(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2004-537953
(P2004-537953A)
(43)公表日　平成16年12月24日(2004.12.24)

(51)Int.Cl.[7]	F I		テーマコード（参考）
C12N 15/09	C12N 15/00	ZNAA	4B024
A61K 39/095	A61K 39/095		4B064
A61K 39/395	A61K 39/395	D	4B065
A61P 25/00	A61P 25/00		4C085
A61P 31/04	A61P 31/04		4H045

審査請求 未請求　予備審査請求 有　（全 209 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2000-593748(P2000-593748)
(86)(22)出願日　平成12年1月10日(2000.1.10)
(85)翻訳文提出日　平成13年7月12日(2001.7.12)
(86)国際出願番号　PCT/EP2000/000135
(87)国際公開番号　WO2000/042191
(87)国際公開日　平成12年7月20日(2000.7.20)
(31)優先権主張番号　9900952.4
(32)優先日　平成11年1月15日(1999.1.15)
(33)優先権主張国　英国(GB)
(31)優先権主張番号　9900838.5
(32)優先日　平成11年1月15日(1999.1.15)
(33)優先権主張国　英国(GB)
(31)優先権主張番号　9901945.7
(32)優先日　平成11年1月28日(1999.1.28)
(33)優先権主張国　英国(GB)

(71)出願人　397062700
グラクソスミスクライン　バイオロジカルズ　ソシエテ　アノニム
ベルギー国　リキセンザール　ビー　１３　３０　ルー　デ　ランスティテュート　８９
(74)代理人　100077517
弁理士　石田　敬
(74)代理人　100092624
弁理士　鶴田　準一
(74)代理人　100108903
弁理士　中村　和広
(74)代理人　100082898
弁理士　西山　雅也

最終頁に続く

(54)【発明の名称】新規化合物

(57)【要約】
本発明は、ＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６、及びＢＡＳＢ０７１ポリペプチドと、ＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６、及びＢＡＳＢ０７１ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドと、組み換え技術を利用してそのようなポリペプチドを産生する方法とを提供する。本発明はまた、それらを用いた診断、予後予測、治療の方法も提供する。

【特許請求の範囲】
【請求項１】
配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、及び１６からなるグループの中から選択したアミノ酸配列と少なくとも８５％が一致するアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。
【請求項２】
上記アミノ酸配列が、配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、及び１６からなるグループの中から選択したアミノ酸配列と少なくとも９５％が一致する、請求の範囲第１項に記載の単離されたポリペプチド。
【請求項３】
配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、及び１６からなるグループの中から選択したアミノ酸配列を含む、請求の範囲第１項に記載の単離されたポリペプチド。
【請求項４】
配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４又は１６の単離されたポリペプチド。
【請求項５】
請求の範囲第１～４項のいずれか１項に記載のポリペプチドの免疫原性断片であって、この免疫原性断片の免疫原活性が、配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４又は１６のポリペプチドのものと実質的に同じであることを特徴とする免疫原性断片。
【請求項６】
配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４又は１６それぞれの全長にわたって配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４又は１６のアミノ酸配列と少なくとも８５％が一致するポリペプチドをコードするヌクレオチド配列；またはこの単離されたポリヌクレオチドと相補的なヌクレオチド配列を含む、単離されたポリヌクレオチド。
【請求項７】
配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４又は１６のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列とコード領域の全長にわたって少なくとも８５％が一致するヌクレオチド配列；またはこの単離されたポリヌクレオチドと相補的なヌクレオチド配列を含む、単離されたポリヌクレオチド。
【請求項８】
配列番号１、３、５、７、９、１１、１３又は１５それぞれの全長にわたって配列番号１、３、５、７、９、１１、１３又は１５のヌクレオチド配列と少なくとも８５％が一致するヌクレオチド配列；またはこの単離されたポリヌクレオチドと相補的なヌクレオチド配列を含む、単離されたポリヌクレオチド。
【請求項９】
配列番号１、３、５、７、９、１１、１３又は１５と少なくとも９５％が一致する、請求の範囲第６～８項のいずれか１項に記載の単離されたポリヌクレオチド。
【請求項１０】
配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４又は１６のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む、単離されたポリヌクレオチド。
【請求項１１】
配列番号１、３、５、７、９、１１、１３又は１５のポリヌクレオチドを含む、単離されたポリヌクレオチド。
【請求項１２】
配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４又は１６のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含み、配列番号１、３、５、７、９、１１、１３又は１５の配列またはその断片を有する標識されたプローブを用いてストリンジェント・ハイブリダイゼーション条件のもとで適切なライブラリーをスクリーニングすることにより得ることができる、単離されたポリヌクレオチド。
【請求項１３】
請求の範囲第６～１２項のいずれか１項に記載の単離されたポリヌクレオチドを含む、発

現ベクターまたは生きた組み換え微生物。
【請求項１４】
請求の範囲第１３項の発現ベクターを含む宿主細胞、または、配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、及び１６からなるグループの中から選択したアミノ酸配列と少なくとも８５％が一致するアミノ酸配列を含む単離されたポリペプチドを発現する、この宿主細胞の細胞以下断片または膜。
【請求項１５】
配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、及び１６からなるグループの中から選択したアミノ酸配列と少なくとも８５％が一致するアミノ酸配列を含むポリペプチドの製造方法であって、このポリペプチドを産生させるのに十分な条件下で請求の範囲第１４項に記載の宿主細胞を培養し、そしてその培地からこのポリペプチドを回収することを含む、前記方法。
【請求項１６】
請求の範囲第６～１２項のいずれか１項に記載のポリヌクレオチドを発現させる方法であって、これらポリヌクレオチドのうちの少なくとも１つを含む発現ベクターを用いて宿主細胞を形質転換し、そしてそのポリヌクレオチドのうちの任意の１つを発現させるのに十分な条件下でこの宿主細胞を培養することを含む、前記方法。
【請求項１７】
請求の範囲第１～５項のいずれか１項に記載のポリペプチドの有効量と医薬として許容される担体を含むワクチン組成物。
【請求項１８】
請求の範囲第６～１２項のいずれか１項に記載のポリヌクレオチドの有効量と医薬として許容される担体を含むワクチン組成物。
【請求項１９】
少なくとも１つの別のナイセリア・メニンギティディス（Ｎｅｉｓｓｅｒｉａ ｍｅｎｉｎｇｉｔｉｄｉｓ）抗原を含む、請求の範囲第１７項または第１８項に記載のワクチン組成物。
【請求項２０】
請求の範囲第１～５項のいずれか１項に記載のポリペプチドまたは免疫原性断片に免疫特異的な抗体。
【請求項２１】
ナイセリア・メニンギティディスの感染を診断する方法であって、請求の範囲第１～５項のいずれか１項に記載のポリペプチド、またはこのポリペプチドに免疫特異的な抗体が、そのような感染が疑われる動物に由来する生物学的サンプル中に存在するかどうかを同定することを含む、前記方法。
【請求項２２】
動物に免疫応答を発生させるために使用される薬剤の製造における、請求の範囲第１～５項のいずれか１項に記載のポリペプチドの免疫学的有効量を含む組成物の使用。
【請求項２３】
動物に免疫応答を発生させるために使用される薬剤の製造における、請求の範囲第６～１２項のいずれか１項に記載のポリヌクレオチドの免疫学的有効量を含む組成物の使用。
【請求項２４】
請求の範囲第１～５項のいずれか１項に記載のポリペプチドに対する少なくとも１つの抗体と好適な医薬担体を含む、ナイセリア・メニンギティディスに感染したヒトの治療において有用な治療用組成物。
【発明の詳細な説明】
【０００１】
発明の属する技術分野
本発明は、ポリヌクレオチド（本明細書では、“ＢＡＳＢ０５１ポリヌクレオチド”、“ＢＡＳＢ０５７ポリヌクレオチド”、“ＢＡＳＢ０６０ポリヌクレオチド”、“ＢＡＳＢ

０６１ポリヌクレオチド”、“ＢＡＳＢ０６３ポリヌクレオチド”、“ＢＡＳＢ０６５ポリヌクレオチド”、“ＢＡＳＢ０６６ポリヌクレオチド”、及び“ＢＡＳＢ０７１ポリヌクレオチド”と呼ぶ）、これらポリヌクレオチドによってコードされたポリペプチド（本明細書では、それぞれ“ＢＡＳＢ０５１”、“ＢＡＳＢ０５７”、“ＢＡＳＢ０６０”、“ＢＡＳＢ０６１”、“ＢＡＳＢ０６３”、“ＢＡＳＢ０６５”、“ＢＡＳＢ０６６”、及び“ＢＡＳＢ０７１”またはそれぞれ“ＢＡＳＢ０５１ポリペプチド”、“ＢＡＳＢ０５７ポリペプチド”、“ＢＡＳＢ０６０ポリペプチド”、“ＢＡＳＢ０６１ポリペプチド”、“ＢＡＳＢ０６３ポリペプチド”、“ＢＡＳＢ０６５ポリペプチド”、“ＢＡＳＢ０６６ポリペプチド”、及び“ＢＡＳＢ０７１ポリペプチド”と呼ぶ）、ならびにこれらを産生させるための組み換え材料と方法に関するものである。別の側面として、本発明は、これらポリペプチドおよびポリヌクレオチドの利用方法にも関する。利用方法としては、例えば、細菌感染に対するワクチンが含まれる。さらに別の側面として、本発明は、所定の病原菌に感染したことを検出するための診断法にも関する。

発明の背景

ナイセリア・メニンギティディス（Ｎｅｉｓｓｅｒｉａ ｍｅｎｉｎｇｉｔｉｄｉｓ）（髄膜炎菌）は、ヒト上気道からしばしば単離されるグラム陰性細菌である。この細菌は、菌血症や髄膜炎などの侵入性細菌性疾患を引き起こすことがある。髄膜炎の発生には、地理差、季節差、年差が見られる（シュワルツ，Ｂ．、ムーア，Ｐ．Ｓ．、ブルーム，Ｃ．Ｖ．、Ｃｌｉｎ．Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．Ｒｅｖ．、第２巻（補）、Ｓ１８～Ｓ２４ページ、１９８９年）。温和な気候の国においては、この疾患はたいてい血清型Ｂの菌株によって起こり、人口１０万人あたり１年に１～１０人の割合で発生するが、時にはさらに大きな割合になることもある（カツマルスキー，Ｅ．Ｂ．（１９９７）、Ｃｏｍｍｕｎ．Ｄｉｓ．Ｒｅｐ．Ｒｅｖ．、第７巻、Ｒ５５～５９ページ、１９９５年；ショルテン，Ｒ．Ｊ．Ｐ．Ｍ．、ビールマー，Ｈ．Ａ．、プールマン，Ｊ．Ｔ．他、Ｃｌｉｎ．Ｉｎｆｅｃｔ．Ｄｉｓ．、第１６巻、２３７～２４６ページ、１９９３年；クルス，Ｃ．、パベス，Ｇ．、アギラール，Ｅ．他、Ｅｐｉｄｅｍｉｏｌ．Ｉｎｆｅｃｔ．、第１０５巻、１１９～１２６ページ、１９９０年）。

【０００２】

血清型Ａの髄膜炎菌が優勢な主に中央アフリカにおいては、感染者の割合が人口１０万人あたり１年に１０００人に達することがある（シュワルツ，Ｂ．、ムーア，Ｐ．Ｓ．、ブルーム，Ｃ．Ｖ．、Ｃｌｉｎ．Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．Ｒｅｖ．、第２巻（補）、Ｓ１８～Ｓ２４ページ、１９８９年）。全体として、髄膜炎のほとんどは血清型Ａ、Ｂ、Ｃ、Ｗ－１３５、Ｙの髄膜炎菌によって起こり、４価のＡ、Ｃ、Ｗ－１３５、Ｙ多糖ワクチンが利用できる（アルナン，Ｊ．、アルマンジョン，Ｆ．、ミナール，Ｍ．Ｃ．、ラフェ，Ｃ．、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｓｔａｎｄ．、第１０巻、３３５～３３９ページ、１９８２年）。

【０００３】

多糖ワクチンは、現在、輸送タンパク質と化学的に結合させるという改良が続けられている（リーバーマン，Ｊ．Ｍ．、チュー，Ｓ．Ｓ．、ウォン，Ｖ．Ｋ．他、ＪＡＭＡ、第２７５巻、１４９９～１５０３ページ、１９９６年）。

【０００４】

血清型Ｂのワクチンは利用できない。というのも、Ｂ莢膜多糖は免疫原性を示さないことが判明したからである。これは、宿主の成分と構造的に似ていることが原因である可能性が高い（ヴァイル，Ｆ．Ａ．、アーテンシュタイン，Ｍ．Ｓ．、ブラント，Ｍ．Ｌ．他、Ｊ．Ｉｎｆｅｃｔ．Ｄｉｓ．、第１２６巻、５１４～５２２ページ、１９７２年；フィンネ，Ｊ．Ｍ．、レイノネン，Ｍ．、メケレ，Ｐ．Ｍ．、Ｌａｎｃｅｔ、第２巻、３５５～３５７ページ、１９８３年）。

【０００５】

長年にわたって努力が続けられ、髄膜炎菌の外膜に基づいたワクチンが開発された（デ・モラエス，Ｊ．Ｃ．、パーキンズ，Ｂ．、カマルゴ，Ｍ．Ｃ．他、Ｌａｎｃｅｔ、第

３４０巻、１０７４～１０７８ページ、１９９２年；ブジューン，Ｇ．、ホイビー，Ｅ．Ａ．、グロンスビー，Ｊ．Ｋ．他、Ｌａｎｃｅｔ、第３３８巻、１９９１年）。このワクチンは、年長の子ども（４歳より上）と青少年では５７～８５％に効果のあることがわかった。

【０００６】

このワクチンの中には細菌の外膜成分が多数存在している。例えば、ＰｏｒＡ、ＰｏｒＢ、Ｒｍｐ、Ｏｐｃ、Ｏｐａ、ＦｒｐＢである。しかし、観察されている防御効果に対するこれら成分の寄与は、さらに明確にする必要がある。細菌の他の外膜成分であるＴｂｐＢやＮｓｐＡなどは、動物またはヒトの抗体を用いることにより、免疫防御に関係している可能性のあることが明らかにされている（マルタン，Ｄ．、カデュー，Ｎ．、アメル，Ｊ．、ブロドゥー，Ｂ．Ｒ．、Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．、第１８５巻、１１７３～１１８３ページ、１９９７年；リソロ，Ｌ．、メートルーヴィルモット，Ｃ．、デュマ，Ｐ．他、Ｉｎｆ．Ｉｍｍｕｎ．、第６３巻、８８４～８９０ページ、１９９５年）。免疫防御のメカニズムは、抗体を媒介とした細菌の活性とオプソニン食菌作用に関係しているであろう。

