gly	Ile	Glu	Leu	Thr	Gly	Arg	Leu	Asn	Val	
610					615					620						
Asp	Lys	Val	Ala	Ser	Phe	Val	Pro	Glu	Gly	Trp	Lys	Leu	Phe	Gly	Ser	
625					630					635					640	
Leu	Gly	Tyr	Ala	Lys	Ser	Lys	Leu	Ser	Gly	Asp	Asn	Ser	Leu	Leu	Ser	
645					650					655						
Thr	Gln	Pro	Leu	Lys	Val	Ile	Ala	Gly	Ile	Asp	Tyr	Glu	Ser	Pro	Ser	
660					665					670						
Glu	Lys	Trp	Gly	Val	Phe	Ser	Arg	Leu	Thr	Tyr	Leu	Gly	Ala	Lys	Lys	
675					680					685						
Val	Lys	Asp	Ala	Gln	Tyr	Thr	Val	Tyr	Glu	Asn	Lys	Gly	Trp	Gly	Thr	
690					695					700						
Pro	Leu	Gln	Lys	Lys	Val	Lys	Asp	Tyr	Pro	Trp	Leu	Asn	Lys	Ser	Ala	
705					710					715					720	
Tyr	Val	Phe	Asp	Met	Tyr	Gly	Phe	Tyr	Lys	Pro	Ala	Lys	Asn	Leu	Thr	
725					730					735						
Leu	Arg	Ala	Gly	Val	Tyr	Asn	Leu	Phe	Asn	Arg	Lys	Tyr	Thr	Thr	Trp	
740					745					750						
Asp	Ser	Leu	Arg	Gly	Leu	Tyr	Ser	Tyr	Ser	Thr	Thr	Asn	Ala	Val	Asp	
755					760					765						
Arg	Asp	Gly	Lys	Gly	Leu	Asp	Arg	Tyr	Arg	Ala	Pro	Gly	Arg	Asn	Tyr	
770					775					780						
Ala	Val	Ser	Leu	Glu	Trp	Lys	Phe									
785					790											
<210> 10																
<211> 591																
<212> ΠPT																
<213> Neisseria meningitidis																
<400> 10																
Met	Asn	Lys	Ile	Tyr	Arg	Ile	Ile	Trp	Asn	Ser	Ala	Leu	Asn	Ala	Trp	
1	5					10					15					
Val	Val	Val	Ser	Glu	Leu	Thr	Arg	Asn	His	Thr	Lys	Arg	Ala	Ser	Ala	
20					25					30						
Thr	Val	Lys	Thr	Ala	Val	Leu	Ala	Thr	Leu	Leu	Phe	Ala	Thr	Val	Gln	
35					40					45						
Ala	Ser	Ala	Asn	Asn	Glu	Glu	Gln	Glu	Glu	Asp	Leu	Tyr	Leu	Asp	Pro	
50					55					60						
Val	Gln	Arg	Thr	Val	Ala	Val	Leu	Ile	Val	Asn	Ser	Asp	Lys	Glu	Gly	
65					70					75					80	
Thr	Gly	Glu	Lys	Glu	Lys	Val	Glu	Glu	Asn	Ser	Asp	Trp	Ala	Val	Tyr	
85					90					95						
Phe	Asn	Glu	Lys	Gly	Val	Leu	Thr	Ala	Arg	Glu	Ile	Thr	Leu	Lys	Ala	
100					105					110						

Gly	Asp	Asn	Leu	Lys	Ile	Lys	Gln	Asn	Gly	Thr	Asn	Phe	Thr	Tyr	Ser	115	120	125
Leu	Lys	Lys	Asp	Leu	Thr	Asp	Leu	Thr	Ser	Val	Gly	Thr	Glu	Lys	Leu	130	135	140
Ser	Phe	Ser	Ala	Asn	Gly	Asn	Lys	Val	Asn	Ile	Thr	Ser	Asp	Thr	Lys	145	150	155
Gly	Leu	Asn	Phe	Ala	Lys	Glu	Thr	Ala	Gly	Thr	Asn	Gly	Asp	Thr	Thr	165	170	175
Val	His	Leu	Asn	Gly	Ile	Gly	Ser	Thr	Leu	Thr	Asp	Thr	Leu	Leu	Asn	180	185	190
Thr	Gly	Ala	Thr	Thr	Asn	Val	Thr	Asn	Asp	Asn	Val	Thr	Asp	Asp	Glu	195	200	205
Lys	Lys	Arg	Ala	Ala	Ser	Val	Lys	Asp	Val	Leu	Asn	Ala	Gly	Trp	Asn	210	215	220
Ile	Lys	Gly	Val	Lys	Pro	Gly	Thr	Thr	Ala	Ser	Asp	Asn	Val	Asp	Phe	225	230	235
Val	Arg	Thr	Tyr	Asp	Thr	Val	Glu	Phe	Leu	Ser	Ala	Asp	Thr	Lys	Thr	245	250	255
Thr	Thr	Val	Asn	Val	Glu	Ser	Lys	Asp	Asn	Gly	Lys	Lys	Thr	Glu	Val	260	265	270
Lys	Ile	Gly	Ala	Lys	Thr	Ser	Val	Ile	Lys	Glu	Lys	Asp	Gly	Lys	Leu	275	280	285
Val	Thr	Gly	Lys	Asp	Lys	Gly	Glu	Asn	Gly	Ser	Ser	Thr	Asp	Glu	Gly	290	295	300
Glu	Gly	Leu	Val	Thr	Ala	Lys	Glu	Val	Ile	Asp	Ala	Val	Asn	Lys	Ala	305	310	315
Gly	Trp	Arg	Met	Lys	Thr	Thr	Thr	Ala	Asn	Gly	Gln	Thr	Gly	Gln	Ala	325	330	335
Asp	Lys	Phe	Glu	Thr	Val	Thr	Ser	Gly	Thr	Asn	Val	Thr	Phe	Ala	Ser	340	345	350
Gly	Lys	Gly	Thr	Thr	Ala	Thr	Val	Ser	Lys	Asp	Asp	Gln	Gly	Asn	Ile	355	360	365
Thr	Val	Met	Tyr	Asp	Val	Asn	Val	Gly	Asp	Ala	Leu	Asn	Val	Asn	Gln	370	375	380
Leu	Gln	Asn	Ser	Gly	Trp	Asn	Leu	Asp	Ser	Lys	Ala	Val	Ala	Gly	Ser	385	390	395
Ser	Gly	Lys	Val	Ile	Ser	Gly	Asn	Val	Ser	Pro	Ser	Lys	Gly	Lys	Met	405	410	415
Asp	Glu	Thr	Val	Asn	Ile	Asn	Ala	Gly	Asn	Asn	Ile	Glu	Ile	Thr	Arg	420	425	430
Asn	Gly	Lys	Asn	Ile	Asp	Ile	Ala	Thr	Ser	Met	Thr	Pro	Gln	Phe	Ser	435	440	445

Ser Val Ser Leu Gly Ala Gly Ala Asp Ala Pro Thr Leu Ser Val Asp
 450 455 460
 Gly Asp Ala Leu Asn Val Gly Ser Lys Lys Asp Asn Lys Pro Val Arg
 465 470 475 480
 Ile Thr Asn Val Ala Pro Gly Val Lys Glu Gly Asp Val Thr Asn Val
 485 490 495
 Ala Gln Leu Lys Gly Val Ala Gln Asn Leu Asn Asn Arg Ile Asp Asn
 500 505 510
 Val Asp Gly Asn Ala Arg Ala Gly Ile Ala Gln Ala Ile Ala Thr Ala
 515 520 525
 Gly Leu Val Gln Ala Tyr Leu Pro Gly Lys Ser Met Met Ala Ile Gly
 530 535 540
 Gly Gly Thr Tyr Arg Gly Glu Ala Gly Tyr Ala Ile Gly Tyr Ser Ser
 545 550 555 560
 Ile Ser Asp Gly Gly Asn Trp Ile Ile Lys Gly Thr Ala Ser Gly Asn
 565 570 575
 Ser Arg Gly His Phe Gly Ala Ser Ala Ser Val Gly Tyr Gln Trp
 580 585 590
 <210> 11
 <211> 1457
 <212> ΠPT
 <213> Neisseria meningitidis
 <400> 11
 Met Lys Thr Thr Asp Lys Arg Thr Thr Glu Thr His Arg Lys Ala Pro
 1 5 10 15
 Lys Thr Gly Arg Ile Arg Phe Ser Pro Ala Tyr Leu Ala Ile Cys Leu
 20 25 30
 Ser Phe Gly Ile Leu Pro Gln Ala Trp Ala Gly His Thr Tyr Phe Gly
 35 40 45
 Ile Asn Tyr Gln Tyr Tyr Arg Asp Phe Ala Glu Asn Lys Gly Lys Phe
 50 55 60
 Ala Val Gly Ala Lys Asp Ile Glu Val Tyr Asn Lys Lys Gly Glu Leu
 65 70 75 80
 Val Gly Lys Ser Met Thr Lys Ala Pro Met Ile Asp Phe Ser Val Val
 85 90 95
 Ser Arg Asn Gly Val Ala Ala Leu Val Gly Asp Gln Tyr Ile Val Ser
 100 105 110
 Val Ala His Asn Gly Gly Tyr Asn Asn Val Asp Phe Gly Ala Glu Gly
 115 120 125
 Arg Asn Pro Asp Gln His Arg Phe Thr Tyr Lys Ile Val Lys Arg Asn
 130 135 140
 Asn Tyr Lys Ala Gly Thr Lys Gly His Pro Tyr Gly Gly Asp Tyr His
 145 150 155 160
 Met Pro Arg Leu His Lys Phe Val Thr Asp Ala Glu Pro Val Glu Met

165								170					175		
Thr	Ser	Tyr	Met 180	Asp	Gly	Arg	Lys	Tyr 185	Ile	Asp	Gln	Asn	Asn	Tyr	Pro
Asp	Arg	Val 195	Arg	Ile	Gly	Ala	Gly 200	Arg	Gln	Tyr	Trp	Arg 205	Ser	Asp	Glu
Asp	Glu 210	Pro	Asn	Asn	Arg	Glu 215	Ser	Ser	Tyr	His	Ile 220	Ala	Ser	Ala	Tyr
Ser 225	Trp	Leu	Val	Gly	Gly 230	Asn	Thr	Phe	Ala	Gln 235	Asn	Gly	Ser	Gly	Gly 240
Gly	Thr	Val	Asn	Leu 245	Gly	Ser	Glu	Lys	Ile 250	Lys	His	Ser	Pro	Tyr 255	Gly
Phe	Leu	Pro	Thr 260	Gly	Gly	Ser	Phe	Gly 265	Asp	Ser	Gly	Ser	Pro 270	Met	Phe
Ile	Tyr	Asp 275	Ala	Gln	Lys	Gln	Lys 280	Trp	Leu	Ile	Asn	Gly 285	Val	Leu	Gln
Thr	Gly 290	Asn	Pro	Tyr	Ile	Gly 295	Lys	Ser	Asn	Gly	Phe 300	Gln	Leu	Val	Arg
Lys 305	Asp	Trp	Phe	Tyr	Asp 310	Glu	Ile	Phe	Ala	Gly 315	Asp	Thr	His	Ser	Val 320
Phe	Tyr	Glu	Pro	Arg 325	Gln	Asn	Gly	Lys	Tyr 330	Ser	Phe	Asn	Asp	Asp 335	Asn
Asn	Gly	Thr	Gly 340	Lys	Ile	Asn	Ala	Lys 345	His	Glu	His	Asn	Ser 350	Leu	Pro
Asn	Arg	Leu 355	Lys	Thr	Arg	Thr	Val 360	Gln	Leu	Phe	Asn	Val 365	Ser	Leu	Ser
Glu	Thr 370	Ala	Arg	Glu	Pro	Val 375	Tyr	His	Ala	Ala	Gly 380	Gly	Val	Asn	Ser
Tyr 385	Arg	Pro	Arg	Leu	Asn 390	Asn	Gly	Glu	Asn	Ile 395	Ser	Phe	Ile	Asp	Glu 400
Gly	Lys	Gly	Glu	Leu 405	Ile	Leu	Thr	Ser	Asn 410	Ile	Asn	Gln	Gly	Ala 415	Gly
Gly	Leu	Tyr	Phe 420	Gln	Gly	Asp	Phe	Thr 425	Val	Ser	Pro	Glu	Asn 430	Asn	Glu
Thr	Trp 435	Gln	Gly	Ala	Gly	Val	His 440	Ile	Ser	Glu	Asp	Ser 445	Thr	Val	Thr
Trp	Lys 450	Val	Asn	Gly	Val	Ala 455	Asn	Asp	Arg	Leu	Ser	Lys 460	Ile	Gly	Lys
Gly 465	Thr	Leu	His	Val	Gln 470	Ala	Lys	Gly	Glu	Asn 475	Gln	Gly	Ser	Ile	Ser 480
Val	Gly	Asp	Gly	Thr 485	Val	Ile	Leu	Asp	Gln 490	Gln	Ala	Asp	Asp	Lys 495	Gly
Lys	Lys	Gln	Ala 500	Phe	Ser	Glu	Ile	Gly 505	Leu	Val	Ser	Gly	Arg 510	Gly	Thr