【０００７】

抗体を媒介としたあらゆるメカニズムを合わせ持たせるのに菌血症モデル動物が用いられている（サウッコネン，Ｋ．、レイノネン，Ｍ．、アブディライ，Ｈ．、プールマン，Ｊ．Ｔ．、Ｖａｃｃｉｎｅ、第７巻、３２５～３２８ページ、１９８９年）。髄膜炎に対する免疫にとって後期補体成分を媒介とした殺菌メカニズムが極めて重要であることが、一般に認められている（ロス，Ｓ．Ｃ．、ローゼンタール，Ｐ．Ｊ．、バーベリック，Ｈ．Ｍ．、デンセン，Ｐ．、Ｊ．Ｉｎｆｅｃｔ．Ｄｉｓ．、第１５５巻、１２６６～１２７５ページ、１９８７年）。

【０００８】

ナイセリア・メニンギティディスに感染する頻度は、過去数十年の間に劇的に上昇した。これは、多数の抗生物質に対する耐性を持った菌の出現と、免疫系が弱い人の増加が原因である。標準的な抗生物質のいくつかまたはすべてに耐性のあるナイセリア・メニンギティディスが単離されるのはもはや珍しいことではない。この現象により、これまでに遭遇したことのない医療上の必要性が生じ、新しい抗菌剤、ワクチン、薬剤スクリーニング法、この生物を検出するための診断法に対する要求が生まれている。

発明の要約

本発明は、ＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６、及びＢＡＳＢ０７１に関するものであり、中でも、ＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６、及びＢＡＳＢ０７１ポリペプチド、ＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６、及びＢＡＳＢ０７１ポリヌクレオチド、ならびにこれらを産生させるための組み換え材料と方法に関する。別の側面として、本発明は、これらポリペプチドおよびポリヌクレオチドの利用方法にも関する。利用方法には、特に、微生物による疾患の予防ならびに治療が含まれる。さらに別の側面として、本発明は、微生物の感染に伴う疾患や異常を検出するための診断法にも関する。例えば、ＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６、及びＢＡＳＢ０７１ポリペプチドまたはポリヌクレオチドの発現または活性を検出するための方法に関する。

【０００９】

当業者であれば、この明細書の以下の記述やそれ以外の箇所を読むことにより、この明細書に開示された本発明の精神および範囲におけるさまざまな変更や修正を容易に思いつくであろう。

発明の説明

本発明は、ＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳ

ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６、及びＢＡＳＢ０７１ポリペプチドとポリヌクレオチドに関するものであり、それについて以下に詳細に説明する。本発明は、特に、配列番号１、３、５、７、９、１１、１３、１５で与えられるヌクレオチド配列と配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、１６で与えられるアミノ酸配列をそれぞれ有するＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６、及びＢＡＳＢ０７１に関する。“ＤＮＡ”として以下の配列リストに示した配列は、本発明の一実施態様の具体例を表わしているものと理解する。当業者であれば、そうした配列を一般にポリヌクレオチド（リボポリヌクレオチドを含む）において利用できることがわかるはずだからである。

ポリペプチド

本発明の一側面によれば、この明細書で“ＢＡＳＢ０５１”、“ＢＡＳＢ０５７”、“ＢＡＳＢ０６０”、“ＢＡＳＢ０６１”、“ＢＡＳＢ０６３”、“ＢＡＳＢ０６５”、“ＢＡＳＢ０６６”、及び“ＢＡＳＢ０７１”または“ＢＡＳＢ０５１ポリペプチド”、“ＢＡＳＢ０５７ポリペプチド”、“ＢＡＳＢ０６０ポリペプチド”、“ＢＡＳＢ０６１ポリペプチド”、“ＢＡＳＢ０６３ポリペプチド”、“ＢＡＳＢ０６５ポリペプチド”、“ＢＡＳＢ０６６ポリペプチド”、及び“ＢＡＳＢ０７１ポリペプチド”と呼ぶナイセリア・メニンギティディスのポリペプチドのほか、生物学的、診断上、予防上、臨床上、または治療上有効なこれらポリペプチドの変異体と、これらを含む組成物とが提供される。

【００１０】

本発明によれば、以下のものがさらに提供される。

（ａ）配列番号２と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、最も好ましくは少なくとも９７～９９％が一致または完全に一致したアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

（ｂ）配列番号１の全長にわたって配列番号１と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、それ以上に好ましくは少なくとも９７～９９％が一致または完全に一致したポリヌクレオチド配列を含む単離されたポリヌクレオチドによりコードされたポリペプチド。

（ｃ）配列番号２のアミノ酸配列と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、それ以上に好ましくは少なくとも９７～９９％が一致または完全に一致したポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列を含む単離されたポリヌクレオチドによってコードされたポリペプチド。

【００１１】

配列番号２で与えられるＢＡＳＢ０５１ポリペプチドは、ナイセリア・メニンギティディス菌株ＡＴＣＣ１３０９０に由来するＢＡＳＢ０５１ポリペプチドである。

【００１２】

本発明により、ＢＡＳＢ０５１ポリペプチドの免疫原性断片も提供される。すなわち、配列番号２のアミノ酸配列を含むポリペプチドと同じか実質的に同じ免疫活性を有するＢＡＳＢ０５１ポリペプチドの連続部分が提供される。要するに、この断片（必要であれば担体と結合したときの断片）は、ＢＡＳＢ０５１ポリペプチドを認識する免疫応答を向上させることができる。この免疫原性断片は、例えば、Ｎ末端のリーダー配列、および／または膜貫通領域、および／またはＣ末端のアンカー領域を欠いたＢＡＳＢ０５１ポリペプチドを含んでいてもよい。好ましい一実施態様では、本発明によるＢＡＳＢ０５１の免疫原性断片は、配列番号２の全長にわたって配列番号２と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、最も好ましくは少なくとも９７～９９％が一致したポリペプチドの細胞外領域の実質的にすべてを含んでいる。

【００１３】

本発明によれば、以下のものがさらに提供される。

（ａ）配列番号４と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、最も好ましくは少なくとも９７～９９％が一致ま

たは完全に一致したアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。
（ｂ）配列番号３の全長にわたって配列番号３と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、それ以上に好ましくは少なくとも９７～９９％が一致または完全に一致したポリヌクレオチド配列を含む単離されたポリヌクレオチドによりコードされたポリペプチド。
（ｃ）配列番号４のアミノ酸配列と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、それ以上に好ましくは少なくとも９７～９９％が一致または完全に一致したポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列を含む単離されたポリヌクレオチドによってコードされたポリペプチド。
【００１４】
配列番号４で与えられるＢＡＳＢ０５７ポリペプチドは、ナイセリア・メニンギティディス菌株ＡＴＣＣ１３０９０に由来するＢＡＳＢ０５７ポリペプチドである。
【００１５】
本発明により、ＢＡＳＢ０５７ポリペプチドの免疫原性断片も提供される。すなわち、配列番号４のアミノ酸配列を含むポリペプチドと同じか実質的に同じ免疫活性を有するＢＡＳＢ０５７ポリペプチドの連続部分が提供される。要するに、この断片（必要であれば担体と結合したときの断片）は、ＢＡＳＢ０５７ポリペプチドを認識する免疫応答を向上させることができる。この免疫原性断片は、例えば、Ｎ末端のリーダー配列、および／または膜貫通領域、および／またはＣ末端のアンカー領域を欠いたＢＡＳＢ０５７ポリペプチドを含んでいてもよい。好ましい一実施態様では、本発明によるＢＡＳＢ０５７の免疫原性断片は、配列番号４の全長にわたって配列番号４と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、最も好ましくは少なくとも９７～９９％が一致したポリペプチドの細胞外領域の実質的にすべてを含んでいる。
【００１６】
本発明によれば、以下のものがさらに提供される。
（ａ）配列番号６と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、最も好ましくは少なくとも９７～９９％が一致または完全に一致したアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。
（ｂ）配列番号５の全長にわたって配列番号５と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、それ以上に好ましくは少なくとも９７～９９％が一致または完全に一致したポリヌクレオチド配列を含む単離されたポリヌクレオチドによりコードされたポリペプチド。
（ｃ）配列番号６のアミノ酸配列と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、それ以上に好ましくは少なくとも９７～９９％が一致または完全に一致したポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列を含む単離されたポリヌクレオチドによってコードされたポリペプチド。
【００１７】
配列番号６で与えられるＢＡＳＢ０６０ポリペプチドは、ナイセリア・メニンギティディス菌株ＡＴＣＣ１３０９０に由来するＢＡＳＢ０６０ポリペプチドである。
【００１８】
本発明により、ＢＡＳＢ０６０ポリペプチドの免疫原性断片も提供される。すなわち、配列番号６のアミノ酸配列を含むポリペプチドと同じか実質的に同じ免疫活性を有するＢＡＳＢ０６０ポリペプチドの連続部分が提供される。要するに、この断片（必要であれば担体と結合したときの断片）は、ＢＡＳＢ０６０ポリペプチドを認識する免疫応答を向上させることができる。この免疫原性断片は、例えば、Ｎ末端のリーダー配列、および／または膜貫通領域、および／またはＣ末端のアンカー領域を欠いたＢＡＳＢ０６０ポリペプチドを含んでいてもよい。好ましい一実施態様では、本発明によるＢＡＳＢ０５１の免疫原性断片は、配列番号６の全長にわたって配列番号６と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、最も好ましくは

少なくとも９７～９９％が一致したポリペプチドの細胞外領域の実質的にすべてを含んでいる。

【００１９】

本発明によれば、以下のものがさらに提供される。

（ａ）配列番号８と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、最も好ましくは少なくとも９７～９９％が一致または完全に一致したアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

（ｂ）配列番号７の全長にわたって配列番号７と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、それ以上に好ましくは少なくとも９７～９９％が一致または完全に一致したポリヌクレオチド配列を含む単離されたポリヌクレオチドによりコードされたポリペプチド。

（ｃ）配列番号８のアミノ酸配列と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、それ以上に好ましくは少なくとも９７～９９％が一致または完全に一致したポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列を含む単離されたポリヌクレオチドによってコードされたポリペプチド。

【００２０】

配列番号８で与えられるＢＡＳＢ０６１ポリペプチドは、ナイセリア・メニンギティディス菌株ＡＴＣＣ１３０９０に由来するＢＡＳＢ０６１ポリペプチドである。

【００２１】

本発明により、ＢＡＳＢ０６１ポリペプチドの免疫原性断片も提供される。すなわち、配列番号８のアミノ酸配列を含むポリペプチドと同じか実質的に同じ免疫活性を有するＢＡＳＢ０６１ポリペプチドの連続部分が提供される。要するに、この断片（必要であれば担体と結合したときの断片）は、ＢＡＳＢ０６１ポリペプチドを認識する免疫応答を向上させることができる。この免疫原性断片は、例えば、Ｎ末端のリーダー配列、および／または膜貫通領域、および／またはＣ末端のアンカー領域を欠いたＢＡＳＢ０６１ポリペプチドを含んでいてもよい。好ましい一実施態様では、本発明によるＢＡＳＢ０５１の免疫原性断片は、配列番号８の全長にわたって配列番号８と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、最も好ましくは少なくとも９７～９９％が一致したポリペプチドの細胞外領域の実質的にすべてを含んでいる。

【００２２】

本発明によれば、以下のものがさらに提供される。

（ａ）配列番号１０と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、最も好ましくは少なくとも９７～９９％が一致または完全に一致したアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

（ｂ）配列番号９の全長にわたって配列番号９と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、それ以上に好ましくは少なくとも９７～９９％が一致または完全に一致したポリヌクレオチド配列を含む単離されたポリヌクレオチドによりコードされたポリペプチド。

（ｃ）配列番号１０のアミノ酸配列と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、それ以上に好ましくは少なくとも９７～９９％が一致または完全に一致したポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列を含む単離されたポリヌクレオチドによってコードされたポリペプチド。

【００２３】

配列番号１０で与えられるＢＡＳＢ０６３ポリペプチドは、ナイセリア・メニンギティディス菌株ＡＴＣＣ１３０９０に由来するＢＡＳＢ０６３ポリペプチドである。

【００２４】

本発明により、ＢＡＳＢ０６３ポリペプチドの免疫原性断片も提供される。すなわち、配列番号１０のアミノ酸配列を含むポリペプチドと同じか実質的に同じ免疫活性を有するＢＡＳＢ０６３ポリペプチドの連続部分が提供される。要するに、この断片（必要であれば

担体と結合したときの断片）は、ＢＡＳＢ０６３ポリペプチドを認識する免疫応答を向上させることができる。この免疫原性断片は、例えば、Ｎ末端のリーダー配列、および／または膜貫通領域、および／またはＣ末端のアンカー領域を欠いたＢＡＳＢ０６３ポリペプチドを含んでいてもよい。好ましい一実施態様では、本発明によるＢＡＳＢ０６３の免疫原性断片は、配列番号１０の全長にわたって配列番号１０と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、最も好ましくは少なくとも９７～９９％が一致したポリペプチドの細胞外領域の実質的にすべてを含んでいる。

【００２５】

本発明によれば、以下のものがさらに提供される。

（ａ）配列番号１２と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、最も好ましくは少なくとも９７～９９％が一致または完全に一致したアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

（ｂ）配列番号１１の全長にわたって配列番号１１と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、それ以上に好ましくは少なくとも９７～９９％が一致または完全に一致したポリヌクレオチド配列を含む単離されたポリヌクレオチドによりコードされたポリペプチド。

（ｃ）配列番号１２のアミノ酸配列と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、それ以上に好ましくは少なくとも９７～９９％が一致または完全に一致したポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列を含む単離されたポリヌクレオチドによってコードされたポリペプチド。

【００２６】

配列番号１２で与えられるＢＡＳＢ０６５ポリペプチドは、ナイセリア・メニンギティディス菌株ＡＴＣＣ１３０９０に由来するＢＡＳＢ０６５ポリペプチドである。

【００２７】

本発明により、ＢＡＳＢ０６５ポリペプチドの免疫原性断片も提供される。すなわち、配列番号１２のアミノ酸配列を含むポリペプチドと同じか実質的に同じ免疫活性を有するＢＡＳＢ０６５ポリペプチドの連続部分が提供される。要するに、この断片（必要であれば担体と結合したときの断片）は、ＢＡＳＢ０６５ポリペプチドを認識する免疫応答を向上させることができる。この免疫原性断片は、例えば、Ｎ末端のリーダー配列、および／または膜貫通領域、および／またはＣ末端のアンカー領域を欠いたＢＡＳＢ０６５ポリペプチドを含んでいてもよい。好ましい一実施態様では、本発明によるＢＡＳＢ０６５の免疫原性断片は、配列番号１２の全長にわたって配列番号１２と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、最も好ましくは少なくとも９７～９９％が一致したポリペプチドの細胞外領域の実質的にすべてを含んでいる。

【００２８】

本発明によれば、以下のものがさらに提供される。

（ａ）配列番号１４と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、最も好ましくは少なくとも９７～９９％が一致または完全に一致したアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

（ｂ）配列番号１３の全長にわたって配列番号１３と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、それ以上に好ましくは少なくとも９７～９９％が一致または完全に一致したポリヌクレオチド配列を含む単離されたポリヌクレオチドによりコードされたポリペプチド。

（ｃ）配列番号１４のアミノ酸配列と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、それ以上に好ましくは少なくとも９７～９９％が一致または完全に一致したポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列を含む単離されたポリヌクレオチドによってコードされたポリペプチド。

【００２９】

配列番号１４で与えられるＢＡＳＢ０６６ポリペプチドは、ナイセリア・メニンギティディス菌株ＡＴＣＣ１３０９０に由来するＢＡＳＢ０６６ポリペプチドである。

【００３０】

本発明により、ＢＡＳＢ０６６ポリペプチドの免疫原性断片も提供される。すなわち、配列番号１４のアミノ酸配列を含むポリペプチドと同じか実質的に同じ免疫活性を有するＢＡＳＢ０６６ポリペプチドの連続部分が提供される。要するに、この断片（必要であれば担体と結合したときの断片）は、ＢＡＳＢ０６６ポリペプチドを認識する免疫応答を向上させることができる。この免疫原性断片は、例えば、Ｎ末端のリーダー配列、および／または膜貫通領域、および／またはＣ末端のアンカー領域を欠いたＢＡＳＢ０６６ポリペプチドを含んでいてもよい。好ましい一実施態様では、本発明によるＢＡＳＢ０６６の免疫原性断片は、配列番号１４の全長にわたって配列番号１４と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、最も好ましくは少なくとも９７～９９％が一致したポリペプチドの細胞外領域の実質的にすべてを含んでいる。

【００３１】

本発明によれば、以下のものがさらに提供される。

（ａ）配列番号１６と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、最も好ましくは少なくとも９７～９９％が一致または完全に一致したアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

（ｂ）配列番号１５の全長にわたって配列番号１５と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、それ以上に好ましくは少なくとも９７～９９％が一致または完全に一致したポリヌクレオチド配列を含む単離されたポリヌクレオチドによりコードされたポリペプチド。

（ｃ）配列番号１６のアミノ酸配列と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、それ以上に好ましくは少なくとも９７～９９％が一致または完全に一致したポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列を含む単離されたポリヌクレオチドによってコードされたポリペプチド。

【００３２】

配列番号１６で与えられるＢＡＳＢ０７１ポリペプチドは、ナイセリア・メニンギティディス菌株ＡＴＣＣ１３０９０に由来するＢＡＳＢ０７１ポリペプチドである。

【００３３】

本発明により、ＢＡＳＢ０７１ポリペプチドの免疫原性断片も提供される。すなわち、配列番号１６のアミノ酸配列を含むポリペプチドと同じか実質的に同じ免疫活性を有するＢＡＳＢ０７１ポリペプチドの連続部分が提供される。要するに、この断片（必要であれば担体と結合したときの断片）は、ＢＡＳＢ０７１ポリペプチドを認識する免疫応答を向上させることができる。この免疫原性断片は、例えば、Ｎ末端のリーダー配列、および／または膜貫通領域、および／またはＣ末端のアンカー領域を欠いたＢＡＳＢ０７１ポリペプチドを含んでいてもよい。好ましい一実施態様では、本発明によるＢＡＳＢ０７１の免疫原性断片は、配列番号１６の全長にわたって配列番号１６と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、最も好ましくは少なくとも９７～９９％が一致したポリペプチドの細胞外領域の実質的にすべてを含んでいる。

【００３４】

断片とは、本発明の任意のポリペプチドの任意のアミノ酸配列の全部ではなく一部と完全に一致したアミノ酸配列を有するポリペプチドのことである。ＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６、及びＢＡＳＢ０７１の場合のように、断片は、“独立して”いてもよい。すなわち、より大きなポリペプチドに含まれていてその一部または一領域を形成していてもよい。最も好ましいのは、より大きな単一のポリペプチドの中の単一の連続領域を形成していることである。

【００３５】
好ましい断片としては、例えば、配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、１６のアミノ酸配列またはその変異体の一部を含む先の切れたポリペプチドが挙げられる。具体例としては、アミノ末端および／またはカルボキシル末端のアミノ酸配列を含む連続残基列がある。宿主細胞によって、または宿主細胞内で産生された本発明のポリペプチドが分解された形態も好ましい。さらに好ましいのは、構造上または機能上の特性を有する断片、例えば、α螺旋とα螺旋形成領域、βシートとβシート形成領域、ターンとターン形成領域、コイルとコイル形成領域、親水性領域、疎水性領域、α両親媒性領域、β両親媒性領域、柔軟領域、表面形成領域、基質結合領域、抗体高指示領域を含む断片などである。
【００３６】
好ましい断片としては、さらに、配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、１６のアミノ酸配列からの連続したアミノ酸を少なくとも１５、２０、３０、４０、５０、または１００個有するアミノ酸配列を含む単離されたポリペプチド、あるいは、配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、１６のアミノ酸配列から切断または除去した少なくとも１５、２０、３０、４０、５０、または１００個の連続したアミノ酸を有するアミノ酸配列を含む単離されたポリペプチドが挙げられる。
【００３７】
本発明のポリペプチド断片は、ペプチド合成によって対応する完全長ポリペプチドを産生するのに用いることができる。したがって、この断片は本発明の完全長ポリペプチドを産生するための中間体として用いることができる。
【００３８】
特に好ましいのは、いくつかのアミノ酸、例えば５～１０個、１～５個、１～３個、１～２個、または１個のアミノ酸の置換、欠失、または付加が任意に組み合わされた変異体である。
【００３９】
本発明のポリペプチドまたは免疫原性断片は、“成熟”タンパク質の形態でもよいし、前駆体または融合タンパク質などのより大きなタンパク質の一部でもよい。分泌配列またはリーダー配列、プロ配列、複数のヒスチジン残基など精製に役立つ配列を含む付加アミノ酸配列、組み換え体産生の間の安定性を維持するための付加配列が含まれていると望ましいことがしばしばある。さらに、最終的に得られる分子の免疫性を向上させるため、外来性ポリペプチド、脂質テイル、またはポリヌクレオチド配列を付加することも考えられる。
【００４０】
一側面によれば、本発明は、本発明のポリペプチドまたはその断片と、さまざまなサブクラスの免疫グロブリン（ＩｇＧ、ＩｇＭ、ＩｇＡ、ＩｇＥ）のＨ鎖またはＬ鎖の定常領域のさまざまな部分とを含む、遺伝子工学による可溶性融合タンパク質に関する。免疫グロブリンとして好ましいのは、ヒトＩｇＧ、特にＩｇＧ１のＨ鎖の定常部分であり、そのヒンジ領域で融合が起こる。特別な実施態様では、血液凝固第Ｘａ因子でもって切断することのできる切断配列を組み込むだけでＦｃ部分を除去することができる。
【００４１】
さらに本発明は、遺伝子工学によってこの融合タンパク質を調製する方法と、この融合タンパク質を利用した薬剤のスクリーニング、診断、治療に関する。本発明のさらに別の側面は、この融合タンパク質をコードするポリヌクレオチドにも関する。融合タンパク質の技術に関する実例は、国際特許出願番号ＷＯ９４／２９４５８とＷＯ９４／２２９１４に見ることができる。
【００４２】
このタンパク質は、化学的に結合させたり組み換え融合タンパク質として発現させたりすることにより、非融合タンパク質と比べて発現系内での発現レベルを向上させることができる。融合パートナーは、Ｔヘルパー・エピトープ（免疫性融合パートナー）、好ましくはヒトによって認識されるＴヘルパー・エピトープを提供するのに役立ったり、もとの組

み換えタンパク質よりも高い効率でタンパク質を発現させる（発現エンハンサー）のに役立ったりする可能性がある。融合パートナーは、免疫性融合パートナーであると同時に発現エンハンサー・パートナーにもなっていることが好ましかろう。

【００４３】

融合パートナーは、インフルエンザ菌に由来するプロテインＤと、インフルエンザ・ウイルスに由来する非構造タンパク質ＮＳ１（ヘマグルチニン）を含んでいる。別の融合パートナーは、ＬｙｔＡとして知られるタンパク質である。このタンパク質のＣ末端部を用いることが好ましい。ＬｙｔＡは、Ｎ－アセチル－Ｌ－アラニン・アミダーゼと、アミダーゼＬｙｔＡ（ＬｙｔＡ遺伝子によってコードされている（Ｇｅｎｅ、第４３巻、２６５～２７２ページ、１９８６年））と、ペプチドグリカン骨格における所定の結合を特異的に分解するオートリシンを合成する肺炎球菌に由来する。ＬｙｔＡタンパク質のＣ末端領域は、コリンや、ＤＥＡＥなどのコリンのアナログに対する親和性に関与している。この特性を利用して、融合タンパク質の発現に役立つ、大腸菌のＣ－ＬｙｔＡを発現するプラスミドが開発されている。Ｃ－ＬｙｔＡ断片をアミノ末端に有するハイブリッド・タンパク質の精製については、Ｂｉｏｔｅｃｈｅｎｏｌｏｇｙ、第１０巻、７９５～７９８ページ、１９９２年に記載されている。ＬｙｔＡタンパク質のＣ末端にあって残基番号１７８から始まる繰り返し部分、例えば残基番号１８８～３０５を用いることが可能である。

【００４４】

本発明には、上記のポリペプチドの変異体も含まれる。すなわち、参照基準と比べて保存されたアミノ酸置換だけが異なるポリペプチドも含まれる。なお保存されたアミノ酸置換とは、１つの残基が特性の似た別の残基で置換されることである。そうした置換の典型例は、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン相互の置換；セリンとトレオニンの置換；酸性残基であるアスパラギン酸とグルタミン酸の置換；アスパラギンとグルタミンの置換；塩基性残基であるリジンとアルギニンの置換；芳香性残基であるフェニルアラニンとチロシンの置換である。

【００４５】

本発明のポリペプチドは、適切な任意の方法で調製することができる。そうしたポリペプチドとしては、単離した天然のポリペプチド、組み換えによるポリペプチド、合成したポリペプチド、これらの方法を組み合わせて作ったポリペプチドが挙げられる。このようなポリペプチドを調製する方法は従来技術で周知である。

【００４６】

本発明のポリペプチドはナイセリア・メニンギティディスから由来したものであることが最も好ましいが、分類学上同じ属の他の生物から得られたものも好ましい。本発明のポリペプチドは、例えば、分類学上同じ科または目の生物から得られたものでもよい。

ポリヌクレオチド

本発明の１つの目的は、ＢＡＳＢ０５１ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、特にこの明細書でＢＡＳＢ０５１と表記するポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供することである。

【００４７】

本発明の特に好ましい実施態様では、このポリヌクレオチドは、完全長の遺伝子を含んでいて配列番号１で与えられる配列を有するＢＡＳＢ０５１ポリペプチドをコードする領域、またはその変異体をコードする領域を含んでいる。

【００４８】

配列番号１で与えられるＢＡＳＢ０５１ポリヌクレオチドは、ナイセリア・メニンギティディス菌株ＡＴＣＣ１３０９０に由来するＢＡＳＢ０５１ポリヌクレオチドである。

【００４９】

本発明のさらに別の側面によれば、ＢＡＳＢ０５１ポリペプチドとポリヌクレオチド、特にナイセリア・メニンギティディスのＢＡＳＢ０５１ポリペプチドとポリヌクレオチドをコードおよび／または発現する、単離された核酸分子が提供される。そのような核酸分子としては、例えば、未処理のＲＮＡ、リボザイムＲＮＡ、ｍＲＮＡ、ｃＤＮＡ、ゲノムＤ

ＮＡ、Ｂ－ＤＮＡ、Ｚ－ＤＮＡが挙げられる。本発明のさらに別の実施態様として、生物学的、診断上、予防上、臨床上、または治療上有効なポリヌクレオチドとポリペプチド、これらの変異体、これらを含む組成物がある。

【００５０】

本発明の別の側面は、配列番号２の推定アミノ酸配列を有するＢＡＳＢ０５１ポリペプチドをコードしており、少なくとも１つの完全長遺伝子を含む単離されたポリヌクレオチドと、このポリヌクレオチドと密接に関係したポリヌクレオチドと、これらの変異体に関する。

【００５１】

本発明の特に好ましい実施態様では、ナイセリア・メニンギティディスに由来し、配列番号２のアミノ酸配列を含み、またはそのアミノ酸配列からなるＢＡＳＢ０５１ポリペプチド、またはその変異体が提供される。