Val	Gln	Leu	Asn	Ala	Asp	Asn	Gln	Phe	Asn	Pro	Asp	Lys	Leu	Tyr	Phe		
		515					520					525					
Gly	Phe	Arg	Gly	Gly	Arg	Leu	Asp	Leu	Asn	Gly	His	Ser	Leu	Ser	Phe		
	530					535					540						
His	Arg	Ile	Gln	Asn	Thr	Asp	Glu	Gly	Ala	Met	Ile	Val	Asn	His	Asn		
545					550					555					560		
Gln	Asp	Lys	Glu	Ser	Thr	Val	Thr	Ile	Thr	Gly	Asn	Lys	Asp	Ile	Ala		
				565					570						575		
Thr	Thr	Gly	Asn	Asn	Asn	Ser	Leu	Asp	Ser	Lys	Lys	Glu	Ile	Ala	Tyr		
			580					585						590			
Asn	Gly	Trp	Phe	Gly	Glu	Lys	Asp	Thr	Thr	Lys	Thr	Asn	Gly	Arg	Leu		
		595					600						605				
Asn	Leu	Val	Tyr	Gln	Pro	Ala	Ala	Glu	Asp	Arg	Thr	Leu	Leu	Leu	Ser		
	610					615					620						
Gly	Gly	Thr	Asn	Leu	Asn	Gly	Asn	Ile	Thr	Gln	Thr	Asn	Gly	Lys	Leu		
625					630					635					640		
Phe	Phe	Ser	Gly	Arg	Pro	Thr	Pro	His	Ala	Tyr	Asn	His	Leu	Asn	Asp		
				645					650						655		
His	Trp	Ser	Gln	Lys	Glu	Gly	Ile	Pro	Arg	Gly	Glu	Ile	Val	Trp	Asp		
			660					665						670			
Asn	Asp	Trp	Ile	Asn	Arg	Thr	Phe	Lys	Ala	Glu	Asn	Phe	Gln	Ile	Lys		
		675					680						685				
Gly	Gly	Gln	Ala	Val	Val	Ser	Arg	Asn	Val	Ala	Lys	Val	Lys	Gly	Asp		
		690				695					700						
Trp	His	Leu	Ser	Asn	His	Ala	Gln	Ala	Val	Phe	Gly	Val	Ala	Pro	His		
705					710					715					720		
Gln	Ser	His	Thr	Ile	Cys	Thr	Arg	Ser	Asp	Trp	Thr	Gly	Leu	Thr	Asn		
				725					730						735		
Cys	Val	Glu	Lys	Thr	Ile	Thr	Asp	Asp	Lys	Val	Ile	Ala	Ser	Leu	Thr		
			740					745						750			
Lys	Thr	Asp	Ile	Ser	Gly	Asn	Val	Asp	Leu	Ala	Asp	His	Ala	His	Leu		
		755					760						765				
Asn	Leu	Thr	Gly	Leu	Ala	Thr	Leu	Asn	Gly	Asn	Leu	Ser	Ala	Asn	Gly		
		770				775							780				
Asp	Thr	Arg	Tyr	Thr	Val	Ser	His	Asn	Ala	Thr	Gln	Asn	Gly	Asn	Leu		
785					790					795					800		
Ser	Leu	Val	Gly	Asn	Ala	Gln	Ala	Thr	Phe	Asn	Gln	Ala	Thr	Leu	Asn		
				805					810						815		
Gly	Asn	Thr	Ser	Ala	Ser	Gly	Asn	Ala	Ser	Phe	Asn	Leu	Ser	Asp	His		
			820					825						830			
Ala	Val	Gln	Asn	Gly	Ser	Leu	Thr	Leu	Ser	Gly	Asn	Ala	Lys	Ala	Asn		
		835					840						845				

Val	Ser	His	Ser	Ala	Leu	Asn	Gly	Asn	Val	Ser	Leu	Ala	Asp	Lys	Ala		
850						855					860						
Val	Phe	His	Phe	Glu	Ser	Ser	Arg	Phe	Thr	Gly	Gln	Ile	Ser	Gly	Gly		
865					870					875					880		
Lys	Asp	Thr	Ala	Leu	His	Leu	Lys	Asp	Ser	Glu	Trp	Thr	Leu	Pro	Ser		
				885					890					895			
Gly	Thr	Glu	Leu	Gly	Asn	Leu	Asn	Leu	Asp	Asn	Ala	Thr	Ile	Thr	Leu		
			900					905					910				
Asn	Ser	Ala	Tyr	Arg	His	Asp	Ala	Ala	Gly	Ala	Gln	Thr	Gly	Ser	Ala		
		915					920					925					
Thr	Asp	Ala	Pro	Arg	Arg	Arg	Ser	Arg	Arg	Ser	Arg	Arg	Ser	Leu	Leu		
	930					935					940						
Ser	Val	Thr	Pro	Pro	Thr	Ser	Val	Glu	Ser	Arg	Phe	Asn	Thr	Leu	Thr		
945					950					955					960		
Val	Asn	Gly	Lys	Leu	Asn	Gly	Gln	Gly	Thr	Phe	Arg	Phe	Met	Ser	Glu		
				965					970					975			
Leu	Phe	Gly	Tyr	Arg	Ser	Asp	Lys	Leu	Lys	Leu	Ala	Glu	Ser	Ser	Glu		
			980					985					990				
Gly	Thr	Tyr	Thr	Leu	Ala	Val	Asn	Asn	Thr	Gly	Asn	Glu	Pro	Ala	Ser		
		995					1000					1005					
Leu	Glu	Gln	Leu	Thr	Val	Val	Glu	Gly	Lys	Asp	Asn	Lys	Pro	Leu	Ser		
	1010					1015					1020						
Glu	Asn	Leu	Asn	Phe	Thr	Leu	Gln	Asn	Glu	His	Val	Asp	Ala	Gly	Ala		
1025					1030					1035					1040		
Trp	Arg	Tyr	Gln	Leu	Ile	Arg	Lys	Asp	Gly	Glu	Phe	Arg	Leu	His	Asn		
			1045						1050					1055			
Pro	Val	Lys	Glu	Gln	Glu	Leu	Ser	Asp	Lys	Leu	Gly	Lys	Ala	Glu	Ala		
		1060						1065					1070				
Lys	Lys	Gln	Ala	Glu	Lys	Asp	Asn	Ala	Gln	Ser	Leu	Asp	Ala	Leu	Ile		
		1075					1080					1085					
Ala	Ala	Gly	Arg	Asp	Ala	Val	Glu	Lys	Thr	Glu	Ser	Val	Ala	Glu	Pro		
	1090					1095					1100						
Ala	Arg	Gln	Ala	Gly	Gly	Glu	Asn	Val	Gly	Ile	Met	Gln	Ala	Glu	Glu		
1105					1110					1115					1120		
Glu	Lys	Lys	Arg	Val	Gln	Ala	Asp	Lys	Asp	Thr	Ala	Leu	Ala	Lys	Gln		
			1125						1130					1135			
Arg	Glu	Ala	Glu	Thr	Arg	Pro	Ala	Thr	Thr	Ala	Phe	Pro	Arg	Ala	Arg		
		1140						1145					1150				
Arg	Ala	Arg	Arg	Asp	Leu	Pro	Gln	Leu	Gln	Pro	Gln	Pro	Gln	Pro	Gln		
	1155						1160					1165					
Pro	Gln	Arg	Asp	Leu	Ile	Ser	Arg	Tyr	Ala	Asn	Ser	Gly	Leu	Ser	Glu		
	1170					1175					1180						
Phe	Ser	Ala	Thr	Leu	Asn	Ser	Val	Phe	Ala	Val	Gln	Asp	Glu	Leu	Asp		

1185		1190		1195		1200
Arg Val Phe Ala	Glu Asp Arg Arg	Asn Ala Val Trp Thr	Ser Gly Ile			
	1205		1210		1215	
Arg Asp Thr Lys His Tyr Arg Ser	Gln Asp Phe Arg Ala Tyr Arg Gln					
	1220		1225		1230	
Gln Thr Asp Leu Arg Gln Ile Gly Met Gln Lys Asn Leu Gly Ser Gly						
	1235		1240		1245	
Arg Val Gly Ile Leu Phe Ser His Asn Arg Thr Glu Asn Thr Phe Asp						
	1250		1255		1260	
Asp Gly Ile Gly Asn Ser Ala Arg Leu Ala His Gly Ala Val Phe Gly						
	1265		1270		1275	1280
Gln Tyr Gly Ile Asp Arg Phe Tyr Ile Gly Ile Ser Ala Gly Ala Gly						
	1285		1290		1295	
Phe Ser Ser Gly Ser Leu Ser Asp Gly Ile Gly Gly Lys Ile Arg Arg						
	1300		1305		1310	
Arg Val Leu His Tyr Gly Ile Gln Ala Arg Tyr Arg Ala Gly Phe Gly						
	1315		1320		1325	
Gly Phe Gly Ile Glu Pro His Ile Gly Ala Thr Arg Tyr Phe Val Gln						
	1330		1335		1340	
Lys Ala Asp Tyr Arg Tyr Glu Asn Val Asn Ile Ala Thr Pro Gly Leu						
	1345		1350		1355	1360
Ala Phe Asn Arg Tyr Arg Ala Gly Ile Lys Ala Asp Tyr Ser Phe Lys						
	1365		1370		1375	
Pro Ala Gln His Ile Ser Ile Thr Pro Tyr Leu Ser Leu Ser Tyr Thr						
	1380		1385		1390	
Asp Ala Ala Ser Gly Lys Val Arg Thr Arg Val Asn Thr Ala Val Leu						
	1395		1400		1405	
Ala Gln Asp Phe Gly Lys Thr Arg Ser Ala Glu Trp Gly Val Asn Ala						
	1410		1415		1420	
Glu Ile Lys Gly Phe Thr Leu Ser Leu His Ala Ala Ala Ala Lys Gly						
	1425		1430		1435	1440
Pro Gln Leu Glu Ala Gln His Ser Ala Gly Ile Lys Leu Gly Tyr Arg						
	1445		1450		1455	

Trp

<210> 12
 <211> 797
 <212> ПРТ
 <213> Neisseria meningitidis

<400> 12
 Met Lys Leu Lys Gln Ile Ala Ser Ala Leu Met Met Leu Gly Ile Ser
 1 5 10 15
 Pro Leu Ala Leu Ala Asp Phe Thr Ile Gln Asp Ile Arg Val Glu Gly
 20 25 30

Leu	Gln	Arg	Thr	Glu	Pro	Ser	Thr	Val	Phe	Asn	Tyr	Leu	Pro	Val	Lys	35	40	45	
Val	Gly	Asp	Thr	Tyr	Asn	Asp	Thr	His	Gly	Ser	Ala	Ile	Ile	Lys	Ser	50	55	60	
Leu	Tyr	Ala	Thr	Gly	Phe	Phe	Asp	Asp	Val	Arg	Val	Glu	Thr	Ala	Asp	65	70	75	80
Gly	Gln	Leu	Leu	Leu	Thr	Val	Ile	Glu	Arg	Pro	Thr	Ile	Gly	Ser	Leu	85	90	95	
Asn	Ile	Thr	Gly	Ala	Lys	Met	Leu	Gln	Asn	Asp	Ala	Ile	Lys	Lys	Asn	100	105	110	
Leu	Glu	Ser	Phe	Gly	Leu	Ala	Gln	Ser	Gln	Tyr	Phe	Asn	Gln	Ala	Thr	115	120	125	
Leu	Asn	Gln	Ala	Val	Ala	Gly	Leu	Lys	Glu	Glu	Tyr	Leu	Gly	Arg	Gly	130	135	140	
Lys	Leu	Asn	Ile	Gln	Ile	Thr	Pro	Lys	Val	Thr	Lys	Leu	Ala	Arg	Asn	145	150	155	160
Arg	Val	Asp	Ile	Asp	Ile	Thr	Ile	Asp	Glu	Gly	Lys	Ser	Ala	Lys	Ile	165	170	175	
Thr	Asp	Ile	Glu	Phe	Glu	Gly	Asn	Gln	Val	Tyr	Ser	Asp	Arg	Lys	Leu	180	185	190	
Met	Arg	Gln	Met	Ser	Leu	Thr	Glu	Gly	Gly	Ile	Trp	Thr	Trp	Leu	Thr	195	200	205	
Arg	Ser	Asn	Gln	Phe	Asn	Glu	Gln	Lys	Phe	Ala	Gln	Asp	Met	Glu	Lys	210	215	220	
Val	Thr	Asp	Phe	Tyr	Gln	Asn	Asn	Gly	Tyr	Phe	Asp	Phe	Arg	Ile	Leu	225	230	235	240
Asp	Thr	Asp	Ile	Gln	Thr	Asn	Glu	Asp	Lys	Thr	Lys	Gln	Thr	Ile	Lys	245	250	255	
Ile	Thr	Val	His	Glu	Gly	Gly	Arg	Phe	Arg	Trp	Gly	Lys	Val	Ser	Ile	260	265	270	
Glu	Gly	Asp	Thr	Asn	Glu	Val	Pro	Lys	Ala	Glu	Leu	Glu	Lys	Leu	Leu	275	280	285	
Thr	Met	Lys	Pro	Gly	Lys	Trp	Tyr	Glu	Arg	Gln	Gln	Met	Thr	Ala	Val	290	295	300	
Leu	Gly	Glu	Ile	Gln	Asn	Arg	Met	Gly	Ser	Ala	Gly	Tyr	Ala	Tyr	Ser	305	310	315	320
Glu	Ile	Ser	Val	Gln	Pro	Leu	Pro	Asn	Ala	Glu	Thr	Lys	Thr	Val	Asp	325	330	335	
Phe	Val	Leu	His	Ile	Glu	Pro	Gly	Arg	Lys	Ile	Tyr	Val	Asn	Glu	Ile	340	345	350	
His	Ile	Thr	Gly	Asn	Asn	Lys	Thr	Arg	Asp	Glu	Val	Val	Arg	Arg	Glu	355	360	365	

Leu	Arg	Gln	Met	Glu	Ser	Ala	Pro	Tyr	Asp	Thr	Ser	Lys	Leu	Gln	Arg
370						375					380				
Ser	Lys	Glu	Arg	Val	Glu	Leu	Leu	Gly	Tyr	Phe	Asp	Asn	Val	Gln	Phe
385					390					395					400
Asp	Ala	Val	Pro	Leu	Ala	Gly	Thr	Pro	Asp	Lys	Val	Asp	Leu	Asn	Met
				405					410					415	
Ser	Leu	Thr	Glu	Arg	Ser	Thr	Gly	Ser	Leu	Asp	Leu	Ser	Ala	Gly	Trp
			420					425					430		
Val	Gln	Asp	Thr	Gly	Leu	Val	Met	Ser	Ala	Gly	Val	Ser	Gln	Asp	Asn
		435					440					445			
Leu	Phe	Gly	Thr	Gly	Lys	Ser	Ala	Ala	Leu	Arg	Ala	Ser	Arg	Ser	Lys
	450					455					460				
Thr	Thr	Leu	Asn	Gly	Ser	Leu	Ser	Phe	Thr	Asp	Pro	Tyr	Phe	Thr	Ala
465					470					475					480
Asp	Gly	Val	Ser	Leu	Gly	Tyr	Asp	Val	Tyr	Gly	Lys	Ala	Phe	Asp	Pro
				485					490					495	
Arg	Lys	Ala	Ser	Thr	Ser	Ile	Lys	Gln	Tyr	Lys	Thr	Thr	Thr	Ala	Gly
			500					505					510		
Ala	Gly	Ile	Arg	Met	Ser	Val	Pro	Val	Thr	Glu	Tyr	Asp	Arg	Val	Asn
		515					520					525			
Phe	Gly	Leu	Val	Ala	Glu	His	Leu	Thr	Val	Asn	Thr	Tyr	Asn	Lys	Ala
	530					535					540				
Pro	Lys	His	Tyr	Ala	Asp	Phe	Ile	Lys	Lys	Tyr	Gly	Lys	Thr	Asp	Gly
545					550					555					560
Thr	Asp	Gly	Ser	Phe	Lys	Gly	Trp	Leu	Tyr	Lys	Gly	Thr	Val	Gly	Trp
				565					570					575	
Gly	Arg	Asn	Lys	Thr	Asp	Ser	Ala	Leu	Trp	Pro	Thr	Arg	Gly	Tyr	Leu
			580					585					590		
Thr	Gly	Val	Asn	Ala	Glu	Ile	Ala	Leu	Pro	Gly	Ser	Lys	Leu	Gln	Tyr
		595					600					605			
Tyr	Ser	Ala	Thr	His	Asn	Gln	Thr	Trp	Phe	Phe	Pro	Leu	Ser	Lys	Thr
	610					615					620				
Phe	Thr	Leu	Met	Leu	Gly	Gly	Glu	Val	Gly	Ile	Ala	Gly	Gly	Tyr	Gly
625					630					635					640
Arg	Thr	Lys	Glu	Ile	Pro	Phe	Phe	Glu	Asn	Phe	Tyr	Gly	Gly	Gly	Leu
				645					650					655	
Gly	Ser	Val	Arg	Gly	Tyr	Glu	Ser	Gly	Thr	Leu	Gly	Pro	Lys	Val	Tyr
			660					665					670		
Asp	Glu	Tyr	Gly	Glu	Lys	Ile	Ser	Tyr	Gly	Gly	Asn	Lys	Lys	Ala	Asn
		675					680					685			
Val	Ser	Ala	Glu	Leu	Leu	Phe	Pro	Met	Pro	Gly	Ala	Lys	Asp	Ala	Arg
						695					700				
Thr	Val	Arg	Leu	Ser	Leu	Phe	Ala	Asp	Ala	Gly	Ser	Val	Trp	Asp	Gly