【００５２】

配列番号１で与えられるポリヌクレオチド配列など、この明細書の情報を用いると、標準的なクローニング法およびスクリーニング法を利用し、次に完全長のクローンを得ることによって、ＢＡＳＢ０５１ポリペプチドをコードする本発明のポリヌクレオチドを得ることができる。なお標準的なクローニング法およびスクリーニング法としては、出発材料としてナイセリア・メニンギティディス細胞を用いて細菌から染色体ＤＮＡのクローニングとシークエンシングを行なう方法がある。例えば配列番号１で与えられるポリヌクレオチド配列などの本発明のポリヌクレオチド配列を得るためには、大腸菌またはそれ以外の適切な宿主の中で、ナイセリア・メニンギティディスの染色体ＤＮＡのクローンのライブラリーを、部分配列から由来し、好ましくは１７マーまたはそれよりも長い放射線標識したオリゴヌクレオチドでプローブするのが一般的である。次に、ストリンジェント・ハイブリダイゼーションを用いてプローブのＤＮＡと同じＤＮＡを有するクローンを識別することができる。もとのポリペプチド配列またはポリヌクレオチド配列から設計したシークエンシング用プライマーを用いたハイブリダイゼーションを通じてこのように同定された個々のクローンをシークエンシングすることにより、ポリヌクレオチド配列を両方の方向に伸長させ、完全長遺伝子の配列を決定することができる。都合のよいことに、このようなシークエンシングは、例えばプラスミド・クローンから調製した変性した二本鎖ＤＮＡを用いて実施することができる。適切な方法は、マニアティス，Ｔ、フリッチ，Ｅ．Ｆ．、サムブルック他、『分子クローニング：実験室マニュアル』第２版（コールド・スプリング・ハーバー・ラボラトリー・プレス、コールド・スプリング・ハーバー、ニューヨーク州、１９８９年）に記載されている（特に「ハイブリダイゼーションによるスクリーニング」１．９０と、「変性した二本鎖ＤＮＡ鋳型のシークエンシング」１３．７０を参照のこと）。直接的にゲノムＤＮＡのシークエンシングを行なって完全長遺伝子の配列を得ることもできる。本発明の証拠として、配列番号１で与えられる各ポリヌクレオチドは、ナイセリア・メニンギティディスに由来するＤＮＡライブラリーの中で発見された。

【００５３】

さらに、配列番号１で与えられる各ＤＮＡ配列は、配列番号２で与えられるアミノ酸残基とほぼ同数のアミノ酸残基を有するタンパク質をコードするオープン・リーディング・フレームを含んでいる。このタンパク質の推定分子量は、当業者には周知のアミノ酸残基の分子量の値を用いて計算することができる。

【００５４】

配列番号１のポリヌクレオチドは、配列番号１のヌクレオチド番号１の開始コドンとヌクレオチド番号８０２から始まる終止コドンの間で、配列番号２のポリペプチドをコードしている。

【００５５】

本発明のさらに別の側面によれば、以下のものを含む単離されたポリヌクレオチド、または以下のものからなる単離されたポリヌクレオチドが提供される。

（ａ）配列番号１の全長にわたって配列番号１と少なくとも８５％が一致、好ましくは少

なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、それ以上に好ましくは少なくとも９７～９９％が一致または完全に一致したポリヌクレオチド配列、または（ｂ）配列番号２の全長にわたって配列番号２と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、それ以上に好ましくは少なくとも９７～９９％が一致または１００％正確に一致したポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列。

【００５６】

本発明のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドは、ナイセリア・メニンギティディス以外の種からのホモログやオーソログも含め、配列番号１の配列またはその断片からなる標識したプローブまたは検出可能なプローブ、あるいはこれらの配列またはその断片を含む標識したプローブまたは検出可能なプローブを用いてストリンジェント・ハイブリダイゼーション条件（例えば、温度が４５～６５℃、ＳＤＳの濃度が０．１～１％）のもとで適切なライブラリーをスクリーニングし、完全長遺伝子および／またはそのポリヌクレオチド配列を含むゲノム・クローンを単離するステップを含む方法によって得ることができる。

【００５７】

本発明により、配列番号１の中のコード配列（オープン・リーディング・フレーム）と全長にわたって一致するポリヌクレオチド配列が提供される。さらに本発明により、成熟ポリペプチドのためのコード配列またはその断片のほか、成熟ポリペプチドのためのコード配列またはリーディング・フレーム中にあって別のコード配列を有する断片が提供される。別のコード配列とは、例えば、リーダー配列または分泌配列、プレタンパク質配列、プロタンパク質配列、プレプロタンパク質配列をコードする配列である。本発明のポリヌクレオチドは、少なくとも１つの非コード配列も含んでいてよい。例示するならば、少なくとも１つの非コード５’配列や３’配列、例えば転写はされるが翻訳はされない配列や、終結シグナル（ρ依存性終結シグナルやρ非依存性終結シグナルなど）、リボソーム結合部位、コザック配列、ｍＲＮＡを安定化させる配列、イントロン、ポリアデニル化シグナルなどが挙げられるが、これだけに限定されるわけではない。ポリヌクレオチド配列は、付加アミノ酸をコードする付加コード配列も含んでいてよい。例えば、融合したポリペプチドの精製を容易にするマーカー配列をコードすることができる。本発明のいくつかの実施態様では、マーカー配列は、ｐＱＥベクター（キアジェン社）の中に与えられるヘキサヒスチジン・ペプチド（ゲンツ他、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、第８６巻、８２１～８２４ページ、１９８９年）、またはＨＡペプチド・タグ（ウイルソン他、Ｃｅｌｌ、第３７巻、７６７ページ、１９８４年）である。そのどちらも、融合することになるポリペプチド配列を精製するのに役立てることができる。本発明のポリヌクレオチドは、構造遺伝子と、それにもともと付随していて遺伝子の発現を制御する配列とを有するポリヌクレオチドも含んでいる。ただし、本発明のポリヌクレオチドに含まれているのがそれだけとは限らない。

【００５８】

配列番号２のＢＡＳＢ０５１ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列は、それぞれ配列番号１のヌクレオチド番号１～８０１に含まれるポリペプチド・コード配列と同じであってよい。あるいは、遺伝暗号の冗長性（縮重）の結果として、配列番号２のポリペプチドをコードする配列であってもよい。

【００５９】

“ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド”という表現は、この明細書では、本発明のポリペプチド、特に細菌のポリペプチド、さらに特定するならば、配列番号２で与えられるアミノ酸配列を有するナイセリア・メニンギティディスのＢＡＳＢ０５１ポリペプチドをコードする配列を含むポリヌクレオチドのことを意味する。この表現は、ポリペプチドをコードする単一の連続領域または不連続領域（例えば、組み込まれたファージ、組み込まれた挿入配列、組み込まれたベクター配列、組み込まれたトランスポゾン配列によって中断されたポリヌクレオチド、またはＲＮＡの編集、ゲノムＤＮＡの再構成のために中

断されたポリヌクレオチド）に加え、やはりコード配列および／または非コード配列を含んでいる可能性のある付加領域を含むポリヌクレオチドのことも意味する。

【００６０】

本発明はさらに、配列番号２の推定アミノ酸配列を有するポリペプチドの変異体をコードする、この明細書に記載したポリヌクレオチドの変異体にも関する。本発明のポリヌクレオチドの断片は、例えば、本発明の完全長ポリヌクレオチドを合成するのに用いることができる。

【００６１】

さらに、特に好ましい実施態様によれば、配列番号２で与えられるＢＡＳＢ０５１ポリペプチドのアミノ酸配列のうち、いくつかのアミノ酸残基、例えば５～１０個、１～５個、１～３個、２個、１個、０個のアミノ酸残基が置換、変更、欠失、および／または、付加された状態が任意に組み合わされたＢＡＳＢ０５１変異体をコードするポリヌクレオチドが提供される。その中でも特に好ましいのは、ＢＡＳＢ０５１ポリペプチドの特性および活性を変化させないサイレントな置換、付加、欠失である。

【００６２】

さらに、本発明の好ましい実施態様によれば、全長にわたって少なくとも８５％が、配列番号２で与えられるアミノ酸配列を有するＢＡＳＢ０５１ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドと一致するポリヌクレオチドと、そのポリヌクレオチドと相補的なポリヌクレオチドが提供される。この点に関し、全長にわたって少なくとも９０％が一致するポリヌクレオチドが特に好ましく、そうした特に好ましいポリヌクレオチドの中でも、少なくとも９５％が一致するポリヌクレオチドが特に好ましい。さらに、少なくとも９５％が一致するポリヌクレオチドの中でも少なくとも９７％が一致するポリヌクレオチドがさらに好ましく、その中でも少なくとも９８％一致するもの、少なくとも９９％一致するものがそれ以上に好ましく、少なくとも９９％一致するものがより一層好ましい。

【００６３】

好ましい実施態様によれば、配列番号１のＤＮＡによってコードされる成熟ポリペプチドと実質的に同じ生物学的な機能または活性を保持しているポリペプチドをコードするポリヌクレオチドが提供される。

【００６４】

本発明の好ましいいくつかの実施態様によれば、ＢＡＳＢ０５１ポリヌクレオチド配列、例えば配列番号１のポリヌクレオチドと特にストリンジェント条件下においてハイブリダイズするポリヌクレオチドが提供される。

【００６５】

本発明はさらに、この明細書に記載したポリヌクレオチド配列とハイブリダイズするポリヌクレオチドに関する。この点に関し、本発明は、特に、この明細書に記載したポリヌクレオチドと厳しい条件下においてハイブリダイズするポリヌクレオチドに関する。この明細書で用いる“厳しい（ｓｔｒｉｎｇｅｎｔ）条件”、“厳しいハイブリダイゼーション条件”という表現は、配列間で少なくとも９５％、好ましくは少なくとも９７％が一致した場合にのみ起こるハイブリダイゼーションのことを意味する。厳しいハイブリダイゼーション条件の具体例は、５０％ホルムアミド、５×ＳＳＣ（１５０ｍＭのＮａＣｌ、１５ｍＭのクエン酸三ナトリウム）、５０ｍＭのリン酸ナトリウム（ｐＨ７．６）、５×デンハルト溶液、１０％硫酸デキストラン、２０μｇ／ｍｌの変性、切断したサケ精子ＤＮＡを含む溶液中で４２℃にて一晩培養し、次に、ハイブリダイゼーション用支持体を約６５℃にて０．１×ＳＳＣの中で洗浄するというものである。ハイブリダイゼーションと洗浄の条件は周知であり、例えばサムブルック他、『分子クローニング：実験室マニュアル』第２版（コールド・スプリング・ハーバー・ラボラトリー・プレス、コールド・スプリング・ハーバー、ニューヨーク州、１９８９年）の特に第１１章に記載されている。本発明のポリヌクレオチド配列には溶液ハイブリダイゼーションを行なうこともできる。

【００６６】

本発明によればさらに、配列番号１で与えられるポリヌクレオチド配列にとって完全な遺

伝子を含む適切なライブラリーを、配列番号１で与えられるこのポリヌクレオチド配列またはその断片を有するプローブを用いて厳しいハイブリダイゼーション条件のもとでスクリーニングし、そのポリヌクレオチド配列を単離することにより得られるポリヌクレオチド配列からなるポリヌクレオチド、またはそうしたポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドが提供される。そのようなポリヌクレオチドを得るのに役立つ断片としては、例えば、この明細書の別の箇所に詳しく説明したプローブやプライマーが挙げられる。

【００６７】

本発明のポリヌクレオチド・アッセイに関してはこの明細書の別の箇所に説明してあるが、例えば本発明のポリヌクレオチドをＲＮＡ、ｃＤＮＡ、ゲノムＤＮＡのハイブリダイゼーション用プローブとして用い、ＢＡＳＢ０５１をコードする完全長ｃＤＮＡやゲノム・クローンを単離したり、ＢＡＳＢ０５１遺伝子との一致度が高い他の遺伝子、特に配列の一致度が高いｃＤＮＡやゲノム・クローンを単離したりすることができる。このプローブは、一般に、少なくとも１５のヌクレオチド残基または塩基対を含んでいることになろう。このプローブは、少なくとも３０のヌクレオチド残基または塩基対を含んでいることが好ましく、少なくとも５０のヌクレオチド残基または塩基対を含んでいてもよい。特に好ましいプローブは、２０以上かつ３０未満のヌクレオチド残基または塩基対を含むことになろう。

【００６８】

ＢＡＳＢ０５１遺伝子のコード領域は、配列番号１で与えられるＤＮＡ配列を用いてオリゴヌクレオチド・プローブを合成し、このプローブを用いてスクリーニングを行なうことによって単離できる。そこで、本発明の遺伝子と相補的な配列を有する標識したオリゴヌクレオチドを用いてｃＤＮＡ、ゲノムＤＮＡ、またはｍＲＮＡのライブラリーをスクリーニングし、ライブラリーのどのメンバーにプローブがハイブリダイズするかを確認する。

【００６９】

本発明の１つの目的は、ＢＡＳＢ０５７ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、特にこの明細書でＢＡＳＢ０５７と表記するポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供することである。

【００７０】

本発明の特に好ましい実施態様では、このポリヌクレオチドは、完全長の遺伝子を含んでいて配列番号３で与えられる配列を有するＢＡＳＢ０５７ポリペプチドをコードする領域、またはその変異体をコードする領域を含んでいる。

【００７１】

配列番号３で与えられるＢＡＳＢ０５７ポリヌクレオチドは、ナイセリア・メニンギティディス菌株ＡＴＣＣ１３０９０に由来するＢＡＳＢ０５７ポリヌクレオチドである。

【００７２】

本発明のさらに別の側面によれば、ＢＡＳＢ０５７ポリペプチドとポリヌクレオチド、特にナイセリア・メニンギティディスのＢＡＳＢ０５７ポリペプチドとポリヌクレオチドをコードおよび／または発現する、単離された核酸分子が提供される。そのような核酸分子としては、例えば、未処理のＲＮＡ、リボザイムＲＮＡ、ｍＲＮＡ、ｃＤＮＡ、ゲノムＤＮＡ、Ｂ－ＤＮＡ、Ｚ－ＤＮＡが挙げられる。本発明のさらに別の実施態様として、生物学的、診断上、予防上、臨床上、または治療上有効なポリヌクレオチドとポリペプチド、これらの変異体、これらを含む組成物がある。

【００７３】

本発明の別の側面は、配列番号４の推定アミノ酸配列を有するＢＡＳＢ０５７ポリペプチドをコードしており、少なくとも１つの完全長遺伝子を含む単離されたポリヌクレオチドと、このポリヌクレオチドと密接に関係したポリヌクレオチドと、これらの変異体に関する。

【００７４】

本発明の特に好ましい実施態様では、ナイセリア・メニンギティディスに由来し、配列番号４のアミノ酸配列を含み、またはそのアミノ酸配列からなるＢＡＳＢ０５７ポリペプチ

ド、またはその変異体が提供される。

【００７５】

配列番号３で与えられるポリヌクレオチド配列など、この明細書の情報を用いると、標準的なクローニング法およびスクリーニング法を利用し、次に完全長のクローンを得ることによって、ＢＡＳＢ０５７ポリペプチドをコードする本発明のポリヌクレオチドを得ることができる。なお標準的なクローニング法およびスクリーニング法としては、出発材料としてナイセリア・メニンギティディス細胞を用いて細菌から染色体ＤＮＡのクローニングとシークエンシングを行なう方法がある。例えば配列番号３で与えられるポリヌクレオチド配列などの本発明のポリヌクレオチド配列を得るためには、大腸菌またはそれ以外の適切な宿主の中で、ナイセリア・メニンギティディスの染色体ＤＮＡのクローンのライブラリーを、部分配列から由来し、好ましくは１７マーまたはそれよりも長い放射線標識したオリゴヌクレオチドでプローブするのが一般的である。次に、ストリンジェント・ハイブリダイゼーションを用いてプローブのＤＮＡと同じＤＮＡを有するクローンを識別することができる。もとのポリペプチド配列またはポリヌクレオチド配列から設計したシークエンシング用プライマーを用いたハイブリダイゼーションを通じてこのように同定された個々のクローンをシークエンシングすることにより、ポリヌクレオチド配列を両方の方向に伸長させ、完全長遺伝子の配列を決定することができる。都合のよいことに、このようなシークエンシングは、例えばプラスミド・クローンから調製した変性した二本鎖ＤＮＡを用いて実施することができる。適切な方法は、マニアティス，　Ｔ、フリッチ，　Ｅ．Ｆ．、サムブルック他、『分子クローニング：実験室マニュアル』第２版（コールド・スプリング・ハーバー・ラボラトリー・プレス、コールド・スプリング・ハーバー、ニューヨーク州、１９８９年）に記載されている（特に「ハイブリダイゼーションによるスクリーニング」１．９０と、「変性した二本鎖ＤＮＡ鋳型のシークエンシング」１３．７０を参照のこと）。直接的にゲノムＤＮＡのシークエンシングを行なって完全長遺伝子の配列を得ることもできる。本発明の証拠として、配列番号１で与えられる各ポリヌクレオチドは、ナイセリア・メニンギティディスに由来するＤＮＡライブラリーの中で発見された。

【００７６】

さらに、配列番号３で与えられる各ＤＮＡ配列は、配列番号４で与えられるアミノ酸残基とほぼ同数のアミノ酸残基を有するタンパク質をコードするオープン・リーディング・フレームを含んでいる。このタンパク質の推定分子量は、当業者には周知のアミノ酸残基の分子量の値を用いて計算することができる。

【００７７】

配列番号３のポリヌクレオチドは、配列番号３のヌクレオチド番号１の開始コドンとヌクレオチド番号１４０２から始まる終止コドンの間で、配列番号４のポリペプチドをコードしている。

【００７８】

本発明のさらに別の側面によれば、以下のものを含む単離されたポリヌクレオチド、または以下のものからなる単離されたポリヌクレオチドが提供される。

（ａ）配列番号３の全長にわたって配列番号３と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、それ以上に好ましくは少なくとも９７～９９％が一致または完全に一致したポリヌクレオチド配列、または

（ｂ）配列番号４の全長にわたって配列番号４と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、それ以上に好ましくは少なくとも９７～９９％が一致または１００％正確に一致したポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列。

【００７９】

本発明のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドは、ナイセリア・メニンギティディス以外の種からのホモログやオーソログも含め、配列番号３の配列またはその断片からなる標識したプローブまたは検出可能なプローブ、あるいはこれらの配列またはその断片を含む標識したプローブまたは検出可能なプローブを用いてストリンジェント・ハイブリダ

イゼーション条件（例えば、温度が４５～６５℃、ＳＤＳの濃度が０．１～１％）のもとで適切なライブラリーをスクリーニングし、完全長遺伝子および／またはそのポリヌクレオチド配列を含むゲノム・クローンを単離するステップを含む方法によって得ることができる。

【００８０】

本発明により、配列番号３の中のコード配列（オープン・リーディング・フレーム）と全長にわたって一致するポリヌクレオチド配列が提供される。さらに本発明により、成熟ポリペプチドのためのコード配列またはその断片のほか、成熟ポリペプチドのためのコード配列またはリーディング・フレーム中にあって別のコード配列を有する断片が提供される。別のコード配列とは、例えば、リーダー配列または分泌配列、プレタンパク質配列、プロタンパク質配列、プレプロタンパク質配列をコードする配列である。本発明のポリヌクレオチドは、少なくとも１つの非コード配列も含んでいてよい。例示するならば、少なくとも１つの非コード５’配列や３’配列、例えば転写はされるが翻訳はされない配列や、終結シグナル（ρ依存性終結シグナルやρ非依存性終結シグナルなど）、リボソーム結合部位、コザック配列、ｍＲＮＡを安定化させる配列、イントロン、ポリアデニル化シグナルなどが挙げられるが、これだけに限定されるわけではない。ポリヌクレオチド配列は、付加アミノ酸をコードする付加コード配列も含んでいてよい。例えば、融合したポリペプチドの精製を容易にするマーカー配列をコードすることができる。本発明のいくつかの実施態様では、マーカー配列は、ｐＱＥベクター（キアジェン社）の中に与えられるヘキサヒスチジン・ペプチド（ゲンツ他、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、第８６巻、８２１～８２４ページ、１９８９年）、またはＨＡペプチド・タグ（ウイルソン他、Ｃｅｌｌ、第３７巻、７６７ページ、１９８４年）である。そのどちらも、融合することになるポリペプチド配列を精製するのに役立てることができる。本発明のポリヌクレオチドは、構造遺伝子と、それにもともと付随していて遺伝子の発現を制御する配列とを有するポリヌクレオチドも含んでいる。ただし、本発明のポリヌクレオチドに含まれているのがそれだけとは限らない。

【００８１】

配列番号４のＢＡＳＢ０５７ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列は、それぞれ配列番号３のヌクレオチド番号１～１４０１に含まれるポリペプチド・コード配列と同じであってよい。あるいは、遺伝暗号の冗長性（縮重）の結果として、配列番号４のポリペプチドをコードする配列であってもよい。

【００８２】

“ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド”という表現は、この明細書では、本発明のポリペプチド、特に細菌のポリペプチド、さらに特定するならば、配列番号４で与えられるアミノ酸配列を有するナイセリア・メニンギティディスのＢＡＳＢ０５７ポリペプチドをコードする配列を含むポリヌクレオチドのことを意味する。この表現は、ポリペプチドをコードする単一の連続領域または不連続領域（例えば、組み込まれたファージ、組み込まれた挿入配列、組み込まれたベクター配列、組み込まれたトランスポゾン配列によって中断されたポリヌクレオチド、またはＲＮＡの編集、ゲノムＤＮＡの再構成のために中断されたポリヌクレオチド）に加え、やはりコード配列および／または非コード配列を含んでいる可能性のある付加領域を含むポリヌクレオチドのことも意味する。

【００８３】

本発明はさらに、配列番号４の推定アミノ酸配列を有するポリペプチドの変異体をコードする、この明細書に記載したポリヌクレオチドの変異体にも関する。本発明のポリヌクレオチドの断片は、例えば、本発明の完全長ポリヌクレオチドを合成するのに用いることができる。

【００８４】

さらに、特に好ましい実施態様によれば、配列番号４で与えられるＢＡＳＢ０５７ポリペプチドのアミノ酸配列のうち、いくつかのアミノ酸残基、例えば５～１０個、１～５個、１～３個、２個、１個、０個のアミノ酸残基が置換、変更、欠失、および／または、付加

された状態が任意に組み合わされたＢＡＳＢ０５７変異体をコードするポリヌクレオチドが提供される。その中でも特に好ましいのは、ＢＡＳＢ０５７ポリペプチドの特性および活性を変化させないサイレントな置換、付加、欠失である。

【００８５】

さらに、本発明の好ましい実施態様によれば、全長にわたって少なくとも８５％が、配列番号４で与えられるアミノ酸配列を有するＢＡＳＢ０５７ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドと一致するポリヌクレオチドと、そのポリヌクレオチドと相補的なポリヌクレオチドが提供される。この点に関し、全長にわたって少なくとも９０％が一致するポリヌクレオチドが特に好ましく、そうした特に好ましいポリヌクレオチドの中でも、少なくとも９５％が一致するポリヌクレオチドが特に好ましい。さらに、少なくとも９５％が一致するポリヌクレオチドの中でも少なくとも９７％が一致するポリヌクレオチドがさらに好ましく、その中でも少なくとも９８％一致するもの、少なくとも９９％一致するものがそれ以上に好ましく、少なくとも９９％一致するものがより一層好ましい。

【００８６】

好ましい実施態様によれば、配列番号３のＤＮＡによってコードされる成熟ポリペプチドと実質的に同じ生物学的な機能または活性を保持しているポリペプチドをコードするポリヌクレオチドが提供される。

【００８７】

本発明の好ましいいくつかの実施態様によれば、ＢＡＳＢ０５７ポリヌクレオチド配列、例えば配列番号３のポリヌクレオチドと特にストリンジェント条件下においてハイブリダイズするポリヌクレオチドが提供される。

【００８８】

本発明はさらに、この明細書に記載したポリヌクレオチド配列とハイブリダイズするポリヌクレオチドに関する。この点に関し、本発明は、特に、この明細書に記載したポリヌクレオチドと厳しい条件下においてハイブリダイズするポリヌクレオチドに関する。この明細書で用いる“厳しい（ｓｔｒｉｎｇｅｎｔ）条件”、“厳しいハイブリダイゼーション条件”という表現は、配列間で少なくとも９５％、好ましくは少なくとも９７％が一致した場合にのみ起こるハイブリダイゼーションのことを意味する。厳しいハイブリダイゼーション条件の具体例は、５０％ホルムアミド、５×ＳＳＣ（１５０ｍＭのＮａＣｌ、１５ｍＭのクエン酸三ナトリウム）、５０ｍＭのリン酸ナトリウム（ｐＨ７．６）、５×デンハルト溶液、１０％硫酸デキストラン、２０μｇ／ｍｌの変性、切断したサケ精子ＤＮＡを含む溶液中で４２℃にて一晩培養し、次に、ハイブリダイゼーション用支持体を約６５℃にて０．１×ＳＳＣの中で洗浄するというものである。ハイブリダイゼーションと洗浄の条件は周知であり、例えばサムブルック他、『分子クローニング：実験室マニュアル』第２版（コールド・スプリング・ハーバー・ラボラトリー・プレス、コールド・スプリング・ハーバー、ニューヨーク州、１９８９年）の特に第１１章に記載されている。本発明のポリヌクレオチド配列には溶液ハイブリダイゼーションを行なうこともできる。

【００８９】

本発明によればさらに、配列番号３で与えられるポリヌクレオチド配列にとって完全な遺伝子を含む適切なライブラリーを、配列番号３で与えられるこのポリヌクレオチド配列またはその断片を有するプローブを用いて厳しいハイブリダイゼーション条件のもとでスクリーニングし、そのポリヌクレオチド配列を単離することにより得られるポリヌクレオチド配列からなるポリヌクレオチド、またはそうしたポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドが提供される。そのようなポリヌクレオチドを得るのに役立つ断片としては、例えば、この明細書の別の箇所に詳しく説明したプローブやプライマーが挙げられる。

【００９０】

本発明のポリヌクレオチド・アッセイに関してはこの明細書の別の箇所に説明してあるが、例えば本発明のポリヌクレオチドをＲＮＡ、ｃＤＮＡ、ゲノムＤＮＡのハイブリダイゼーション用プローブとして用い、ＢＡＳＢ０５７をコードする完全長ｃＤＮＡやゲノム・クローンを単離したり、ＢＡＳＢ０５７遺伝子との一致度が高い他の遺伝子、特に配列の

一致度が高いｃＤＮＡやゲノム・クローンを単離したりすることができる。このプローブは、一般に、少なくとも１５のヌクレオチド残基または塩基対を含んでいることになろう。このプローブは、少なくとも３０のヌクレオチド残基または塩基対を含んでいることが好ましく、少なくとも５０のヌクレオチド残基または塩基対を含んでいてもよい。特に好ましいプローブは、２０以上かつ３０未満のヌクレオチド残基または塩基対を含むことになろう。

【００９１】

ＢＡＳＢ０５７遺伝子のコード領域は、配列番号３で与えられるＤＮＡ配列を用いてオリゴヌクレオチド・プローブを合成し、このプローブを用いてスクリーニングを行なうことによって単離できる。そこで、本発明の遺伝子と相補的な配列を有する標識したオリゴヌクレオチドを用いてｃＤＮＡ、ゲノムＤＮＡ、またはｍＲＮＡのライブラリーをスクリーニングし、ライブラリーのどのメンバーにプローブがハイブリダイズするかを確認する。

【００９２】

本発明の１つの目的は、ＢＡＳＢ０６０ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、特にこの明細書でＢＡＳＢ０６０と表記するポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供することである。

【００９３】

本発明の特に好ましい実施態様では、このポリヌクレオチドは、完全長の遺伝子を含んでいて配列番号５で与えられる配列を有するＢＡＳＢ０６０ポリペプチドをコードする領域、またはその変異体をコードする領域を含んでいる。

【００９４】

配列番号５で与えられるＢＡＳＢ０６０ポリヌクレオチドは、ナイセリア・メニンギティディス菌株ＡＴＣＣ１３０９０に由来するＢＡＳＢ０６０ポリヌクレオチドである。

【００９５】

本発明のさらに別の側面によれば、ＢＡＳＢ０６０ポリペプチドとポリヌクレオチド、特にナイセリア・メニンギティディスのＢＡＳＢ０６０ポリペプチドとポリヌクレオチドをコードおよび／または発現する、単離された核酸分子が提供される。そのような核酸分子としては、例えば、未処理のＲＮＡ、リボザイムＲＮＡ、ｍＲＮＡ、ｃＤＮＡ、ゲノムＤＮＡ、Ｂ－ＤＮＡ、Ｚ－ＤＮＡが挙げられる。本発明のさらに別の実施態様として、生物学的、診断上、予防上、臨床上、または治療上有効なポリヌクレオチドとポリペプチド、これらの変異体、これらを含む組成物がある。

【００９６】

本発明の別の側面は、配列番号６の推定アミノ酸配列を有するＢＡＳＢ０６０ポリペプチドをコードしており、少なくとも１つの完全長遺伝子を含む単離されたポリヌクレオチドと、このポリヌクレオチドと密接に関係したポリヌクレオチドと、これらの変異体に関する。