705		710		715		720
Lys Thr Tyr Asp	Asp Asn Ser Ser Ser	Ala Thr Gly Gly Arg Val Gln				
	725	730			735	
Asn Ile Tyr Gly	Ala Gly Asn Thr His Lys Ser Thr Phe Thr Asn Glu					
	740	745			750	
Leu Arg Tyr Ser	Ala Gly Gly Ala Val Thr Trp Leu Ser Pro Leu Gly					
	755	760			765	
Pro Met Lys Phe Ser Tyr	Ala Tyr Pro Leu Lys Lys Lys Pro Glu Asp					
	770	775		780		
Glu Ile Gln Arg Phe Gln Phe Gln Leu Gly Thr Thr Phe						
785	790		795			
<210>	13					
<211>	180					
<212>	ΠPT					
<213>	Neisseria meningitidis					
<400>	13					
Met Val Ser Ala Val Ile Gly Ser Ala Ala Val Gly Ala Lys Ser Ala						
1	5	10		15		
Val Asp Arg Arg Thr Thr Gly Ala Gln Thr Asp Asp Asn Val Met Ala						
	20	25		30		
Leu Arg Ile Glu Thr Thr Ala Arg Ser Tyr Leu Arg Gln Asn Asn Gln						
	35	40		45		
Thr Lys Gly Tyr Thr Pro Gln Ile Ser Val Val Gly Tyr Asp Arg His						
	50	55		60		
Leu Leu Leu Leu Gly Gln Val Ala Thr Glu Gly Glu Lys Gln Phe Val						
65	70	75		80		
Gly Gln Ile Ala Arg Ser Glu Gln Ala Ala Glu Gly Val Tyr Asn Tyr						
	85	90		95		
Ile Thr Val Ala Ser Leu Pro Arg Thr Ala Gly Asp Ile Ala Gly Asp						
	100	105		110		
Thr Trp Asn Thr Ser Lys Val Arg Ala Thr Leu Leu Gly Ile Ser Pro						
	115	120		125		
Ala Thr Arg Ala Arg Val Lys Ile Val Thr Tyr Gly Asn Val Thr Tyr						
	130	135		140		
Val Met Gly Ile Leu Thr Pro Glu Glu Gln Ala Gln Ile Thr Gln Lys						
145	150	155		160		
Val Ser Thr Thr Val Gly Val Gln Lys Val Ile Thr Leu Tyr Gln Asn						
	165	170		175		
Tyr Val Gln Arg						
	180					
<210>	14					
<211>	644					
<212>	ΠPT					
<213>	Neisseria meningitidis					

<400> 14
 Met Ala Ser Pro Asp Val Lys Ser Ala Asp Thr Leu Ser Lys Pro Ala
 1 5 10 15
 Ala Pro Val Val Ser Glu Lys Glu Thr Glu Ala Lys Glu Asp Ala Pro
 20 25 30
 Gln Ala Gly Ser Gln Gly Gln Gly Ala Pro Ser Ala Gln Gly Gly Gln
 35 40 45
 Asp Met Ala Ala Val Ser Glu Glu Asn Thr Gly Asn Gly Gly Ala Ala
 50 55 60
 Ala Thr Asp Lys Pro Lys Asn Glu Asp Glu Gly Ala Gln Asn Asp Met
 65 70 75 80
 Pro Gln Asn Ala Ala Asp Thr Asp Ser Leu Thr Pro Asn His Thr Pro
 85 90 95
 Ala Ser Asn Met Pro Ala Gly Asn Met Glu Asn Gln Ala Pro Asp Ala
 100 105 110
 Gly Glu Ser Glu Gln Pro Ala Asn Gln Pro Asp Met Ala Asn Thr Ala
 115 120 125
 Asp Gly Met Gln Gly Asp Asp Pro Ser Ala Gly Gly Glu Asn Ala Gly
 130 135 140
 Asn Thr Ala Ala Gln Gly Thr Asn Gln Ala Glu Asn Asn Gln Thr Ala
 145 150 155 160
 Gly Ser Gln Asn Pro Ala Ser Ser Thr Asn Pro Ser Ala Thr Asn Ser
 165 170 175
 Gly Gly Asp Phe Gly Arg Thr Asn Val Gly Asn Ser Val Val Ile Asp
 180 185 190
 Gly Pro Ser Gln Asn Ile Thr Leu Thr His Cys Lys Gly Asp Ser Cys
 195 200 205
 Ser Gly Asn Asn Phe Leu Asp Glu Glu Val Gln Leu Lys Ser Glu Phe
 210 215 220
 Glu Lys Leu Ser Asp Ala Asp Lys Ile Ser Asn Tyr Lys Lys Asp Gly
 225 230 235 240
 Lys Asn Asp Gly Lys Asn Asp Lys Phe Val Gly Leu Val Ala Asp Ser
 245 250 255
 Val Gln Met Lys Gly Ile Asn Gln Tyr Ile Ile Phe Tyr Lys Pro Lys
 260 265 270
 Pro Thr Ser Phe Ala Arg Phe Arg Arg Ser Ala Arg Ser Arg Arg Ser
 275 280 285
 Leu Pro Ala Glu Met Pro Leu Ile Pro Val Asn Gln Ala Asp Thr Leu
 290 295 300
 Ile Val Asp Gly Glu Ala Val Ser Leu Thr Gly His Ser Gly Asn Ile
 305 310 315 320
 Phe Ala Pro Glu Gly Asn Tyr Arg Tyr Leu Thr Tyr Gly Ala Glu Lys
 325 330 335

Leu Pro Gly Gly Ser Tyr Ala Leu Arg Val Gln Gly Glu Pro Ser Lys
 340 345 350
 Gly Glu Met Leu Ala Gly Thr Ala Val Tyr Asn Gly Glu Val Leu His
 355 360 365
 Phe His Thr Glu Asn Gly Arg Pro Ser Pro Ser Arg Gly Arg Phe Ala
 370 375 380
 Ala Lys Val Asp Phe Gly Ser Lys Ser Val Asp Gly Ile Ile Asp Ser
 385 390 395 400
 Gly Asp Gly Leu His Met Gly Thr Gln Lys Phe Lys Ala Ala Ile Asp
 405 410 415
 Gly Asn Gly Phe Lys Gly Thr Trp Thr Glu Asn Gly Gly Gly Asp Val
 420 425 430
 Ser Gly Lys Phe Tyr Gly Pro Ala Gly Glu Glu Val Ala Gly Lys Tyr
 435 440 445
 Ser Tyr Arg Pro Thr Asp Ala Glu Lys Gly Gly Phe Gly Val Phe Ala
 450 455 460
 Gly Lys Lys Glu Gln Asp Gly Ser Gly Gly Gly Ala Thr Tyr Lys
 465 470 475 480
 Val Asp Glu Tyr His Ala Asn Ala Arg Phe Ala Ile Asp His Phe Asn
 485 490 495
 Thr Ser Thr Asn Val Gly Gly Phe Tyr Gly Leu Thr Gly Ser Val Glu
 500 505 510
 Phe Asp Gln Ala Lys Arg Asp Gly Lys Ile Asp Ile Thr Ile Pro Val
 515 520 525
 Ala Asn Leu Gln Ser Gly Ser Gln His Phe Thr Asp His Leu Lys Ser
 530 535 540
 Ala Asp Ile Phe Asp Ala Ala Gln Tyr Pro Asp Ile Arg Phe Val Ser
 545 550 555 560
 Thr Lys Phe Asn Phe Asn Gly Lys Lys Leu Val Ser Val Asp Gly Asn
 565 570 575
 Leu Thr Met His Gly Lys Thr Ala Pro Val Lys Leu Lys Ala Glu Lys
 580 585 590
 Phe Asn Cys Tyr Gln Ser Pro Met Ala Lys Thr Glu Val Cys Gly Gly
 595 600 605
 Asp Phe Ser Thr Thr Ile Asp Arg Thr Lys Trp Gly Val Asp Tyr Leu
 610 615 620
 Val Asn Val Gly Met Thr Lys Ser Val Arg Ile Asp Ile Gln Ile Glu
 625 630 635 640
 Ala Ala Lys Gln

<210> 15
 <211> 327
 <212> ΠPT
 <213> Neisseria meningitidis

<400> 15
 Ala Thr Asn Asp Asp Asp Val Lys Lys Ala Ala Thr Val Ala Ile Ala
 1 5 10 15
 Ala Ala Tyr Asn Asn Gly Gln Glu Ile Asn Gly Phe Lys Ala Gly Glu
 20 25 30
 Thr Ile Tyr Asp Ile Asp Glu Asp Gly Thr Ile Thr Lys Lys Asp Ala
 35 40 45
 Thr Ala Ala Asp Val Glu Ala Asp Asp Phe Lys Gly Leu Gly Leu Lys
 50 55 60
 Lys Val Val Thr Asn Leu Thr Lys Thr Val Asn Glu Asn Lys Gln Asn
 65 70 75 80
 Val Asp Ala Lys Val Lys Ala Ala Glu Ser Glu Ile Glu Lys Leu Thr
 85 90 95
 Thr Lys Leu Ala Asp Thr Asp Ala Ala Leu Ala Asp Thr Asp Ala Ala
 100 105 110
 Leu Asp Ala Thr Thr Asn Ala Leu Asn Lys Leu Gly Glu Asn Ile Thr
 115 120 125
 Thr Phe Ala Glu Glu Thr Lys Thr Asn Ile Val Lys Ile Asp Glu Lys
 130 135 140
 Leu Glu Ala Val Ala Asp Thr Val Asp Lys His Ala Glu Ala Phe Asn
 145 150 155 160
 Asp Ile Ala Asp Ser Leu Asp Glu Thr Asn Thr Lys Ala Asp Glu Ala
 165 170 175
 Val Lys Thr Ala Asn Glu Ala Lys Gln Thr Ala Glu Glu Thr Lys Gln
 180 185 190
 Asn Val Asp Ala Lys Val Lys Ala Ala Glu Thr Ala Ala Gly Lys Ala
 195 200 205
 Glu Ala Ala Ala Gly Thr Ala Asn Thr Ala Ala Asp Lys Ala Glu Ala
 210 215 220
 Val Ala Ala Lys Val Thr Asp Ile Lys Ala Asp Ile Ala Thr Asn Lys
 225 230 235 240
 Asp Asn Ile Ala Lys Lys Ala Asn Ser Ala Asp Val Tyr Thr Arg Glu
 245 250 255
 Glu Ser Asp Ser Lys Phe Val Arg Ile Asp Gly Leu Asn Ala Thr Thr
 260 265 270
 Glu Lys Leu Asp Thr Arg Leu Ala Ser Ala Glu Lys Ser Ile Ala Asp
 275 280 285
 His Asp Thr Arg Leu Asn Gly Leu Asp Lys Thr Val Ser Asp Leu Arg
 290 295 300
 Lys Glu Thr Arg Gln Gly Leu Ala Glu Gln Ala Ala Leu Ser Gly Leu
 305 310 315 320
 Phe Gln Pro Tyr Asn Val Gly
 325

<210> 16
<211> 248
<212> ПРТ
<213> Neisseria meningitidis

<400> 16
Val Ala Ala Asp Ile Gly Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro
1 5 10 15
Leu Asp His Lys Asp Lys Gly Leu Gln Ser Leu Thr Leu Asp Gln Ser
20 25 30
Val Arg Lys Asn Glu Lys Leu Lys Leu Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys
35 40 45
Thr Tyr Gly Asn Gly Asp Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp
50 55 60
Lys Val Ser Arg Phe Asp Phe Ile Arg Gln Ile Glu Val Asp Gly Gln
65 70 75 80
Leu Ile Thr Leu Glu Ser Gly Glu Phe Gln Val Tyr Lys Gln Ser His
85 90 95
Ser Ala Leu Thr Ala Phe Gln Thr Glu Gln Ile Gln Asp Ser Glu His
100 105 110
Ser Gly Lys Met Val Ala Lys Arg Gln Phe Arg Ile Gly Asp Ile Ala
115 120 125
Gly Glu His Thr Ser Phe Asp Lys Leu Pro Glu Gly Gly Arg Ala Thr
130 135 140
Tyr Arg Gly Thr Ala Phe Gly Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr
145 150 155 160
Tyr Thr Ile Asp Phe Ala Ala Lys Gln Gly Asn Gly Lys Ile Glu His
165 170 175
Leu Lys Ser Pro Glu Leu Asn Val Asp Leu Ala Ala Ala Asp Ile Lys
180 185 190
Pro Asp Gly Lys Arg His Ala Val Ile Ser Gly Ser Val Leu Tyr Asn
195 200 205
Gln Ala Glu Lys Gly Ser Tyr Ser Leu Gly Ile Phe Gly Gly Lys Ala
210 215 220
Gln Glu Val Ala Gly Ser Ala Glu Val Lys Thr Val Asn Gly Ile Arg
225 230 235 240
His Ile Gly Leu Ala Ala Lys Gln
245

<210> 17
<211> 250
<212> ПРТ
<213> Neisseria meningitidis

<400> 17
Val Ala Ala Asp Ile Gly Thr Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro
1 5 10 15