【００９７】

本発明の特に好ましい実施態様では、ナイセリア・メニンギティディスに由来し、配列番号６のアミノ酸配列を含み、またはそのアミノ酸配列からなるＢＡＳＢ０６０ポリペプチド、またはその変異体が提供される。

【００９８】

配列番号５で与えられるポリヌクレオチド配列など、この明細書の情報を用いると、標準的なクローニング法およびスクリーニング法を利用し、次に完全長のクローンを得ることによって、ＢＡＳＢ０６０ポリペプチドをコードする本発明のポリヌクレオチドを得ることができる。なお標準的なクローニング法およびスクリーニング法としては、出発材料としてナイセリア・メニンギティディス細胞を用いて細菌から染色体ＤＮＡのクローニングとシークエンシングを行なう方法がある。例えば配列番号５で与えられるポリヌクレオチド配列などの本発明のポリヌクレオチド配列を得るためには、大腸菌またはそれ以外の適切な宿主の中で、ナイセリア・メニンギティディスの染色体ＤＮＡのクローンのライブラリーを、部分配列から由来し、好ましくは１７マーまたはそれよりも長い放射線標識した

オリゴヌクレオチドでプローブするのが一般的である。次に、ストリンジェント・ハイブリダイゼーションを用いてプローブのＤＮＡと同じＤＮＡを有するクローンを識別することができる。もとのポリペプチド配列またはポリヌクレオチド配列から設計したシークエンシング用プライマーを用いたハイブリダイゼーションを通じてこのように同定された個々のクローンをシークエンシングすることにより、ポリヌクレオチド配列を両方の方向に伸長させ、完全長遺伝子の配列を決定することができる。都合のよいことに、このようなシークエンシングは、例えばプラスミド・クローンから調製した変性した二本鎖ＤＮＡを用いて実施することができる。適切な方法は、マニアティス，Ｔ、フリッチ，Ｅ．Ｆ．、サムブルック他、『分子クローニング：実験室マニュアル』第２版（コールド・スプリング・ハーバー・ラボラトリー・プレス、コールド・スプリング・ハーバー、ニューヨーク州、１９８９年）に記載されている（特に「ハイブリダイゼーションによるスクリーニング」１．９０と、「変性した二本鎖ＤＮＡ鋳型のシークエンシング」１３．７０を参照のこと）。直接的にゲノムＤＮＡのシークエンシングを行なって完全長遺伝子の配列を得ることもできる。本発明の証拠として、配列番号５で与えられる各ポリヌクレオチドは、ナイセリア・メニンギティディスに由来するＤＮＡライブラリーの中で発見された。

【００９９】

さらに、配列番号５で与えられる各ＤＮＡ配列は、配列番号６で与えられるアミノ酸残基とほぼ同数のアミノ酸残基を有するタンパク質をコードするオープン・リーディング・フレームを含んでいる。このタンパク質の推定分子量は、当業者には周知のアミノ酸残基の分子量の値を用いて計算することができる。

【０１００】

配列番号５のポリヌクレオチドは、配列番号５のヌクレオチド番号１の開始コドンとヌクレオチド番号４１８から始まる終止コドンの間で、配列番号６のポリペプチドをコードしている。

【０１０１】

本発明のさらに別の側面によれば、以下のものを含む単離されたポリヌクレオチド、または以下のものからなる単離されたポリヌクレオチドが提供される。

（ａ）配列番号５の全長にわたって配列番号５と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、それ以上に好ましくは少なくとも９７～９９％が一致または完全に一致したポリヌクレオチド配列、または

（ｂ）配列番号６の全長にわたって配列番号６と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、それ以上に好ましくは少なくとも９７～９９％が一致または１００％正確に一致したポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列。

【０１０２】

本発明のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドは、ナイセリア・メニンギティディス以外の種からのホモログやオーソログも含め、配列番号５の配列またはその断片からなる標識したプローブまたは検出可能なプローブ、あるいはこれらの配列またはその断片を含む標識したプローブまたは検出可能なプローブを用いてストリンジェント・ハイブリダイゼーション条件（例えば、温度が４５～６５℃、ＳＤＳの濃度が０．１～１％）のもとで適切なライブラリーをスクリーニングし、完全長遺伝子および／またはそのポリヌクレオチド配列を含むゲノム・クローンを単離するステップを含む方法によって得ることができる。

【０１０３】

本発明により、配列番号５の中のコード配列（オープン・リーディング・フレーム）と全長にわたって一致するポリヌクレオチド配列が提供される。さらに本発明により、成熟ポリペプチドのためのコード配列またはその断片のほか、成熟ポリペプチドのためのコード配列またはリーディング・フレーム中にあって別のコード配列を有する断片が提供される。別のコード配列とは、例えば、リーダー配列または分泌配列、プレタンパク質配列、プロタンパク質配列、プレプロタンパク質配列をコードする配列である。本発明のポリヌク

レオチドは、少なくとも１つの非コード配列も含んでいてよい。例示するならば、少なくとも１つの非コード５’配列や３’配列、例えば転写はされるが翻訳はされない配列や、終結シグナル（ρ依存性終結シグナルやρ非依存性終結シグナルなど）、リボソーム結合部位、コザック配列、ｍＲＮＡを安定化させる配列、イントロン、ポリアデニル化シグナルなどが挙げられるが、これだけに限定されるわけではない。ポリヌクレオチド配列は、付加アミノ酸をコードする付加コード配列も含んでいてよい。例えば、融合したポリペプチドの精製を容易にするマーカー配列をコードすることができる。本発明のいくつかの実施態様では、マーカー配列は、ｐＱＥベクター（キアジェン社）の中に与えられるヘキサヒスチジン・ペプチド（ゲンツ他、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、第８６巻、８２１～８２４ページ、１９８９年）、またはＨＡペプチド・タグ（ウイルソン他、Ｃｅｌｌ、第３７巻、７６７ページ、１９８４年）である。そのどちらも、融合することになるポリペプチド配列を精製するのに役立てることができる。本発明のポリヌクレオチドは、構造遺伝子と、それにもともと付随していて遺伝子の発現を制御する配列とを有するポリヌクレオチドも含んでいる。ただし、本発明のポリヌクレオチドに含まれているのがそれだけとは限らない。

【０１０４】

配列番号６のＢＡＳＢ０６０ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列は、それぞれ配列番号１のヌクレオチド番号１～４１７に含まれるポリペプチド・コード配列と同じであってよい。あるいは、遺伝暗号の冗長性（縮重）の結果として、配列番号６のポリペプチドをコードする配列であってもよい。

【０１０５】

“ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド”という表現は、この明細書では、本発明のポリペプチド、特に細菌のポリペプチド、さらに特定するならば、配列番号６で与えられるアミノ酸配列を有するナイセリア・メニンギティディスのＢＡＳＢ０６０ポリペプチドをコードする配列を含むポリヌクレオチドのことを意味する。この表現は、ポリペプチドをコードする単一の連続領域または不連続領域（例えば、組み込まれたファージ、組み込まれた挿入配列、組み込まれたベクター配列、組み込まれたトランスポゾン配列によって中断されたポリヌクレオチド、またはＲＮＡの編集、ゲノムＤＮＡの再構成のために中断されたポリヌクレオチド）に加え、やはりコード配列および／または非コード配列を含んでいる可能性のある付加領域を含むポリヌクレオチドのことも意味する。

【０１０６】

本発明はさらに、配列番号６の推定アミノ酸配列を有するポリペプチドの変異体をコードする、この明細書に記載したポリヌクレオチドの変異体にも関する。本発明のポリヌクレオチドの断片は、例えば、本発明の完全長ポリヌクレオチドを合成するのに用いることができる。

【０１０７】

さらに、特に好ましい実施態様によれば、配列番号６で与えられるＢＡＳＢ０６０ポリペプチドのアミノ酸配列のうち、いくつかのアミノ酸残基、例えば５～１０個、１～５個、１～３個、２個、１個、０個のアミノ酸残基が置換、変更、欠失、および／または、付加された状態が任意に組み合わされたＢＡＳＢ０６０変異体をコードするポリヌクレオチドが提供される。その中でも特に好ましいのは、ＢＡＳＢ０６０ポリペプチドの特性および活性を変化させないサイレントな置換、付加、欠失である。

【０１０８】

さらに、本発明の好ましい実施態様によれば、全長にわたって少なくとも８５％が、配列番号６で与えられるアミノ酸配列を有するＢＡＳＢ０６０ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドと一致するポリヌクレオチドと、そのポリヌクレオチドと相補的なポリヌクレオチドが提供される。この点に関し、全長にわたって少なくとも９０％が一致するポリヌクレオチドが特に好ましく、そうした特に好ましいポリヌクレオチドの中でも、少なくとも９５％が一致するポリヌクレオチドが特に好ましい。さらに、少なくとも９５％が一致するポリヌクレオチドの中でも少なくとも９７％が一致するポリヌクレオチドがさらに

好ましく、その中でも少なくとも９８％一致するもの、少なくとも９９％一致するものがそれ以上に好ましく、少なくとも９９％一致するものがより一層好ましい。

【０１０９】

好ましい実施態様によれば、配列番号５のＤＮＡによってコードされる成熟ポリペプチドと実質的に同じ生物学的な機能または活性を保持しているポリペプチドをコードするポリヌクレオチドが提供される。

【０１１０】

本発明の好ましいいくつかの実施態様によれば、ＢＡＳＢ０６０ポリヌクレオチド配列、例えば配列番号５のポリヌクレオチドと特にストリンジェント条件下においてハイブリダイズするポリヌクレオチドが提供される。

【０１１１】

本発明はさらに、この明細書に記載したポリヌクレオチド配列とハイブリダイズするポリヌクレオチドに関する。この点に関し、本発明は、特に、この明細書に記載したポリヌクレオチドと厳しい条件下においてハイブリダイズするポリヌクレオチドに関する。この明細書で用いる“厳しい（ｓｔｒｉｎｇｅｎｔ）条件”、“厳しいハイブリダイゼーション条件”という表現は、配列間で少なくとも９５％、好ましくは少なくとも９７％が一致した場合にのみ起こるハイブリダイゼーションのことを意味する。厳しいハイブリダイゼーション条件の具体例は、５０％ホルムアミド、５×ＳＳＣ（１５０ｍＭのＮａＣｌ、１５ｍＭのクエン酸三ナトリウム）、５０ｍＭのリン酸ナトリウム（ｐＨ７．６）、５×デンハルト溶液、１０％硫酸デキストラン、２０μｇ／ｍｌの変性、切断したサケ精子ＤＮＡを含む溶液中で４２℃にて一晩培養し、次に、ハイブリダイゼーション用支持体を約６５℃にて０．１×ＳＳＣの中で洗浄するというものである。ハイブリダイゼーションと洗浄の条件は周知であり、例えばサムブルック他、『分子クローニング：実験室マニュアル』第２版（コールド・スプリング・ハーバー・ラボラトリー・プレス、コールド・スプリング・ハーバー、ニューヨーク州、１９８９年）の特に第１１章に記載されている。本発明のポリヌクレオチド配列には溶液ハイブリダイゼーションを行なうこともできる。

【０１１２】

本発明によればさらに、配列番号５で与えられるポリヌクレオチド配列にとって完全な遺伝子を含む適切なライブラリーを、配列番号５で与えられるこのポリヌクレオチド配列またはその断片を有するプローブを用いて厳しいハイブリダイゼーション条件のもとでスクリーニングし、そのポリヌクレオチド配列を単離することにより得られるポリヌクレオチド配列からなるポリヌクレオチド、またはそうしたポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドが提供される。そのようなポリヌクレオチドを得るのに役立つ断片としては、例えば、この明細書の別の箇所に詳しく説明したプローブやプライマーが挙げられる。

【０１１３】

本発明のポリヌクレオチド・アッセイに関してはこの明細書の別の箇所に説明してあるが、例えば本発明のポリヌクレオチドをＲＮＡ、ｃＤＮＡ、ゲノムＤＮＡのハイブリダイゼーション用プローブとして用い、ＢＡＳＢ０６０をコードする完全長ｃＤＮＡやゲノム・クローンを単離したり、ＢＡＳＢ０６０遺伝子との一致度が高い他の遺伝子、特に配列の一致度が高いｃＤＮＡやゲノム・クローンを単離したりすることができる。このプローブは、一般に、少なくとも１５のヌクレオチド残基または塩基対を含んでいることになろう。このプローブは、少なくとも３０のヌクレオチド残基または塩基対を含んでいることが好ましく、少なくとも５０のヌクレオチド残基または塩基対を含んでいてもよい。特に好ましいプローブは、２０以上かつ３０未満のヌクレオチド残基または塩基対を含むことになろう。

【０１１４】

ＢＡＳＢ０６０遺伝子のコード領域は、配列番号５で与えられるＤＮＡ配列を用いてオリゴヌクレオチド・プローブを合成し、このプローブを用いてスクリーニングを行なうことによって単離できる。そこで、本発明の遺伝子と相補的な配列を有する標識したオリゴヌクレオチドを用いてｃＤＮＡ、ゲノムＤＮＡ、またはｍＲＮＡのライブラリーをスクリー

ニングし、ライブラリーのどのメンバーにプローブがハイブリダイズするかを確認する。
【０１１５】
本発明の１つの目的は、ＢＡＳＢ０６１ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、特にこの明細書でＢＡＳＢ０６１と表記するポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供することである。
【０１１６】
本発明の特に好ましい実施態様では、このポリヌクレオチドは、完全長の遺伝子を含んでいて配列番号７で与えられる配列を有するＢＡＳＢ０６１ポリペプチドをコードする領域、またはその変異体をコードする領域を含んでいる。
【０１１７】
配列番号７で与えられるＢＡＳＢ０６１ポリヌクレオチドは、ナイセリア・メニンギティディス菌株ＡＴＣＣ１３０９０に由来するＢＡＳＢ０６１ポリヌクレオチドである。
【０１１８】
本発明のさらに別の側面によれば、ＢＡＳＢ０６１ポリペプチドとポリヌクレオチド、特にナイセリア・メニンギティディスのＢＡＳＢ０６１ポリペプチドとポリヌクレオチドをコードおよび／または発現する、単離された核酸分子が提供される。そのような核酸分子としては、例えば、未処理のＲＮＡ、リボザイムＲＮＡ、ｍＲＮＡ、ｃＤＮＡ、ゲノムＤＮＡ、Ｂ－ＤＮＡ、Ｚ－ＤＮＡが挙げられる。本発明のさらに別の実施態様として、生物学的、診断上、予防上、臨床上、または治療上有効なポリヌクレオチドとポリペプチド、これらの変異体、これらを含む組成物がある。
【０１１９】
本発明の別の側面は、配列番号８の推定アミノ酸配列を有するＢＡＳＢ０６１ポリペプチドをコードしており、少なくとも１つの完全長遺伝子を含む単離されたポリヌクレオチドと、このポリヌクレオチドと密接に関係したポリヌクレオチドと、これらの変異体に関する。
【０１２０】
本発明の特に好ましい実施態様では、ナイセリア・メニンギティディスに由来し、配列番号８のアミノ酸配列を含み、またはそのアミノ酸配列からなるＢＡＳＢ０６１ポリペプチド、またはその変異体が提供される。
【０１２１】
配列番号７で与えられるポリヌクレオチド配列など、この明細書の情報を用いると、標準的なクローニング法およびスクリーニング法を利用し、次に完全長のクローンを得ることによって、ＢＡＳＢ０６１ポリペプチドをコードする本発明のポリヌクレオチドを得ることができる。なお標準的なクローニング法およびスクリーニング法としては、出発材料としてナイセリア・メニンギティディス細胞を用いて細菌から染色体ＤＮＡのクローニングとシークエンシングを行なう方法がある。例えば配列番号７で与えられるポリヌクレオチド配列などの本発明のポリヌクレオチド配列を得るためには、大腸菌またはそれ以外の適切な宿主の中で、ナイセリア・メニンギティディスの染色体ＤＮＡのクローンのライブラリーを、部分配列から由来し、好ましくは１７マーまたはそれよりも長い放射線標識したオリゴヌクレオチドでプローブするのが一般的である。次に、ストリンジェント・ハイブリダイゼーションを用いてプローブのＤＮＡと同じＤＮＡを有するクローンを識別することができる。もとのポリペプチド配列またはポリヌクレオチド配列から設計したシークエンシング用プライマーを用いたハイブリダイゼーションを通じてこのように同定された個々のクローンをシークエンシングすることにより、ポリヌクレオチド配列を両方の方向に伸長させ、完全長遺伝子の配列を決定することができる。都合のよいことに、このようなシークエンシングは、例えばプラスミド・クローンから調製した変性した二本鎖ＤＮＡを用いて実施することができる。適切な方法は、マニアティス，Ｔ、フリッチ，Ｅ．Ｆ．、サムブルック他、『分子クローニング：実験室マニュアル』第２版（コールド・スプリング・ハーバー・ラボラトリー・プレス、コールド・スプリング・ハーバー、ニューヨーク州、１９８９年）に記載されている（特に「ハイブリダイゼーションによるスクリーニ

ング」１．９０と、「変性した二本鎖ＤＮＡ鋳型のシークエンシング」１３．７０を参照のこと）。直接的にゲノムＤＮＡのシークエンシングを行なって完全長遺伝子の配列を得ることもできる。本発明の証拠として、配列番号７で与えられる各ポリヌクレオチドは、ナイセリア・メニンギティディスに由来するＤＮＡライブラリーの中で発見された。

【０１２２】

さらに、配列番号７で与えられる各ＤＮＡ配列は、配列番号８で与えられるアミノ酸残基とほぼ同数のアミノ酸残基を有するタンパク質をコードするオープン・リーディング・フレームを含んでいる。このタンパク質の推定分子量は、当業者には周知のアミノ酸残基の分子量の値を用いて計算することができる。

【０１２３】

配列番号７のポリヌクレオチドは、配列番号７のヌクレオチド番号１の開始コドンとヌクレオチド番号５１４から始まる終止コドンの間で、配列番号２のポリペプチドをコードしている。

【０１２４】

本発明のさらに別の側面によれば、以下のものを含む単離されたポリヌクレオチド、または以下のものからなる単離されたポリヌクレオチドが提供される。

（ａ）配列番号７の全長にわたって配列番号７と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、それ以上に好ましくは少なくとも９７～９９％が一致または完全に一致したポリヌクレオチド配列、または

（ｂ）配列番号８の全長にわたって配列番号８と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、それ以上に好ましくは少なくとも９７～９９％が一致または１００％正確に一致したポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列。

【０１２５】

本発明のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドは、ナイセリア・メニンギティディス以外の種からのホモログやオーソログも含め、配列番号７の配列またはその断片からなる標識したプローブまたは検出可能なプローブ、あるいはこれらの配列またはその断片を含む標識したプローブまたは検出可能なプローブを用いてストリンジェント・ハイブリダイゼーション条件（例えば、温度が４５～６５℃、ＳＤＳの濃度が０．１～１％）のもとで適切なライブラリーをスクリーニングし、完全長遺伝子および／またはそのポリヌクレオチド配列を含むゲノム・クローンを単離するステップを含む方法によって得ることができる。

【０１２６】

本発明により、配列番号７の中のコード配列（オープン・リーディング・フレーム）と全長にわたって一致するポリヌクレオチド配列が提供される。さらに本発明により、成熟ポリペプチドのためのコード配列またはその断片のほか、成熟ポリペプチドのためのコード配列またはリーディング・フレーム中にあって別のコード配列を有する断片が提供される。別のコード配列とは、例えば、リーダー配列または分泌配列、プレタンパク質配列、プロタンパク質配列、プレプロタンパク質配列をコードする配列である。本発明のポリヌクレオチドは、少なくとも１つの非コード配列も含んでいてよい。例示するならば、少なくとも１つの非コード５’配列や３’配列、例えば転写はされるが翻訳はされない配列や、終結シグナル（ρ依存性終結シグナルやρ非依存性終結シグナルなど）、リボソーム結合部位、コザック配列、ｍＲＮＡを安定化させる配列、イントロン、ポリアデニル化シグナルなどが挙げられるが、これだけに限定されるわけではない。ポリヌクレオチド配列は、付加アミノ酸をコードする付加コード配列も含んでいてよい。例えば、融合したポリペプチドの精製を容易にするマーカー配列をコードすることができる。本発明のいくつかの実施態様では、マーカー配列は、ｐＱＥベクター（キアジェン社）の中に与えられるヘキサヒスチジン・ペプチド（ゲンツ他、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、第８６巻、８２１～８２４ページ、１９８９年）、またはＨＡペプチド・タグ（ウイルソン他、Ｃｅｌｌ、第３７巻、７６７ページ、１９８４年）である。そのどちらも、融合

することになるポリペプチド配列を精製するのに役立てることができる。本発明のポリヌクレオチドは、構造遺伝子と、それにもともと付随していて遺伝子の発現を制御する配列とを有するポリヌクレオチドも含んでいる。ただし、本発明のポリヌクレオチドに含まれているのがそれだけとは限らない。

【０１２７】

配列番号８のＢＡＳＢ０６１ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列は、それぞれ配列番号７のヌクレオチド番号１～５１３に含まれるポリペプチド・コード配列と同じであってよい。あるいは、遺伝暗号の冗長性（縮重）の結果として、配列番号８のポリペプチドをコードする配列であってもよい。

【０１２８】

“ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド”という表現は、この明細書では、本発明のポリペプチド、特に細菌のポリペプチド、さらに特定するならば、配列番号８で与えられるアミノ酸配列を有するナイセリア・メニンギティディスのＢＡＳＢ０６１ポリペプチドをコードする配列を含むポリヌクレオチドのことを意味する。この表現は、ポリペプチドをコードする単一の連続領域または不連続領域（例えば、組み込まれたファージ、組み込まれた挿入配列、組み込まれたベクター配列、組み込まれたトランスポゾン配列によって中断されたポリヌクレオチド、またはＲＮＡの編集、ゲノムＤＮＡの再構成のために中断されたポリヌクレオチド）に加え、やはりコード配列および／または非コード配列を含んでいる可能性のある付加領域を含むポリヌクレオチドのことも意味する。

【０１２９】

本発明はさらに、配列番号８の推定アミノ酸配列を有するポリペプチドの変異体をコードする、この明細書に記載したポリヌクレオチドの変異体にも関する。本発明のポリヌクレオチドの断片は、例えば、本発明の完全長ポリヌクレオチドを合成するのに用いることができる。

【０１３０】

さらに、特に好ましい実施態様によれば、配列番号８で与えられるＢＡＳＢ０６１ポリペプチドのアミノ酸配列のうち、いくつかのアミノ酸残基、例えば５～１０個、１～５個、１～３個、２個、１個、０個のアミノ酸残基が置換、変更、欠失、および／または、付加された状態が任意に組み合わされたＢＡＳＢ０６１変異体をコードするポリヌクレオチドが提供される。その中でも特に好ましいのは、ＢＡＳＢ０６１ポリペプチドの特性および活性を変化させないサイレントな置換、付加、欠失である。

【０１３１】

さらに、本発明の好ましい実施態様によれば、全長にわたって少なくとも８５％が、配列番号８で与えられるアミノ酸配列を有するＢＡＳＢ０６１ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドと一致するポリヌクレオチドと、そのポリヌクレオチドと相補的なポリヌクレオチドが提供される。この点に関し、全長にわたって少なくとも９０％が一致するポリヌクレオチドが特に好ましく、そうした特に好ましいポリヌクレオチドの中でも、少なくとも９５％が一致するポリヌクレオチドが特に好ましい。さらに、少なくとも９５％が一致するポリヌクレオチドの中でも少なくとも９７％が一致するポリヌクレオチドがさらに好ましく、その中でも少なくとも９８％一致するもの、少なくとも９９％一致するものがそれ以上に好ましく、少なくとも９９％一致するものがより一層好ましい。

【０１３２】

好ましい実施態様によれば、配列番号７のＤＮＡによってコードされる成熟ポリペプチドと実質的に同じ生物学的な機能または活性を保持しているポリペプチドをコードするポリヌクレオチドが提供される。

【０１３３】

本発明の好ましいいくつかの実施態様によれば、ＢＡＳＢ０６１ポリヌクレオチド配列、例えば配列番号７のポリヌクレオチドと特にストリンジェント条件下においてハイブリダイズするポリヌクレオチドが提供される。

【０１３４】

本発明はさらに、この明細書に記載したポリヌクレオチド配列とハイブリダイズするポリヌクレオチドに関する。この点に関し、本発明は、特に、この明細書に記載したポリヌクレオチドと厳しい条件下においてハイブリダイズするポリヌクレオチドに関する。この明細書で用いる“厳しい（ｓｔｒｉｎｇｅｎｔ）条件”、“厳しいハイブリダイゼーション条件”という表現は、配列間で少なくとも９５％、好ましくは少なくとも９７％が一致した場合にのみ起こるハイブリダイゼーションのことを意味する。厳しいハイブリダイゼーション条件の具体例は、５０％ホルムアミド、５×ＳＳＣ（１５０ｍＭのＮａＣｌ、１５ｍＭのクエン酸三ナトリウム）、５０ｍＭのリン酸ナトリウム（ｐＨ７．６）、５×デンハルト溶液、１０％硫酸デキストラン、２０μｇ／ｍｌの変性、切断したサケ精子ＤＮＡを含む溶液中で４２℃にて一晩培養し、次に、ハイブリダイゼーション用支持体を約６５℃にて０．１×ＳＳＣの中で洗浄するというものである。ハイブリダイゼーションと洗浄の条件は周知であり、例えばサムブルック他、『分子クローニング：実験室マニュアル』第２版（コールド・スプリング・ハーバー・ラボラトリー・プレス、コールド・スプリング・ハーバー、ニューヨーク州、１９８９年）の特に第１１章に記載されている。本発明のポリヌクレオチド配列には溶液ハイブリダイゼーションを行なうこともできる。

【０１３５】

本発明によればさらに、配列番号７で与えられるポリヌクレオチド配列にとって完全な遺伝子を含む適切なライブラリーを、配列番号７で与えられるこのポリヌクレオチド配列またはその断片を有するプローブを用いて厳しいハイブリダイゼーション条件のもとでスクリーニングし、そのポリヌクレオチド配列を単離することにより得られるポリヌクレオチド配列からなるポリヌクレオチド、またはそうしたポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドが提供される。そのようなポリヌクレオチドを得るのに役立つ断片としては、例えば、この明細書の別の箇所に詳しく説明したプローブやプライマーが挙げられる。

【０１３６】

本発明のポリヌクレオチド・アッセイに関してはこの明細書の別の箇所に説明してあるが、例えば本発明のポリヌクレオチドをＲＮＡ、ｃＤＮＡ、ゲノムＤＮＡのハイブリダイゼーション用プローブとして用い、ＢＡＳＢ０６１をコードする完全長ｃＤＮＡやゲノム・クローンを単離したり、ＢＡＳＢ０６１遺伝子との一致度が高い他の遺伝子、特に配列の一致度が高いｃＤＮＡやゲノム・クローンを単離したりすることができる。このプローブは、一般に、少なくとも１５のヌクレオチド残基または塩基対を含んでいることになろう。このプローブは、少なくとも３０のヌクレオチド残基または塩基対を含んでいることが好ましく、少なくとも５０のヌクレオチド残基または塩基対を含んでいてもよい。特に好ましいプローブは、２０以上かつ３０未満のヌクレオチド残基または塩基対を含むことになろう。

【０１３７】

ＢＡＳＢ０６１遺伝子のコード領域は、配列番号７で与えられるＤＮＡ配列を用いてオリゴヌクレオチド・プローブを合成し、このプローブを用いてスクリーニングを行なうことによって単離できる。そこで、本発明の遺伝子と相補的な配列を有する標識したオリゴヌクレオチドを用いてｃＤＮＡ、ゲノムＤＮＡ、またはｍＲＮＡのライブラリーをスクリーニングし、ライブラリーのどのメンバーにプローブがハイブリダイズするかを確認する。

【０１３８】

本発明の１つの目的は、ＢＡＳＢ０６３ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、特にこの明細書でＢＡＳＢ０６３と表記するポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供することである。

【０１３９】

本発明の特に好ましい実施態様では、このポリヌクレオチドは、完全長の遺伝子を含んでいて配列番号９で与えられる配列を有するＢＡＳＢ０６３ポリペプチドをコードする領域、またはその変異体をコードする領域を含んでいる。