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

<210> 18
 <211> 273
 <212> ΠPT
 <213> Neisseria meningitidis

<400> 18
 Met Asn Arg Thr Ala Phe Cys Cys Leu Ser Leu Thr Ala Ala Leu Ile
 1 5 10 15
 Leu Thr Ala Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly
 20 25 30
 Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp Lys
 35 40 45
 Ser Leu Gln Ser Leu Thr Leu Asp Gln Ser Val Arg Lys Asn Glu Lys
 50 55 60
 Leu Lys Leu Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Tyr Gly Asn Gly Asp

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

Gln

<210> 19
 <211> 273
 <212> ΠPT
 <213> Neisseria meningitidis

<400> 19
 Met Asn Arg Thr Ala Phe Cys Cys Leu Ser Leu Thr Ala Ala Leu Ile
 1 5 10 15
 Leu Thr Ala Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly
 20 25 30
 Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp Lys
 35 40 45
 Ser Leu Gln Ser Leu Thr Leu Asp Gln Val Val Arg Lys Asn Glu Lys
 50 55 60
 Leu Lys Leu Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Tyr Gly Asn Gly Asp
 65 70 75 80
 Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Val Ser Arg Phe Asp
 85 90 95

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

Gln

<210> 20
 <211> 273
 <212> ПРТ
 <213> Neisseria meningitidis

<400> 20
 Met Asn Arg Thr Ala Phe Cys Cys Leu Ser Leu Thr Ala Ala Leu Ile
 1 5 10 15
 Leu Thr Ala Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly
 20 25 30
 Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp Lys
 35 40 45
 Ser Leu Gln Ser Leu Thr Leu Asp Gln Val Val Arg Lys Asn Glu Lys
 50 55 60
 Leu Lys Leu Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Tyr Gly Asn Gly Asp
 65 70 75 80
 Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Val Ser Arg Phe Asp
 85 90 95
 Phe Ile Arg Gln Ile Glu Val Asp Gly Gln Leu Ile Thr Leu Glu Ser
 100 105 110

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

Gln

<210> 21
 <211> 273
 <212> ΠPT
 <213> Neisseria meningitidis

<400> 21

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

Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys Ile Asp Ser Leu Ile Asn

130		135		140
Gln Arg Ser Phe Arg Val Ser Gly Leu Gly Gly Glu His Thr Ala Phe				
145		150	155	160
Asn Gln Leu Pro Asp Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser				
	165		170	175
Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala Ala				
	180		185	190
Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Thr Pro Glu Gln Asn				
	195		200	205
Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala				
	210		215	220
Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser Glu Glu Lys Gly Thr Tyr				
225		230	235	240
His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala				
	245		250	255
Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys				
	260		265	270

Gln

<210> 22
 <211> 273
 <212> IPT
 <213> Neisseria meningitidis

<400> 22

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

Asn	Gln	Leu	Pro	Asp	Gly	Lys	Ala	Glu	Tyr	His	Gly	Lys	Ala	Phe	Ser
				165					170					175	
Ser	Asp	Asp	Ala	Gly	Gly	Lys	Leu	Thr	Tyr	Thr	Ile	Asp	Phe	Ala	Ala
			180					185					190		
Lys	Gln	Gly	His	Gly	Lys	Ile	Glu	His	Leu	Lys	Thr	Pro	Glu	Gln	Asn
		195					200					205			
Val	Glu	Leu	Ala	Ala	Ala	Glu	Leu	Lys	Ala	Asp	Glu	Lys	Ser	His	Ala
	210					215					220				
Val	Ile	Leu	Gly	Asp	Thr	Arg	Tyr	Gly	Ser	Glu	Glu	Lys	Gly	Thr	Tyr
225					230					235					240
His	Leu	Ala	Leu	Phe	Gly	Asp	Arg	Ala	Gln	Glu	Ile	Ala	Gly	Ser	Ala
				245					250					255	
Thr	Val	Lys	Ile	Gly	Glu	Lys	Val	His	Glu	Ile	Gly	Ile	Ala	Gly	Lys
			260					265					270		

Gln

<210> 23
 <211> 273
 <212> ΠPT
 <213> Neisseria meningitidis

<400> 23
 Met Asn Arg Thr Ala Phe Cys Cys Leu Ser Leu Thr Ala Ala Leu Ile
 1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

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

Gln Arg Ser Phe Leu Val Gly Asp Leu Gly Gly Glu His Thr Ala Phe
 145 150 155 160

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

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

Gln

<210> 24
 <211> 273
 <212> IPT
 <213> Neisseria meningitidis

<400> 24
 Met Asn Arg Thr Ala Phe Cys Cys Leu Ser Leu Thr Ala Ala Leu Ile
 1 5 10 15
 Leu Thr Ala Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly
 20 25 30
 Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp Lys
 35 40 45
 Ser Leu Gln Ser Leu Thr Leu Asp Gln Ser Val Arg Lys Asn Glu Lys
 50 55 60
 Leu Lys Leu Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Tyr Gly Asn Gly Asp
 65 70 75 80
 Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Val Ser Arg Phe Asp
 85 90 95
 Phe Ile Arg Gln Ile Glu Val Asp Gly Gln Leu Ile Thr Leu Glu Ser
 100 105 110
 Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Gln Asp His Ser Ala Val Val Ala Leu
 115 120 125
 Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys Ser Asp Ser Leu Ile Asn
 130 135 140
 Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly Gly Glu His Thr Ala Phe
 145 150 155 160
 Asn Gln Leu Pro Asp Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser
 165 170 175
 Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala Ala
 180 185 190
 Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Thr Pro Glu Gln Asn

195					200					205					
Val	Glu	Leu	Ala	Ala	Ala	Glu	Leu	Lys	Ala	Asp	Glu	Lys	Ser	His	Ala
	210						215					220			
Val	Ile	Leu	Gly	Asp	Thr	Arg	Tyr	Gly	Ser	Glu	Glu	Lys	Gly	Thr	Tyr
	225					230					235				240
His	Leu	Ala	Leu	Phe	Gly	Asp	Arg	Ala	Gln	Glu	Ile	Ala	Gly	Ser	Ala
				245					250					255	
Thr	Val	Lys	Ile	Gly	Glu	Lys	Val	His	Glu	Ile	Gly	Ile	Ala	Gly	Lys
			260					265					270		

Gln

<210> 25
 <211> 273
 <212> ΠPT
 <213> Neisseria meningitidis

<400> 25
 Met Asn Arg Thr Ala Phe Cys Cys Leu Ser Leu Thr Ala Ala Leu Ile
 1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

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

Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly Gly Glu His Thr Ala Phe
 145 150 155 160

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

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

Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Thr Pro Glu Gln Asn
 195 200 205

Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala
 210 215 220

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

His	Leu	Ala	Leu	Phe	Gly	Asp	Arg	Ala	Gln	Glu	Ile	Ala	Gly	Ser	Ala
				245					250					255	

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

Gln

<210> 26
 <211> 273
 <212> ПРТ
 <213> Neisseria meningitidis

<400> 26
 Met Asn Arg Thr Ala Phe Cys Cys Leu Ser Leu Thr Ala Ala Leu Ile
 1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

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

Gln	Arg	Ser	Phe	Leu	Val	Ser	Gly	Leu	Gly	Gly	Glu	His	Thr	Ala	Phe
145					150					155					160

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

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

Lys	Gln	Gly	His	Gly	Lys	Ile	Glu	His	Leu	Lys	Thr	Pro	Glu	Gln	Asn
		195					200					205			

Val	Glu	Leu	Ala	Ala	Ala	Glu	Leu	Lys	Ala	Asp	Glu	Lys	Ser	His	Ala
	210					215					220				

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

His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala
 245 250 255
 Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys
 260 265 270
 Gln
 <210> 27
 <211> 273
 <212> ΠPT
 <213> Neisseria meningitidis
 <400> 27
 Met Asn Arg Thr Ala Phe Cys Cys Leu Ser Leu Thr Ala Ala Leu Ile
 1 5 10 15
 Leu Thr Ala Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly
 20 25 30
 Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp Lys
 35 40 45
 Ser Leu Gln Ser Leu Thr Leu Asp Gln Ser Val Arg Lys Asn Glu Lys
 50 55 60
 Leu Lys Leu Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Tyr Gly Asn Gly Asp
 65 70 75 80
 Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Val Ser Arg Phe Asp
 85 90 95
 Phe Ile Arg Gln Ile Glu Val Asp Gly Gln Leu Ile Thr Leu Glu Ser
 100 105 110
 Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Gln Asp His Ser Ala Val Val Ala Leu
 115 120 125
 Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys Ile Asp Ser Leu Ile Asn
 130 135 140
 Gln Arg Ser Cys Leu Val Ser Gly Leu Gly Gly Glu His Thr Ala Phe
 145 150 155 160
 Asn Gln Leu Pro Asp Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser
 165 170 175
 Cys Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala Ala
 180 185 190
 Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Thr Pro Glu Gln Asn
 195 200 205
 Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala
 210 215 220
 Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser Glu Glu Lys Gly Thr Tyr
 225 230 235 240
 His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala
 245 250 255
 Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys

260

265

270

Gln

<210> 28

<211> 273

<212> ΠPT

<213> Neisseria meningitidis

<400> 28

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gln Arg Ser Phe Leu Val Gly Asp Leu Gly Gly Glu His Thr Ala Phe
145 150 155 160

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

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

Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Thr Pro Glu Gln Asn
195 200 205

Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala
210 215 220

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

His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala
245 250 255

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

Gln

<210> 29
<211> 273
<212> ПРТ
<213> Neisseria meningitidis

<400> 29
Met Asn Arg Thr Ala Phe Cys Cys Leu Ser Leu Thr Ala Ala Leu Ile
1 5 10 15
Leu Thr Ala Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly
20 25 30
Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp Lys
35 40 45
Ser Leu Gln Ser Leu Thr Leu Asp Gln Ser Val Arg Lys Asn Glu Lys
50 55 60
Leu Lys Leu Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Tyr Gly Asn Gly Asp
65 70 75 80
Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Val Ser Arg Phe Asp
85 90 95
Phe Ile Arg Gln Ile Glu Val Asp Gly Gln Leu Ile Thr Leu Glu Ser
100 105 110
Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Gln Asp His Ser Ala Val Val Ala Leu
115 120 125
Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys Ile Asp Ser Leu Ile Asn
130 135 140
Gln Arg Ser Phe Arg Ile Gly Asp Ile Ala Gly Glu His Thr Ala Phe
145 150 155 160
Asn Gln Leu Pro Asp Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser
165 170 175
Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala Ala
180 185 190
Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Thr Pro Glu Gln Asn
195 200 205
Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala
210 215 220
Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser Glu Glu Lys Gly Thr Tyr
225 230 235 240
His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala
245 250 255
Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala Gly Lys
260 265 270
Gln

<210> 30
<211> 273
<212> ПРТ

<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 30

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly Gly Glu His Thr Ala Phe
145 150 155 160

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

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

Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Thr Pro Glu Gln Asn
 195 200 205

Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala
210 215 220

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

His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala
 245 250 255

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

Gln

<210> 31

<211> 273

<212> ΠPT

<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 31

Met Asn Arg Thr Ala Phe Cys Cys Leu Ser Leu Thr Ala Ala Leu Ile

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

Gln

<210> 32
 <211> 273
 <212> ΠPT
 <213> Neisseria meningitidis

<400> 32
 Met Asn Arg Thr Ala Phe Cys Cys Leu Ser Leu Thr Ala Ala Leu Ile
 1 5 10 15
 Leu Thr Ala Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly
 20 25 30

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

Gln

<210> 33
 <211> 273
 <212> NPPT
 <213> Neisseria meningitidis

<400> 33
 Met Asn Arg Thr Ala Phe Cys Cys Leu Ser Leu Thr Ala Ala Leu Ile
 1 5 10 15
 Leu Thr Ala Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly
 20 25 30
 Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp Lys
 35 40 45

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

Gln

<210> 34
 <211> 273
 <212> ΠPT
 <213> Neisseria meningitidis

<400> 34
 Met Asn Arg Thr Ala Phe Cys Cys Leu Ser Leu Thr Ala Ala Leu Ile
 1 5 10 15
 Leu Thr Ala Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly
 20 25 30
 Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp Lys
 35 40 45
 Ser Leu Gln Ser Leu Thr Leu Asp Gln Val Val Arg Lys Asn Glu Lys
 50 55 60
 Leu Lys Leu Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Tyr Gly Asn Gly Asp

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

Gln

<210> 35
 <211> 273
 <212> ΠPT
 <213> Neisseria meningitidis

<400> 35
 Met Asn Arg Thr Ala Phe Cys Cys Leu Ser Leu Thr Ala Ala Leu Ile
 1 5 10 15
 Leu Thr Ala Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly
 20 25 30
 Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp Lys
 35 40 45
 Ser Leu Gln Ser Leu Thr Leu Asp Gln Val Val Arg Lys Asn Glu Lys
 50 55 60
 Leu Lys Leu Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Tyr Gly Asn Gly Asp
 65 70 75 80
 Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Val Ser Arg Phe Asp
 85 90 95

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

Gln

<210> 36
 <211> 273
 <212> ΠPT
 <213> Neisseria meningitidis

<400> 36

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

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

Gln

<210> 37
 <211> 11
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> N-концевая последовательность

<400> 37
 Gly Pro Asp Ser Asp Arg Leu Gln Gln Arg Arg
 1 5 10

<210> 38
 <211> 7
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> N-концевая последовательность

<400> 38
 Gly Ser Lys Asp Ile Ser Ser
 1 5

<210> 39
 <211> 11
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> N-концевая последовательность

<400> 39
 Gly Ser Lys Asp Ile Ser Ser Gly Gly Gly Gly
 1 5 10

<210> 40
 <211> 262
 <212> ΠPT
 <213> Neisseria meningitidis

<400> 40
 Cys Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp
 1 5 10 15
 Ile Gly Thr Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys
 20 25 30
 Asp Lys Gly Leu Lys Ser Leu Thr Leu Glu Asp Ser Ile Pro Gln Asn
 35 40 45
 Gly Thr Leu Thr Leu Ser Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Phe Lys Ala
 50 55 60
 Gly Asp Lys Asp Asn Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys
 65 70 75 80
 Ile Ser Arg Phe Asp Phe Val Gln Lys Ile Glu Val Asp Gly Gln Thr
 85 90 95
 Ile Thr Leu Ala Ser Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Gln Asn His Ser
 100 105 110
 Ala Val Val Ala Leu Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys Thr
 115 120 125
 Asp Ser Leu Ile Asn Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly Gly
 130 135 140
 Glu His Thr Ala Phe Asn Gln Leu Pro Gly Gly Lys Ala Glu Tyr His
 145 150 155 160
 Gly Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp Pro Asn Gly Arg Leu His Tyr Ser
 165 170 175
 Ile Asp Phe Thr Lys Lys Gln Gly Tyr Gly Arg Ile Glu His Leu Lys
 180 185 190
 Thr Leu Glu Gln Asn Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala Asp
 195 200 205
 Glu Lys Ser His Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser Glu
 210 215 220
 Glu Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln Glu
 225 230 235 240
 Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu Ile
 245 250 255
 Gly Ile Ala Gly Lys Gln
 260

<210> 41
 <211> 250

<212> ПРТ
<213> Neisseria meningitidis

<400> 41
Val Ala Ala Asp Ile Gly Thr Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro
1 5 10 15
Leu Asp His Lys Asp Lys Gly Leu Lys Ser Leu Thr Leu Glu Asp Ser
20 25 30
Ile Pro Gln Asn Gly Thr Leu Thr Leu Ser Ala Gln Gly Ala Glu Lys
35 40 45
Thr Phe Lys Ala Gly Asp Lys Asp Asn Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu
50 55 60
Lys Asn Asp Lys Ile Ser Arg Phe Asp Phe Val Gln Lys Ile Glu Val
65 70 75 80
Asp Gly Gln Thr Ile Thr Leu Ala Ser Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys
85 90 95
Gln Asn His Ser Ala Val Val Ala Leu Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn
100 105 110
Pro Asp Lys Thr Asp Ser Leu Ile Asn Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser
115 120 125
Gly Leu Gly Gly Glu His Thr Ala Phe Asn Gln Leu Pro Gly Gly Lys
130 135 140
Ala Glu Tyr His Gly Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp Pro Asn Gly Arg
145 150 155 160
Leu His Tyr Ser Ile Asp Phe Thr Lys Lys Gln Gly Tyr Gly Arg Ile
165 170 175
Glu His Leu Lys Thr Leu Glu Gln Asn Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu
180 185 190
Leu Lys Ala Asp Glu Lys Ser His Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg
195 200 205
Tyr Gly Ser Glu Glu Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp
210 215 220
Arg Ala Gln Glu Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys
225 230 235 240
Val His Ala Ile Gly Ile Ala Gly Lys Gln
245 250

<210> 42
<211> 250
<212> ПРТ
<213> Neisseria meningitidis

<400> 42
Val Ala Ala Asp Ile Gly Thr Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro
1 5 10 15
Leu Asp His Lys Asp Lys Gly Leu Lys Ser Leu Thr Leu Glu Asp Val
20 25 30

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

<210> 44
 <211> 250
 <212> ΠPT
 <213> Neisseria meningitidis

<400> 44
 Val Ala Ala Asp Ile Gly Thr Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro
 1 5 10 15
 Leu Asp His Lys Asp Lys Gly Leu Lys Ser Leu Thr Leu Glu Asp Val
 20 25 30
 Ile Pro Gln Asn Gly Thr Leu Thr Leu Ser Ala Gln Gly Ala Glu Lys
 35 40 45
 Thr Phe Lys Ala Gly Asp Lys Asp Asn Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu
 50 55 60
 Lys Asn Asp Lys Ile Ser Arg Phe Asp Phe Val Gln Lys Ile Glu Val
 65 70 75 80
 Asp Gly Gln Thr Ile Thr Leu Ala Ser Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys
 85 90 95
 Gln Asn His Ser Ala Val Val Ala Leu Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn
 100 105 110
 Pro Asp Lys Thr Asp Ser Leu Ile Asn Gln Arg Ser Phe Arg Val Ser
 115 120 125
 Gly Leu Gly Gly Glu His Thr Ala Phe Asn Gln Leu Pro Gly Gly Lys
 130 135 140

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

Leu His Tyr Ser Ile Asp Phe Thr Lys Lys Gln Gly Tyr Gly Arg Ile
165 170 175

Glu His Leu Lys Thr Leu Glu Gln Asn Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu
180 185 190

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

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

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

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

<210> 45
<211> 247
<212> IPT
<213> Neisseria meningitidis

<400> 45
Val Ala Ala Asp Ile Gly Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro
1 5 10 15

Leu Asp His Lys Asp Lys Ser Leu Gln Ser Leu Thr Leu Asp Gln Val
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ala Val Val Ala Leu Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys
100 105 110

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

Gly Glu His Thr Ala Phe Asn Gln Leu Pro Asp Gly Lys Ala Glu Tyr
130 135 140

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

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

Lys Thr Pro Glu Gln Asn Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala
180 185 190

Asp Glu Lys Ser His Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser
 195 200 205

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

Glu Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu
 225 230 235 240

Ile Gly Ile Ala Gly Lys Gln
 245

<210> 46
 <211> 255
 <212> IPT
 <213> Neisseria meningitidis

<400> 46
 Cys Ser Ser Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly Ala Gly Leu
 1 5 10 15

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

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

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

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

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

Gln Val Tyr Lys Gln Ser His Ser Ala Leu Thr Ala Phe Gln Thr Glu
 100 105 110

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

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

Pro Glu Gly Gly Arg Ala Thr Tyr Arg Gly Thr Ala Phe Gly Ser Asp
 145 150 155 160

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

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

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

Ser Gly Ser Val Leu Tyr Asn Gln Ala Glu Lys Gly Ser Tyr Ser Leu
 210 215 220

Gly Ile Phe Gly Gly Lys Ala Gln Glu Val Ala Gly Ser Ala Glu Val
 225 230 235 240

Lys Thr Val Asn Gly Ile Arg His Ile Gly Leu Ala Ala Lys Gln

245					250					255					
<210>	47														
<211>	757														
<212>	ПРТ														
<213>	Искусственная последовательность														
<220>															
<223>	слитой мутант v2-v3-v1														
<400>	47														
Val	Ala	Ala	Asp	Ile	Gly	Ala	Gly	Leu	Ala	Asp	Ala	Leu	Thr	Ala	Pro
1				5					10					15	
Leu	Asp	His	Lys	Asp	Lys	Ser	Leu	Gln	Ser	Leu	Thr	Leu	Asp	Gln	Val
			20					25					30		
Val	Arg	Lys	Asn	Glu	Lys	Leu	Lys	Leu	Ala	Ala	Gln	Gly	Ala	Glu	Lys
		35					40					45			
Thr	Tyr	Gly	Asn	Gly	Asp	Ser	Leu	Asn	Thr	Gly	Lys	Leu	Lys	Asn	Asp
	50					55					60				
Lys	Val	Ser	Arg	Phe	Asp	Phe	Ile	Arg	Gln	Ile	Glu	Val	Asp	Gly	Gln
65					70					75					80
Leu	Ile	Thr	Leu	Glu	Ser	Gly	Glu	Phe	Gln	Ile	Tyr	Lys	Gln	Asp	His
				85					90					95	
Ser	Ala	Val	Val	Ala	Leu	Gln	Ile	Glu	Lys	Ile	Asn	Asn	Pro	Asp	Lys
			100					105					110		
Ile	Asp	Ser	Leu	Ile	Asn	Gln	Arg	Ser	Phe	Arg	Val	Ser	Gly	Leu	Gly
		115					120					125			
Gly	Glu	His	Thr	Ala	Phe	Asn	Gln	Leu	Pro	Asp	Gly	Lys	Ala	Glu	Tyr
	130					135					140				
His	Gly	Lys	Ala	Phe	Ser	Ser	Asp	Asp	Ala	Gly	Gly	Lys	Leu	Thr	Tyr
145					150					155					160
Thr	Ile	Asp	Phe	Ala	Ala	Lys	Gln	Gly	His	Gly	Lys	Ile	Glu	His	Leu
				165					170					175	
Lys	Thr	Pro	Glu	Gln	Asn	Val	Glu	Leu	Ala	Ala	Ala	Glu	Leu	Lys	Ala
			180					185					190		
Asp	Glu	Lys	Ser	His	Ala	Val	Ile	Leu	Gly	Asp	Thr	Arg	Tyr	Gly	Ser
		195					200					205			
Glu	Glu	Lys	Gly	Thr	Tyr	His	Leu	Ala	Leu	Phe	Gly	Asp	Arg	Ala	Gln
	210					215					220				
Glu	Ile	Ala	Gly	Ser	Ala	Thr	Val	Lys	Ile	Gly	Glu	Lys	Val	His	Glu
225					230					235					240
Ile	Gly	Ile	Ala	Gly	Lys	Gln	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Val	Ala	Ala
				245					250					255	
Asp	Ile	Gly	Thr	Gly	Leu	Ala	Asp	Ala	Leu	Thr	Ala	Pro	Leu	Asp	His
			260					265					270		
Lys	Asp	Lys	Gly	Leu	Lys	Ser	Leu	Thr	Leu	Glu	Asp	Val	Ile	Pro	Gln
		275					280					285			

Asn	Gly	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Ala	Gln	Gly	Ala	Glu	Lys	Thr	Phe	Lys		
290						295					300						
Ala	Gly	Asp	Lys	Asp	Asn	Ser	Leu	Asn	Thr	Gly	Lys	Leu	Lys	Asn	Asp		
305					310					315					320		
Lys	Ile	Ser	Arg	Phe	Asp	Phe	Val	Gln	Lys	Ile	Glu	Val	Asp	Gly	Gln		
				325					330					335			
Thr	Ile	Thr	Leu	Ala	Ser	Gly	Glu	Phe	Gln	Ile	Tyr	Lys	Gln	Asn	His		
			340					345					350				
Ser	Ala	Val	Val	Ala	Leu	Gln	Ile	Glu	Lys	Ile	Asn	Asn	Pro	Asp	Lys		
		355					360					365					
Thr	Asp	Ser	Leu	Ile	Asn	Gln	Arg	Ser	Phe	Arg	Val	Ser	Gly	Leu	Gly		
	370					375					380						
Gly	Glu	His	Thr	Ala	Phe	Asn	Gln	Leu	Pro	Gly	Gly	Lys	Ala	Glu	Tyr		
385					390					395					400		
His	Gly	Lys	Ala	Phe	Ser	Ser	Asp	Asp	Pro	Asn	Gly	Arg	Leu	His	Tyr		
				405					410					415			
Ser	Ile	Asp	Phe	Thr	Lys	Lys	Gln	Gly	Tyr	Gly	Arg	Ile	Glu	His	Leu		
			420					425					430				
Lys	Thr	Leu	Glu	Gln	Asn	Val	Glu	Leu	Ala	Ala	Ala	Glu	Leu	Lys	Ala		
		435					440					445					
Asp	Glu	Lys	Ser	His	Ala	Val	Ile	Leu	Gly	Asp	Thr	Arg	Tyr	Gly	Ser		
	450					455					460						
Glu	Glu	Lys	Gly	Thr	Tyr	His	Leu	Ala	Leu	Phe	Gly	Asp	Arg	Ala	Gln		
465					470					475					480		
Glu	Ile	Ala	Gly	Ser	Ala	Thr	Val	Lys	Ile	Gly	Glu	Lys	Val	His	Glu		
				485					490					495			
Ile	Gly	Ile	Ala	Gly	Lys	Gln	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Val	Ala	Ala		
			500					505					510				
Asp	Ile	Gly	Ala	Gly	Leu	Ala	Asp	Ala	Leu	Thr	Ala	Pro	Leu	Asp	His		
	515						520					525					
Lys	Asp	Lys	Gly	Leu	Gln	Ser	Leu	Thr	Leu	Asp	Gln	Ser	Val	Ser	Lys		
	530					535					540						
Asn	Glu	Lys	Leu	Lys	Leu	Ala	Ala	Gln	Gly	Ala	Glu	Lys	Thr	Tyr	Gly		
545					550					555					560		
Asn	Gly	Asp	Ser	Leu	Asn	Thr	Gly	Lys	Leu	Lys	Asn	Asp	Lys	Val	Ser		
				565					570					575			
Arg	Phe	Asp	Phe	Ile	Arg	Gln	Ile	Glu	Val	Asp	Gly	Gln	Leu	Ile	Thr		
			580					585					590				
Leu	Glu	Ser	Gly	Glu	Phe	Gln	Val	Tyr	Lys	Gln	Ser	His	Ser	Ala	Leu		
		595					600					605					
Thr	Ala	Phe	Gln	Thr	Glu	Gln	Ile	Gln	Asp	Ser	Glu	His	Ser	Gly	Lys		
	610					615					620						

Met Val Ala Lys Arg Gln Phe Arg Ile Gly Asp Ile Ala Gly Glu His
 625 630 635 640
 Thr Ser Phe Asp Lys Leu Pro Glu Gly Gly Arg Ala Thr Tyr Arg Gly
 645 650 655
 Thr Ala Phe Gly Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile
 660 665 670
 Asp Phe Ala Ala Lys Gln Gly Asn Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Ser
 675 680 685
 Pro Glu Leu Asn Val Asp Leu Ala Ala Ala Asp Ile Lys Pro Asp Gly
 690 695 700
 Lys Arg His Ala Val Ile Ser Gly Ser Val Leu Tyr Asn Gln Ala Glu
 705 710 715 720
 Lys Gly Ser Tyr Ser Leu Gly Ile Phe Gly Gly Lys Ala Gln Glu Val
 725 730 735
 Ala Gly Ser Ala Glu Val Lys Thr Val Asn Gly Ile Arg His Ile Gly
 740 745 750
 Leu Ala Ala Lys Gln
 755
 <210> 48
 <211> 769
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> слитой мутант v2-v3-v1
 <400> 48
 Met Gly Pro Asp Ser Asp Arg Leu Gln Gln Arg Arg Val Ala Ala Asp
 1 5 10 15
 Ile Gly Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys
 20 25 30
 Asp Lys Ser Leu Gln Ser Leu Thr Leu Asp Gln Val Val Arg Lys Asn
 35 40 45
 Glu Lys Leu Lys Leu Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Tyr Gly Asn
 50 55 60
 Gly Asp Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Val Ser Arg
 65 70 75 80
 Phe Asp Phe Ile Arg Gln Ile Glu Val Asp Gly Gln Leu Ile Thr Leu
 85 90 95
 Glu Ser Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Gln Asp His Ser Ala Val Val
 100 105 110
 Ala Leu Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys Ile Asp Ser Leu
 115 120 125
 Ile Asn Gln Arg Ser Phe Arg Val Ser Gly Leu Gly Gly Glu His Thr
 130 135 140
 Ala Phe Asn Gln Leu Pro Asp Gly Lys Ala Glu Tyr His Gly Lys Ala

145					150					155					160
Phe	Ser	Ser	Asp	Asp	Ala	Gly	Gly	Lys	Leu	Thr	Tyr	Thr	Ile	Asp	Phe
				165					170					175	
Ala	Ala	Lys	Gln	Gly	His	Gly	Lys	Ile	Glu	His	Leu	Lys	Thr	Pro	Glu
			180					185					190		
Gln	Asn	Val	Glu	Leu	Ala	Ala	Ala	Glu	Leu	Lys	Ala	Asp	Glu	Lys	Ser
		195					200					205			
His	Ala	Val	Ile	Leu	Gly	Asp	Thr	Arg	Tyr	Gly	Ser	Glu	Glu	Lys	Gly
	210					215					220				
Thr	Tyr	His	Leu	Ala	Leu	Phe	Gly	Asp	Arg	Ala	Gln	Glu	Ile	Ala	Gly
225					230					235					240
Ser	Ala	Thr	Val	Lys	Ile	Gly	Glu	Lys	Val	His	Glu	Ile	Gly	Ile	Ala
				245					250					255	
Gly	Lys	Gln	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Val	Ala	Ala	Asp	Ile	Gly	Thr
			260					265					270		
Gly	Leu	Ala	Asp	Ala	Leu	Thr	Ala	Pro	Leu	Asp	His	Lys	Asp	Lys	Gly
		275					280					285			
Leu	Lys	Ser	Leu	Thr	Leu	Glu	Asp	Val	Ile	Pro	Gln	Asn	Gly	Thr	Leu
	290					295					300				
Thr	Leu	Ser	Ala	Gln	Gly	Ala	Glu	Lys	Thr	Phe	Lys	Ala	Gly	Asp	Lys
305					310					315					320
Asp	Asn	Ser	Leu	Asn	Thr	Gly	Lys	Leu	Lys	Asn	Asp	Lys	Ile	Ser	Arg
				325					330					335	
Phe	Asp	Phe	Val	Gln	Lys	Ile	Glu	Val	Asp	Gly	Gln	Thr	Ile	Thr	Leu
			340					345					350		
Ala	Ser	Gly	Glu	Phe	Gln	Ile	Tyr	Lys	Gln	Asn	His	Ser	Ala	Val	Val
		355					360				365				
Ala	Leu	Gln	Ile	Glu	Lys	Ile	Asn	Asn	Pro	Asp	Lys	Thr	Asp	Ser	Leu
	370					375					380				
Ile	Asn	Gln	Arg	Ser	Phe	Arg	Val	Ser	Gly	Leu	Gly	Gly	Glu	His	Thr
385					390					395					400
Ala	Phe	Asn	Gln	Leu	Pro	Gly	Gly	Lys	Ala	Glu	Tyr	His	Gly	Lys	Ala
				405					410					415	
Phe	Ser	Ser	Asp	Asp	Pro	Asn	Gly	Arg	Leu	His	Tyr	Ser	Ile	Asp	Phe
			420					425					430		
Thr	Lys	Lys	Gln	Gly	Tyr	Gly	Arg	Ile	Glu	His	Leu	Lys	Thr	Leu	Glu
		435					440					445			
Gln	Asn	Val	Glu	Leu	Ala	Ala	Ala	Glu	Leu	Lys	Ala	Asp	Glu	Lys	Ser
	450					455					460				
His	Ala	Val	Ile	Leu	Gly	Asp	Thr	Arg	Tyr	Gly	Ser	Glu	Glu	Lys	Gly
465					470					475					480
Thr	Tyr	His	Leu	Ala	Leu	Phe	Gly	Asp	Arg	Ala	Gln	Glu	Ile	Ala	Gly
				485					490					495	

Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu Ile Gly Ile Ala
 500 505 510
 Gly Lys Gln Gly Ser Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly Ala
 515 520 525
 Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro Leu Asp His Lys Asp Lys Gly
 530 535 540
 Leu Gln Ser Leu Thr Leu Asp Gln Ser Val Ser Lys Asn Glu Lys Leu
 545 550 555 560
 Lys Leu Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys Thr Tyr Gly Asn Gly Asp Ser
 565 570 575
 Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp Lys Val Ser Arg Phe Asp Phe
 580 585 590
 Ile Arg Gln Ile Glu Val Asp Gly Gln Leu Ile Thr Leu Glu Ser Gly
 595 600 605
 Glu Phe Gln Val Tyr Lys Gln Ser His Ser Ala Leu Thr Ala Phe Gln
 610 615 620
 Thr Glu Gln Ile Gln Asp Ser Glu His Ser Gly Lys Met Val Ala Lys
 625 630 635 640
 Arg Gln Phe Arg Ile Gly Asp Ile Ala Gly Glu His Thr Ser Phe Asp
 645 650 655
 Lys Leu Pro Glu Gly Gly Arg Ala Thr Tyr Arg Gly Thr Ala Phe Gly
 660 665 670
 Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr Thr Ile Asp Phe Ala Ala
 675 680 685
 Lys Gln Gly Asn Gly Lys Ile Glu His Leu Lys Ser Pro Glu Leu Asn
 690 695 700
 Val Asp Leu Ala Ala Ala Asp Ile Lys Pro Asp Gly Lys Arg His Ala
 705 710 715 720
 Val Ile Ser Gly Ser Val Leu Tyr Asn Gln Ala Glu Lys Gly Ser Tyr
 725 730 735
 Ser Leu Gly Ile Phe Gly Gly Lys Ala Gln Glu Val Ala Gly Ser Ala
 740 745 750
 Glu Val Lys Thr Val Asn Gly Ile Arg His Ile Gly Leu Ala Ala Lys
 755 760 765

Gln

<210> 49
 <211> 248
 <212> ПРТ
 <213> Neisseria meningitidis

<400> 49
 Val Ala Ala Asp Ile Gly Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro
 1 5 10 15

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

<210> 50
 <211> 6
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Линкер

<400> 50
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 1 5

<210> 51
 <211> 247
 <212> ПРТ
 <213> Neisseria meningitidis

<400> 51
 Val Ala Ala Asp Ile Gly Ala Arg Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro

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

<210> 52
 <211> 248
 <212> ПРТ
 <213> Neisseria meningitidis

<400> 52
 Val Ala Ala Asp Ile Gly Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro
 1 5 10 15
 Leu Asp His Lys Asp Lys Gly Leu Gln Ser Leu Thr Leu Asp Gln Ser
 20 25 30
 Val Arg Lys Asn Glu Lys Leu Lys Leu Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys
 35 40 45
 Thr Tyr Gly Asn Gly Asp Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp
 50 55 60

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

<210> 53
 <211> 250
 <212> ΠPT
 <213> Neisseria meningitidis

<400> 53
 Val Ala Ala Asp Ile Gly Thr Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro
 1 5 10 15
 Leu Asp His Lys Asp Lys Gly Leu Lys Ser Leu Thr Leu Glu Asp Ser
 20 25 30
 Ile Pro Gln Asn Gly Thr Leu Thr Leu Ser Ala Gln Gly Ala Glu Lys
 35 40 45
 Thr Phe Lys Ala Gly Asp Lys Asp Asn Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu
 50 55 60
 Lys Asn Asp Lys Ile Ser Arg Phe Asp Phe Val Gln Lys Ile Glu Val
 65 70 75 80
 Asp Gly Gln Thr Ile Thr Leu Ala Ser Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys
 85 90 95
 Gln Asn His Ser Ala Val Val Ala Leu Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn
 100 105 110

Pro	Asp	Lys	Thr	Asp	Ser	Leu	Ile	Asn	Gln	Arg	Ser	Phe	Arg	Val	Ser
		115					120					125			
Gly	Leu	Gly	Gly	Glu	His	Thr	Ala	Phe	Asn	Gln	Leu	Pro	Gly	Gly	Lys
	130					135					140				
Ala	Glu	Tyr	His	Gly	Lys	Ala	Phe	Ser	Ser	Asp	Asp	Pro	Asn	Gly	Arg
145					150					155					160
Leu	His	Tyr	Ser	Ile	Asp	Phe	Thr	Lys	Lys	Gln	Gly	Tyr	Gly	Arg	Ile
				165					170					175	
Glu	His	Leu	Lys	Thr	Leu	Glu	Gln	Asn	Val	Glu	Leu	Ala	Ala	Ala	Glu
			180					185					190		
Leu	Lys	Ala	Asp	Glu	Lys	Ser	His	Ala	Val	Ile	Leu	Gly	Asp	Thr	Arg
	195						200					205			
Tyr	Gly	Ser	Glu	Glu	Lys	Gly	Thr	Tyr	His	Leu	Ala	Leu	Phe	Gly	Asp
	210					215					220				
Arg	Ala	Gln	Glu	Ile	Ala	Gly	Ser	Ala	Thr	Val	Lys	Ile	Gly	Glu	Lys
225					230					235					240
Val	His	Glu	Ile	Gly	Ile	Ala	Gly	Lys	Gln						
				245					250						
<210>		54													
<211>		273													
<212>		NP													
<213>		Neisseria meningitidis													
<400>		54													
Met	Asn	Arg	Thr	Ala	Phe	Cys	Cys	Leu	Ser	Leu	Thr	Thr	Ala	Leu	Ile
1				5					10					15	
Leu	Thr	Ala	Cys	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Val	Ala	Ala	Asp	Ile	Gly
			20					25					30		
Ala	Arg	Leu	Ala	Asp	Ala	Leu	Thr	Ala	Pro	Leu	Asp	His	Lys	Asp	Lys
		35					40					45			
Ser	Leu	Gln	Ser	Leu	Thr	Leu	Asp	Gln	Ser	Val	Arg	Lys	Asn	Glu	Lys
	50					55					60				
Leu	Lys	Leu	Ala	Ala	Gln	Gly	Ala	Glu	Lys	Thr	Tyr	Gly	Asn	Gly	Asp
65					70					75					80
Ser	Leu	Asn	Thr	Gly	Lys	Leu	Lys	Asn	Asp	Lys	Val	Ser	Arg	Phe	Asp
				85					90					95	
Phe	Ile	Arg	Gln	Ile	Glu	Val	Asp	Gly	Gln	Leu	Ile	Thr	Leu	Glu	Ser
			100					105					110		
Gly	Glu	Phe	Gln	Ile	Tyr	Lys	Gln	Asp	His	Ser	Ala	Val	Val	Ala	Leu
		115					120					125			
Gln	Ile	Glu	Lys	Ile	Asn	Asn	Pro	Asp	Lys	Ile	Asp	Ser	Leu	Ile	Asn
	130					135					140				
Gln	Arg	Ser	Phe	Leu	Val	Ser	Gly	Leu	Gly	Gly	Glu	His	Thr	Ala	Phe
145					150					155					160
Asn	Gln	Leu	Pro	Asp	Gly	Lys	Ala	Glu	Tyr	His	Gly	Lys	Ala	Phe	Ser

			165					170					175				
Ser	Asp	Asp	Ala 180	Gly	Gly	Lys	Leu	Thr 185	Tyr	Thr	Ile	Asp	Phe 190	Ala	Ala		
Lys	Gln	Gly 195	His	Gly	Lys	Ile	Glu 200	His	Leu	Lys	Thr	Pro 205	Glu	Gln	Asn		
Val	Glu 210	Leu	Ala	Ala	Ala	Glu 215	Leu	Lys	Ala	Asp	Glu 220	Lys	Ser	His	Ala		
Val 225	Ile	Leu	Gly	Asp	Thr 230	Arg	Tyr	Gly	Ser	Glu 235	Glu	Lys	Gly	Thr	Tyr 240		
His	Leu	Ala	Leu	Phe 245	Gly	Asp	Arg	Ala	Gln 250	Glu	Ile	Ala	Gly	Ser 255	Ala		
Thr	Val	Lys	Ile 260	Gly	Glu	Lys	Val	His 265	Glu	Ile	Gly	Ile	Ala 270	Gly	Lys		
Gln																	
<210>		55															
<211>		247															
<212>		ΠPT															
<213>		Neisseria meningitidis															
<400>		55															
Val 1	Ala	Ala	Asp	Ile 5	Gly	Ala	Arg	Leu 10	Ala	Asp	Ala	Leu	Thr 15	Ala	Pro		
Leu	Asp	His	Lys 20	Asp	Lys	Ser	Leu	Gln 25	Ser	Leu	Thr	Leu 30	Asp	Gln	Ser		
Val	Arg	Lys 35	Asn	Glu	Lys	Leu	Lys 40	Leu	Ala	Ala	Gln	Gly 45	Ala	Glu	Lys		
Thr	Tyr 50	Gly	Asn	Gly	Asp	Ser 55	Leu	Asn	Thr	Gly	Lys 60	Leu	Lys	Asn	Asp		
Lys 65	Val	Ser	Arg	Phe	Asp 70	Phe	Ile	Arg	Gln	Ile 75	Glu	Val	Asp	Gly	Gln 80		
Leu	Ile	Thr	Leu	Glu 85	Ser	Gly	Glu	Phe 90	Gln	Ile	Tyr	Lys	Gln 95	Asp	His		
Ser	Ala	Val	Val 100	Ala	Leu	Gln	Ile	Glu 105	Lys	Ile	Asn	Asn 110	Pro	Asp	Lys		
Ile	Asp	Ser 115	Leu	Ile	Asn	Gln	Arg 120	Ser	Phe	Leu	Val	Ser 125	Gly	Leu	Gly		
Gly	Glu 130	His	Thr	Ala	Phe	Asn 135	Gln	Leu	Pro	Asp	Gly 140	Lys	Ala	Glu	Tyr		
His 145	Gly	Lys	Ala	Phe	Ser 150	Ser	Asp	Asp	Ala	Gly 155	Gly	Lys	Leu	Thr	Tyr 160		
Thr	Ile	Asp	Phe 165	Ala	Ala	Lys	Gln	Gly 170	His	Gly	Lys	Ile	Glu 175	His	Leu		
Lys	Thr	Pro	Glu 180	Gln	Asn	Val	Glu	Leu 185	Ala	Ala	Ala	Glu	Leu 190	Lys	Ala		

Asp Glu Lys Ser His Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser
195 200 205

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

Glu Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu
225 230 235 240

Ile Gly Ile Ala Gly Lys Gln
245

<210> 56

<211> 247

<212> IPT

<213> Neisseria meningitidis

<400> 56

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

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

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

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

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

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

Ser Ala Val Val Ala Leu Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys
100 105 110

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

Gly Glu His Thr Ala Phe Asn Gln Leu Pro Asp Gly Lys Ala Glu Tyr
130 135 140

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

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

Lys Thr Pro Glu Gln Asn Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala
180 185 190

Asp Glu Lys Ser His Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser
195 200 205

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

Glu Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Ala
225 230 235 240

Ile Gly Ile Ala Gly Lys Gln
245

<210> 57

<211> 247

<212> ПРТ

<213> Neisseria meningitidis

<400> 57

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

Leu Asp His Lys Asp Lys Ser Leu Gln Ser Leu Thr Leu Asp Gln Val
20 25 30

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

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

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

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

Ser Ala Val Val Ala Leu Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys
100 105 110

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

Gly Glu His Thr Ala Phe Asn Gln Leu Pro Asp Gly Lys Ala Glu Tyr
130 135 140

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

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

Lys Thr Pro Glu Gln Asn Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala
180 185 190

Asp Glu Lys Ser His Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser
195 200 205

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

Glu Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Ala
225 230 235 240

Ile Gly Ile Ala Gly Lys Gln
245

<210> 58

<211> 247

<212> ПРТ

<213> Neisseria meningitidis

<400> 58

Val Ala Ala Asp Ile Gly Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro

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

<210> 59
 <211> 254
 <212> ΠPT
 <213> Neisseria meningitidis

<400>	59														
Cys	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Val	Ala	Ala	Asp	Ile	Gly	Ala	Arg	Leu
1			5					10					15		
Ala	Asp	Ala	Leu	Thr	Ala	Pro	Leu	Asp	His	Lys	Asp	Lys	Ser	Leu	Gln
			20					25					30		
Ser	Leu	Thr	Leu	Asp	Gln	Ser	Val	Arg	Lys	Asn	Glu	Lys	Leu	Lys	Leu
		35					40					45			
Ala	Ala	Gln	Gly	Ala	Glu	Lys	Thr	Tyr	Gly	Asn	Gly	Asp	Ser	Leu	Asn
	50					55					60				

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

<210> 60
 <211> 254
 <212> ΠPT
 <213> Neisseria meningitidis

<400>	60														
Cys	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Val	Ala	Ala	Asp	Ile	Gly	Ala	Arg	Leu
1				5					10					15	
Ala	Asp	Ala	Leu	Thr	Ala	Pro	Leu	Asp	His	Lys	Asp	Lys	Ser	Leu	Gln
			20					25					30		
Ser	Leu	Thr	Leu	Asp	Gln	Val	Val	Arg	Lys	Asn	Glu	Lys	Leu	Lys	Leu
		35					40					45			
Ala	Ala	Gln	Gly	Ala	Glu	Lys	Thr	Tyr	Gly	Asn	Gly	Asp	Ser	Leu	Asn
	50					55					60				
Thr	Gly	Lys	Leu	Lys	Asn	Asp	Lys	Val	Ser	Arg	Phe	Asp	Phe	Ile	Arg
65					70					75					80
Gln	Ile	Glu	Val	Asp	Gly	Gln	Leu	Ile	Thr	Leu	Glu	Ser	Gly	Glu	Phe
				85					90					95	
Gln	Ile	Tyr	Lys	Gln	Asp	His	Ser	Ala	Val	Val	Ala	Leu	Gln	Ile	Glu
			100					105					110		

Lys	Ile	Asn	Asn	Pro	Asp	Lys	Ile	Asp	Ser	Leu	Ile	Asn	Gln	Arg	Ser		
		115					120					125					
Phe	Arg	Val	Ser	Gly	Leu	Gly	Gly	Glu	His	Thr	Ala	Phe	Asn	Gln	Leu		
	130					135					140						
Pro	Asp	Gly	Lys	Ala	Glu	Tyr	His	Gly	Lys	Ala	Phe	Ser	Ser	Asp	Asp		
145					150					155					160		
Ala	Gly	Gly	Lys	Leu	Thr	Tyr	Thr	Ile	Asp	Phe	Ala	Ala	Lys	Gln	Gly		
				165					170					175			
His	Gly	Lys	Ile	Glu	His	Leu	Lys	Thr	Pro	Glu	Gln	Asn	Val	Glu	Leu		
			180					185					190				
Ala	Ala	Ala	Glu	Leu	Lys	Ala	Asp	Glu	Lys	Ser	His	Ala	Val	Ile	Leu		
		195					200						205				
Gly	Asp	Thr	Arg	Tyr	Gly	Ser	Glu	Glu	Lys	Gly	Thr	Tyr	His	Leu	Ala		
	210					215					220						
Leu	Phe	Gly	Asp	Arg	Ala	Gln	Glu	Ile	Ala	Gly	Ser	Ala	Thr	Val	Lys		
225					230					235					240		
Ile	Gly	Glu	Lys	Val	His	Glu	Ile	Gly	Ile	Ala	Gly	Lys	Gln				
				245					250								

<210> 61
 <211> 250
 <212> ΠPT
 <213> Neisseria meningitidis

<400>	61																
Val	Ala	Ala	Asp	Ile	Gly	Thr	Gly	Leu	Ala	Asp	Ala	Leu	Thr	Ala	Pro		
1				5					10					15			
Leu	Asp	His	Lys	Asp	Lys	Gly	Leu	Lys	Ser	Leu	Thr	Leu	Glu	Asp	Val		
			20					25					30				
Ile	Pro	Gln	Asn	Gly	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Ala	Gln	Gly	Ala	Glu	Lys		
		35					40					45					
Thr	Phe	Lys	Ala	Gly	Asp	Lys	Asp	Asn	Ser	Leu	Asn	Thr	Gly	Lys	Leu		
	50					55					60						
Lys	Asn	Asp	Lys	Ile	Ser	Arg	Phe	Asp	Phe	Val	Gln	Lys	Ile	Glu	Val		
65					70					75					80		
Asp	Gly	Gln	Thr	Ile	Thr	Leu	Ala	Ser	Gly	Glu	Phe	Gln	Ile	Tyr	Lys		
				85					90					95			
Gln	Asn	His	Ser	Ala	Val	Val	Ala	Leu	Gln	Ile	Glu	Lys	Ile	Asn	Asn		
			100					105					110				
Pro	Asp	Lys	Thr	Asp	Ser	Leu	Ile	Asn	Gln	Arg	Ser	Phe	Arg	Val	Ser		
		115					120						125				
Gly	Leu	Gly	Gly	Glu	His	Thr	Ala	Phe	Asn	Gln	Leu	Pro	Gly	Gly	Lys		
	130					135					140						
Ala	Glu	Tyr	His	Gly	Lys	Ala	Phe	Ser	Ser	Asp	Asp	Pro	Asn	Gly	Arg		
145					150					155					160		
Leu	His	Tyr	Ser	Ile	Asp	Phe	Thr	Lys	Lys	Gln	Gly	Tyr	Gly	Arg	Ile		

				165						170						175
Glu	His	Leu	Lys	Thr	Leu	Glu	Gln	Asn	Val	Glu	Leu	Ala	Ala	Ala	Glu	
			180					185					190			
Leu	Lys	Ala	Asp	Glu	Lys	Ser	His	Ala	Val	Ile	Leu	Gly	Asp	Thr	Arg	
		195					200					205				
Tyr	Gly	Ser	Glu	Glu	Lys	Gly	Thr	Tyr	His	Leu	Ala	Leu	Phe	Gly	Asp	
	210					215					220					
Arg	Ala	Gln	Glu	Ile	Ala	Gly	Ser	Ala	Thr	Val	Lys	Ile	Gly	Glu	Lys	
225					230					235					240	
Val	His	Glu	Ile	Gly	Ile	Ala	Gly	Lys	Gln							
				245					250							

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Мутантный v3 или v2 белок, связывающий фактор H (fHbp), представляющий собой:

(А) полипептид, содержащий мутантную аминокислотную последовательность fHbp v2, где: (а) аминокислотная последовательность имеет по меньшей мере 80% идентичность последовательности SEQ ID NO: 5 и/или содержит фрагмент SEQ ID NO: 5, длина которого составляет по меньшей мере 7 аминокислот и который содержит S32 из SEQ ID NO: 5; но (б) аминокислотная последовательность отличается от SEQ ID NO: 5 по остатку S32, при условии, что если мутантная аминокислотная последовательность fHbp v2 включает замену исключительно по остатку 32, то либо эта замена не представляет собой замену на аланин, либо по меньшей мере один из следующих остатков заменен: V33, L39, L41, F69, V100, I113, F122, L123, V124, S125, G126, L127, G128, S151, H239 и/или E240;

или

(Б) полипептид, содержащий мутантную аминокислотную последовательность fHbp v3, где: (а) аминокислотная последовательность обладает по меньшей мере 80% идентичностью последовательности SEQ ID NO: 17 и/или содержит фрагмент SEQ ID NO: 17, длина которого составляет по меньшей мере 7 аминокислот и который содержит S32 из SEQ ID NO: 17; но (б) аминокислотная последовательность отличается от SEQ ID NO: 17 по остатку S32, при условии, что если мутантная аминокислотная последовательность fHbp v3 включает замену исключительно по остатку 32, то либо эта замена не представляет собой замену на аланин, либо по меньшей мере один из следующих остатков заменен: I33, L39, L41, F72, V103, T116, F125, L126, V127, S128, G129, L130, G131, S154, H242 и/или E243.

2. Полипептид по п. 1, где: (А) аминокислотная последовательность отличается от SEQ ID NO: 5 заменой по S32 и одному или более чем одному из V33, L39, L41, F69, V100, I113, F122, L123, V124, S125, G126, L127, G128, S151, H239 и/или E240; например, когда замена(ы) выбрана(ы) из группы, состоящей из: S32V; V33C; L39C; L41C; F69C; V100T; I113S; F122C; L123R; V124I; S125G или S125T; G126D; L127I; G128A; S151C; H239R; E240H; или (Б) аминокислотная последовательность отличается от SEQ ID NO: 17 заменой по

S32 и одному или более чем одному из I33, L39, L41, F72, V103, T116, F125, L126, V127, S128, G129, L130, G131, S154, H242 и/или E243; например, когда замена(ы) выбрана(ы) из группы, состоящей из: S32V; I33C; L39C; L41C; F72C; V103T; T116S; F125C; L126R; V127I; S128G или S128T; G129D; L130I; G131A; S154C; H242R; и E243H.

3. Полипептид по п. 1(A), содержащий замены по множеству остатков, которые выбраны из групп 2Б, 2И, 2К или 2П следующим образом:

2Б: остатки 32 и 123;

2И: остатки 32 и 125;

2К: остатки 32, 123 и 125; или

2П: остатки 32, 123, 124, 125, 126, 127 и 128.

4. Полипептид по п. 3, содержащий замены S32V и L123R по сравнению с SEQ ID NO: 5; возможно дополнительно содержащий замены V124I, S125G, G126D, L127I, G128A; например, содержащий SEQ ID NO: 20, или SEQ ID NO: 45, или SEQ ID NO: 58.

5. Полипептид по п. 1(Б), содержащий замены по множеству остатков, которые выбраны из групп 3Б, 3И, 3К или 3П следующим образом:

3Б: остатки 32 и 126;

3И: остатки 32 и 128;

3К: остатки 32, 126 и 128; или

3П: остатки 32, 126, 127, 128, 129, 130 и 131.

6. Полипептид по п. 5, содержащий замены S32V и L126R по сравнению с SEQ ID NO: 17; возможно дополнительно содержащий замены V127I, S128G, G129D, L130I, G131A; например, содержащий SEQ ID NO: 44 или SEQ ID NO: 61.

7. Полипептид по любому из пп. 1-6, также включающий одну или более чем одну дополнительную(ые) мутацию(и), которая(ые) нарушает(ют) способность полипептида связываться с человеческим фактором H; например v2, включающий замену по одному или более чем одному из остатков R73, D203, E210, G228, S121, F122, A192, E194, V199, I200, L201, T213, H215, F219, T231 и E240, или v3, включающий замену по одному или более чем одному из остатков Q35, I178, L87, A88, V127, V202, E213, T216, H218, T234, V241, E243 и G248.

8. Полипептид, содержащий:

- аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 45, возможно с 1, 2, 3, 4 или 5 единичными аминокислотными заменами, делециями и/или вставками, где полипептид может вызывать образование антител, которые связываются с менингококковым полипептидом fHbp, состоящим из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 2 (например, содержащим аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 45 с 1, 2 или 3 единичными аминокислотными заменами), но не имеющую мутации по остатку V32 или R123;

- аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 44, возможно с 1, 2, 3, 4 или 5 единичными аминокислотными заменами, делециями и/или вставками, где полипептид может вызывать образование антител, которые связываются с менингококковым полипептидом fHbp, состоящим из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 40 (например, содержащим аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 44 с 1, 2 или 3 единичными аминокислотными заменами), но не имеющую мутации по остатку V32 или R126;

- аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 58, возможно с 1, 2, 3, 4 или 5 единичными аминокислотными заменами, делециями и/или вставками, где полипептид может вызывать образование антител, которые связываются с менингококковым полипептидом fHbp, состоящим из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 2 (например, содержащим аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 58 с 1, 2 или 3 единичными аминокислотными заменами), но не имеющую мутации по остатку V32;

- аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, возможно с 1, 2, 3, 4 или 5 единичными аминокислотными заменами, делециями и/или вставками, где полипептид может вызывать образование антител, которые связываются с менингококковым полипептидом fHbp, состоящим из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 2 (например, содержащим аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61 с 1, 2 или 3 единичными аминокислотными заменами), но не имеющую мутации по остатку V32;

- аминокислотную последовательность fHbp v3, которая идентична аминокислотной последовательности v3 дикого типа, за исключением мутации по аминокислотному положению, соответствующему Leu-126 в SEQ ID NO: 17,

при условии, что мутация не представляет собой замену на аланин (например, когда мутация представляет собой замену на аргинин);

- аминокислотную последовательность fHbp v2, которая идентична аминокислотной последовательности v2 дикого типа, за исключением мутации по аминокислотному положению, соответствующему Leu-123 в SEQ ID NO: 5, при условии, что мутация не представляет собой замену на аланин (например, когда мутация представляет собой замену на аргинин); или

- аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 47, возможно с 1, 2, 3, 4 или 5 единичными аминокислотными заменами, делециями и/или вставками, где полипептид может вызывать образование антител, которые связываются с каждым из следующих: менингококковым полипептидом fHbp, состоящим из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 46; менингококковым полипептидом fHbp, состоящим из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 4; и менингококковым полипептидом fHbp, состоящим из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 40 (например, состоящим из последовательности SEQ ID NO: 48).

9. Плазмида или другая нуклеиновая кислота, содержащая нуклеотидную последовательность, кодирующую полипептид по любому из пп. 1-8.

10. Клетка-хозяин, трансформированная плазмидой по п. 9; например, когда клетка представляет собой бактерию менингококк, такую как бактерию менингококк, имеющую понижающую регуляцию или нокаут гена *mltA* и также возможно имеющую понижающую регуляцию или нокаут: (1) по меньшей мере одного гена, участвующего в придании токсичности фрагменту липида A в липополисахариде (LPS), в частности *lpxI1*; и/или (2) по меньшей мере одного гена, участвующего в синтезе или экспорте капсульного полисахарида, в частности *synX* и/или *ctrA*.

11. Мембранные везикулы, полученные из клетки-хозяина по п. 9, которые включают полипептид по любому из пп. 1-8.

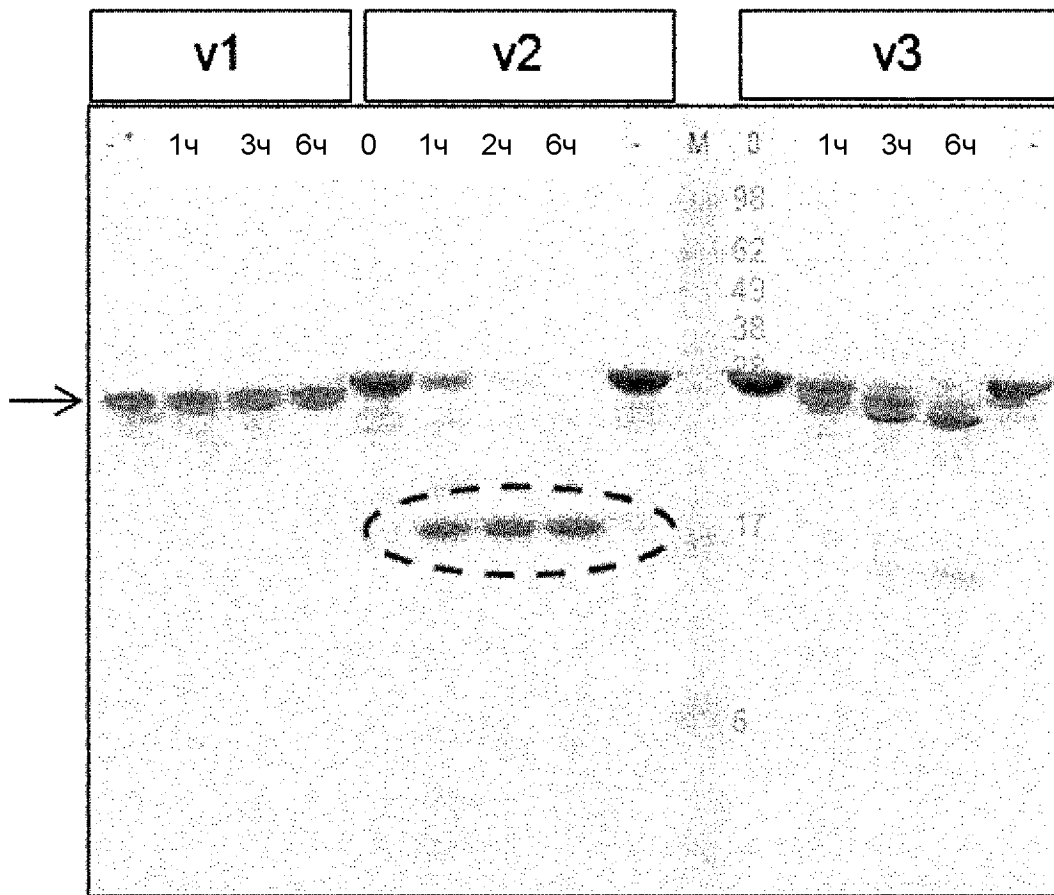
12. Иммуногенная композиция, содержащая полипептид по любому из пп. 1-8 или везикулу по п. 11.

13. Композиция по п. 12, дополнительно содержащая второй полипептид, который при введении млекопитающему вызывает ответ в виде антител, которые являются бактерицидными в отношении менингококка.

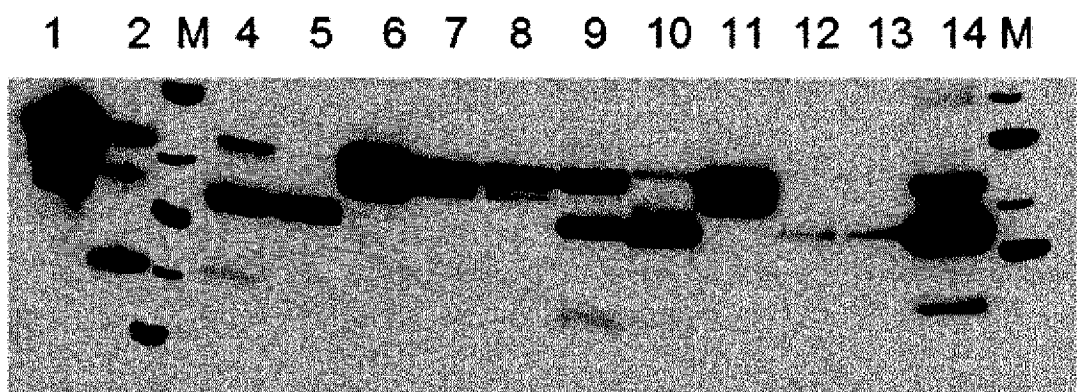
14. Композиция по п. 12 или п. 13, дополнительно содержащая (1) конъюгированный капсульный сахарид из *N.meningitidis* серогруппы A, C, W135 и/или Y, и/или (2) конъюгированный капсульный сахарид из *S.pneumoniae*.

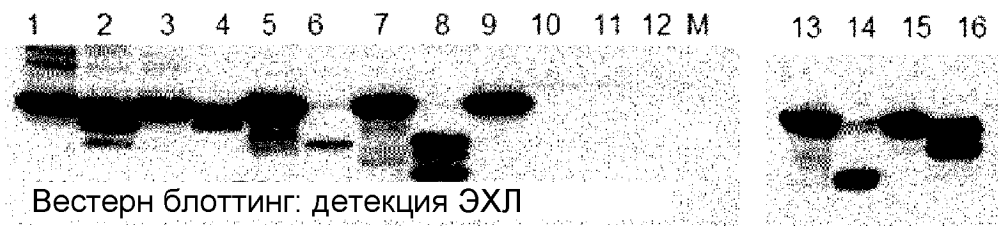
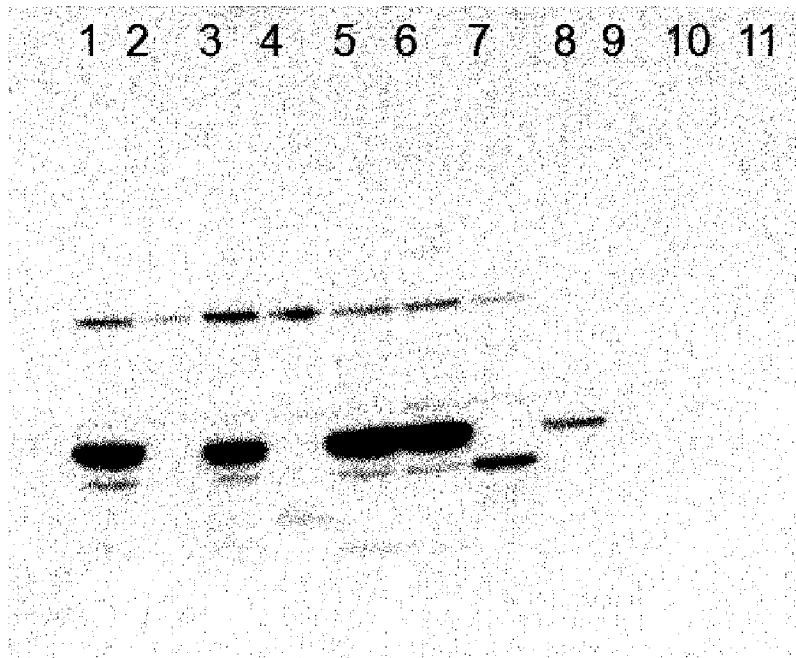
15. Способ индуцирования антительного ответа у млекопитающего, включающий введение иммуногенной композиции по любому из пп. 12-14.

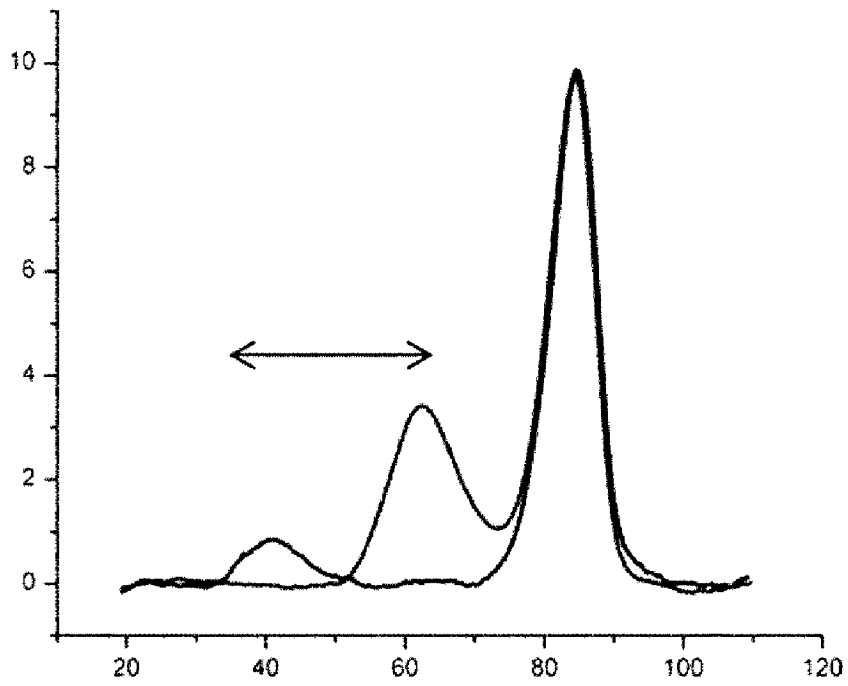
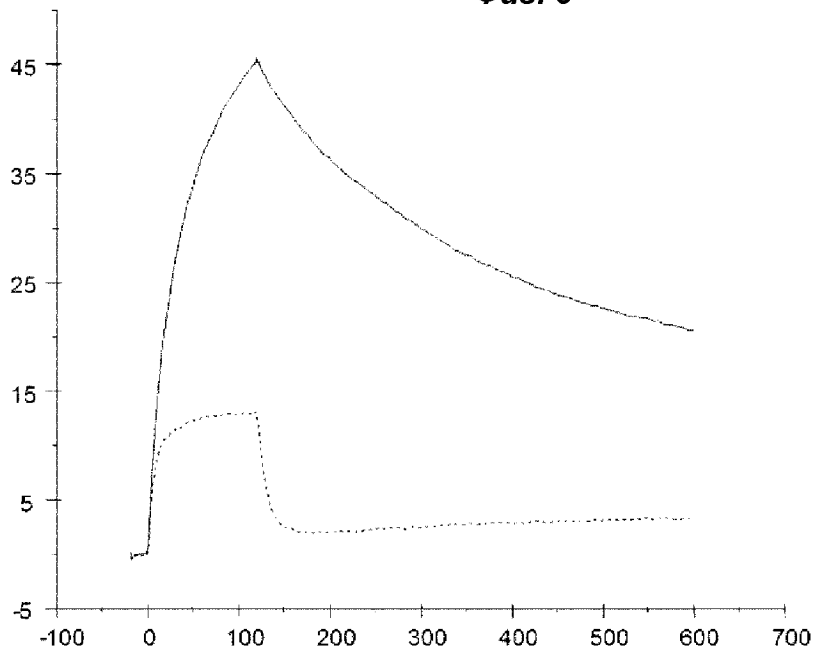
Фиг. 1

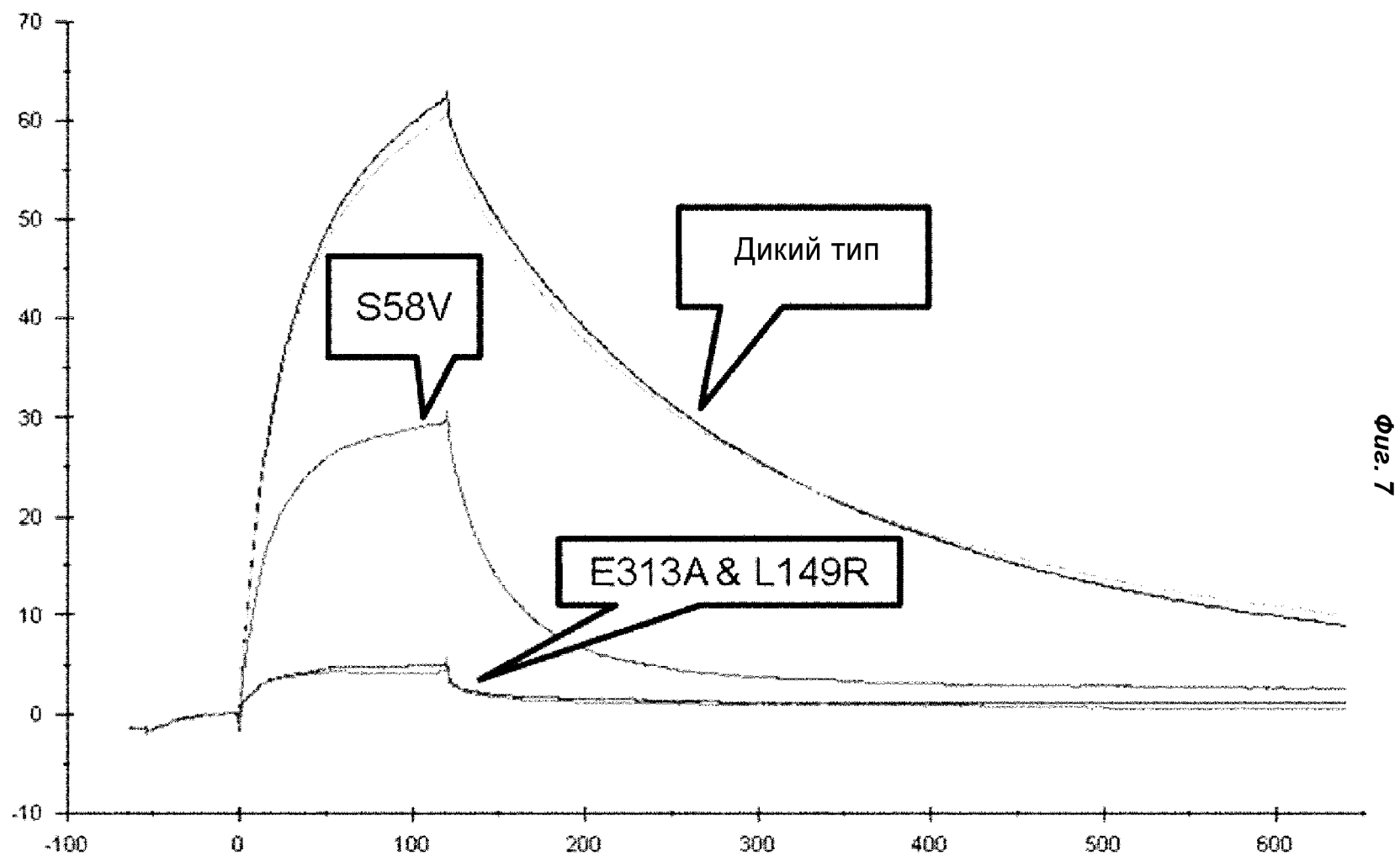


Фиг. 2



Фиг. 3**Фиг. 4**

Фиг. 5**Фиг. 6**



Фиг. 8