【０１４０】

配列番号９で与えられるＢＡＳＢ０６３ポリヌクレオチドは、ナイセリア・メニンギティ

ディス菌株ＡＴＣＣ１３０９０に由来するＢＡＳＢ０６３ポリヌクレオチドである。

【０１４１】

本発明のさらに別の側面によれば、ＢＡＳＢ０６３ポリペプチドとポリヌクレオチド、特にナイセリア・メニンギティディスのＢＡＳＢ０６３ポリペプチドとポリヌクレオチドをコードおよび／または発現する、単離された核酸分子が提供される。そのような核酸分子としては、例えば、未処理のＲＮＡ、リボザイムＲＮＡ、ｍＲＮＡ、ｃＤＮＡ、ゲノムＤＮＡ、Ｂ－ＤＮＡ、Ｚ－ＤＮＡが挙げられる。本発明のさらに別の実施態様として、生物学的、診断上、予防上、臨床上、または治療上有効なポリヌクレオチドとポリペプチド、これらの変異体、これらを含む組成物がある。

【０１４２】

本発明の別の側面は、配列番号１０の推定アミノ酸配列を有するＢＡＳＢ０６３ポリペプチドをコードしており、少なくとも１つの完全長遺伝子を含む単離されたポリヌクレオチドと、このポリヌクレオチドと密接に関係したポリヌクレオチドと、これらの変異体に関する。

【０１４３】

本発明の特に好ましい実施態様では、ナイセリア・メニンギティディスに由来し、配列番号１０のアミノ酸配列を含み、またはそのアミノ酸配列からなるＢＡＳＢ０６３ポリペプチド、またはその変異体が提供される。

【０１４４】

配列番号９で与えられるポリヌクレオチド配列など、この明細書の情報を用いると、標準的なクローニング法およびスクリーニング法を利用し、次に完全長のクローンを得ることによって、ＢＡＳＢ０６３ポリペプチドをコードする本発明のポリヌクレオチドを得ることができる。なお標準的なクローニング法およびスクリーニング法としては、出発材料としてナイセリア・メニンギティディス細胞を用いて細菌から染色体ＤＮＡのクローニングとシークエンシングを行なう方法がある。例えば配列番号９で与えられるポリヌクレオチド配列などの本発明のポリヌクレオチド配列を得るためには、大腸菌またはそれ以外の適切な宿主の中で、ナイセリア・メニンギティディスの染色体ＤＮＡのクローンのライブラリーを、部分配列から由来し、好ましくは１７マーまたはそれよりも長い放射線標識したオリゴヌクレオチドでプローブするのが一般的である。次に、ストリンジェント・ハイブリダイゼーションを用いてプローブのＤＮＡと同じＤＮＡを有するクローンを識別することができる。もとのポリペプチド配列またはポリヌクレオチド配列から設計したシークエンシング用プライマーを用いたハイブリダイゼーションを通じてこのように同定された個々のクローンをシークエンシングすることにより、ポリヌクレオチド配列を両方の方向に伸長させ、完全長遺伝子の配列を決定することができる。都合のよいことに、このようなシークエンシングは、例えばプラスミド・クローンから調製した変性した二本鎖ＤＮＡを用いて実施することができる。適切な方法は、マニアティス，Ｔ、フリッチ，Ｅ．Ｆ．、サムブルック他、『分子クローニング：実験室マニュアル』第２版（コールド・スプリング・ハーバー・ラボラトリー・プレス、コールド・スプリング・ハーバー、ニューヨーク州、１９８９年）に記載されている（特に「ハイブリダイゼーションによるスクリーニング」１．９０と、「変性した二本鎖ＤＮＡ鋳型のシークエンシング」１３．７０を参照のこと）。直接的にゲノムＤＮＡのシークエンシングを行なって完全長遺伝子の配列を得ることもできる。本発明の証拠として、配列番号９で与えられる各ポリヌクレオチドは、ナイセリア・メニンギティディスに由来するＤＮＡライブラリーの中で発見された。

【０１４５】

さらに、配列番号９で与えられる各ＤＮＡ配列は、配列番号１０で与えられるアミノ酸残基とほぼ同数のアミノ酸残基を有するタンパク質をコードするオープン・リーディング・フレームを含んでいる。このタンパク質の推定分子量は、当業者には周知のアミノ酸残基の分子量の値を用いて計算することができる。

【０１４６】

配列番号９のポリヌクレオチドは、配列番号９のヌクレオチド番号１の開始コドンとヌク

レオチド番号８１４から始まる終止コドンの間で、配列番号２のポリペプチドをコードしている。

【０１４７】

本発明のさらに別の側面によれば、以下のものを含む単離されたポリヌクレオチド、または以下のものからなる単離されたポリヌクレオチドが提供される。

（ａ）配列番号９の全長にわたって配列番号９と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、それ以上に好ましくは少なくとも９７～９９％が一致または完全に一致したポリヌクレオチド配列、または

（ｂ）配列番号１０の全長にわたって配列番号１０と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、それ以上に好ましくは少なくとも９７～９９％が一致または１００％正確に一致したポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列。

【０１４８】

本発明のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドは、ナイセリア・メニンギティディス以外の種からのホモログやオーソログも含め、配列番号９の配列またはその断片からなる標識したプローブまたは検出可能なプローブ、あるいはこれらの配列またはその断片を含む標識したプローブまたは検出可能なプローブを用いてストリンジェント・ハイブリダイゼーション条件（例えば、温度が４５～６５℃、ＳＤＳの濃度が０．１～１％）のもとで適切なライブラリーをスクリーニングし、完全長遺伝子および／またはそのポリヌクレオチド配列を含むゲノム・クローンを単離するステップを含む方法によって得ることができる。

【０１４９】

本発明により、配列番号９の中のコード配列（オープン・リーディング・フレーム）と全長にわたって一致するポリヌクレオチド配列が提供される。さらに本発明により、成熟ポリペプチドのためのコード配列またはその断片のほか、成熟ポリペプチドのためのコード配列またはリーディング・フレーム中にあって別のコード配列を有する断片が提供される。別のコード配列とは、例えば、リーダー配列または分泌配列、プレタンパク質配列、プロタンパク質配列、プレプロタンパク質配列をコードする配列である。本発明のポリヌクレオチドは、少なくとも１つの非コード配列も含んでいてよい。例示するならば、少なくとも１つの非コード５’配列や３’配列、例えば転写はされるが翻訳はされない配列や、終結シグナル（ρ依存性終結シグナルやρ非依存性終結シグナルなど）、リボソーム結合部位、コザック配列、ｍＲＮＡを安定化させる配列、イントロン、ポリアデニル化シグナルなどが挙げられるが、これだけに限定されるわけではない。ポリヌクレオチド配列は、付加アミノ酸をコードする付加コード配列も含んでいてよい。例えば、融合したポリペプチドの精製を容易にするマーカー配列をコードすることができる。本発明のいくつかの実施態様では、マーカー配列は、ｐＱＥベクター（キアジェン社）の中に与えられるヘキサヒスチジン・ペプチド（ゲンツ他、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、第８６巻、８２１～８２４ページ、１９８９年）、またはＨＡペプチド・タグ（ウイルソン他、Ｃｅｌｌ、第３７巻、７６７ページ、１９８４年）である。そのどちらも、融合することになるポリペプチド配列を精製するのに役立てることができる。本発明のポリヌクレオチドは、構造遺伝子と、それにもともと付随していて遺伝子の発現を制御する配列とを有するポリヌクレオチドも含んでいる。ただし、本発明のポリヌクレオチドに含まれているのがそれだけとは限らない。

【０１５０】

配列番号１０のＢＡＳＢ０６３ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列は、それぞれ配列番号９のヌクレオチド番号１～８１３に含まれるポリペプチド・コード配列と同じであってよい。あるいは、遺伝暗号の冗長性（縮重）の結果として、配列番号１０のポリペプチドをコードする配列であってもよい。

【０１５１】

“ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド”という表現は、この明細書では、本発明

のポリペプチド、特に細菌のポリペプチド、さらに特定するならば、配列番号１０で与えられるアミノ酸配列を有するナイセリア・メニンギティディスのＢＡＳＢ０６３ポリペプチドをコードする配列を含むポリヌクレオチドのことを意味する。この表現は、ポリペプチドをコードする単一の連続領域または不連続領域（例えば、組み込まれたファージ、組み込まれた挿入配列、組み込まれたベクター配列、組み込まれたトランスポゾン配列によって中断されたポリヌクレオチド、またはＲＮＡの編集、ゲノムＤＮＡの再構成のために中断されたポリヌクレオチド）に加え、やはりコード配列および／または非コード配列を含んでいる可能性のある付加領域を含むポリヌクレオチドのことも意味する。

【０１５２】

本発明はさらに、配列番号１０の推定アミノ酸配列を有するポリペプチドの変異体をコードする、この明細書に記載したポリヌクレオチドの変異体にも関する。本発明のポリヌクレオチドの断片は、例えば、本発明の完全長ポリヌクレオチドを合成するのに用いることができる。

【０１５３】

さらに、特に好ましい実施態様によれば、配列番号１０で与えられるＢＡＳＢ０６３ポリペプチドのアミノ酸配列のうち、いくつかのアミノ酸残基、例えば５～１０個、１～５個、１～３個、２個、１個、０個のアミノ酸残基が置換、変更、欠失、および／または、付加された状態が任意に組み合わされたＢＡＳＢ０６３変異体をコードするポリヌクレオチドが提供される。その中でも特に好ましいのは、ＢＡＳＢ０６３ポリペプチドの特性および活性を変化させないサイレントな置換、付加、欠失である。

【０１５４】

さらに、本発明の好ましい実施態様によれば、全長にわたって少なくとも８５％が、配列番号１０で与えられるアミノ酸配列を有するＢＡＳＢ０６３ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドと一致するポリヌクレオチドと、そのポリヌクレオチドと相補的なポリヌクレオチドが提供される。この点に関し、全長にわたって少なくとも９０％が一致するポリヌクレオチドが特に好ましく、そうした特に好ましいポリヌクレオチドの中でも、少なくとも９５％が一致するポリヌクレオチドが特に好ましい。さらに、少なくとも９５％が一致するポリヌクレオチドの中でも少なくとも９７％が一致するポリヌクレオチドがさらに好ましく、その中でも少なくとも９８％一致するもの、少なくとも９９％一致するものがそれ以上に好ましく、少なくとも９９％一致するものがより一層好ましい。

【０１５５】

好ましい実施態様によれば、配列番号９のＤＮＡによってコードされる成熟ポリペプチドと実質的に同じ生物学的な機能または活性を保持しているポリペプチドをコードするポリヌクレオチドが提供される。

【０１５６】

本発明の好ましいいくつかの実施態様によれば、ＢＡＳＢ０６３ポリヌクレオチド配列、例えば配列番号９のポリヌクレオチドと特にストリンジェント条件下においてハイブリダイズするポリヌクレオチドが提供される。

【０１５７】

本発明はさらに、この明細書に記載したポリヌクレオチド配列とハイブリダイズするポリヌクレオチドに関する。この点に関し、本発明は、特に、この明細書に記載したポリヌクレオチドと厳しい条件下においてハイブリダイズするポリヌクレオチドに関する。この明細書で用いる“厳しい（ｓｔｒｉｎｇｅｎｔ）条件”、“厳しいハイブリダイゼーション条件”という表現は、配列間で少なくとも９５％、好ましくは少なくとも９７％が一致した場合にのみ起こるハイブリダイゼーションのことを意味する。厳しいハイブリダイゼーション条件の具体例は、５０％ホルムアミド、５×ＳＳＣ（１５０ｍＭのＮａＣｌ、１５ｍＭのクエン酸三ナトリウム）、５０ｍＭのリン酸ナトリウム（ｐＨ７．６）、５×デンハルト溶液、１０％硫酸デキストラン、２０μｇ／ｍｌの変性、切断したサケ精子ＤＮＡを含む溶液中で４２℃にて一晩培養し、次に、ハイブリダイゼーション用支持体を約６５℃にて０．１×ＳＳＣの中で洗浄するというものである。ハイブリダイゼーションと洗浄

の条件は周知であり、例えばサムブルック他、『分子クローニング：実験室マニュアル』第２版（コールド・スプリング・ハーバー・ラボラトリー・プレス、コールド・スプリング・ハーバー、ニューヨーク州、１９８９年）の特に第１１章に記載されている。本発明のポリヌクレオチド配列には溶液ハイブリダイゼーションを行なうこともできる。

【０１５８】

本発明によればさらに、配列番号９で与えられるポリヌクレオチド配列にとって完全な遺伝子を含む適切なライブラリーを、配列番号９で与えられるこのポリヌクレオチド配列またはその断片を有するプローブを用いて厳しいハイブリダイゼーション条件のもとでスクリーニングし、そのポリヌクレオチド配列を単離することにより得られるポリヌクレオチド配列からなるポリヌクレオチド、またはそうしたポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドが提供される。そのようなポリヌクレオチドを得るのに役立つ断片としては、例えば、この明細書の別の箇所に詳しく説明したプローブやプライマーが挙げられる。

【０１５９】

本発明のポリヌクレオチド・アッセイに関してはこの明細書の別の箇所に説明してあるが、例えば本発明のポリヌクレオチドをＲＮＡ、ｃＤＮＡ、ゲノムＤＮＡのハイブリダイゼーション用プローブとして用い、ＢＡＳＢ０６３をコードする完全長ｃＤＮＡやゲノム・クローンを単離したり、ＢＡＳＢ０６３遺伝子との一致度が高い他の遺伝子、特に配列の一致度が高いｃＤＮＡやゲノム・クローンを単離したりすることができる。このプローブは、一般に、少なくとも１５のヌクレオチド残基または塩基対を含んでいることになろう。このプローブは、少なくとも３０のヌクレオチド残基または塩基対を含んでいることが好ましく、少なくとも５０のヌクレオチド残基または塩基対を含んでいてもよい。特に好ましいプローブは、２０以上かつ３０未満のヌクレオチド残基または塩基対を含むことになろう。

【０１６０】

ＢＡＳＢ０６３遺伝子のコード領域は、配列番号９で与えられるＤＮＡ配列を用いてオリゴヌクレオチド・プローブを合成し、このプローブを用いてスクリーニングを行なうことによって単離できる。そこで、本発明の遺伝子と相補的な配列を有する標識したオリゴヌクレオチドを用いてｃＤＮＡ、ゲノムＤＮＡ、またはｍＲＮＡのライブラリーをスクリーニングし、ライブラリーのどのメンバーにプローブがハイブリダイズするかを確認する。

【０１６１】

本発明の１つの目的は、ＢＡＳＢ０６５ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、特にこの明細書でＢＡＳＢ０６５と表記するポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供することである。

【０１６２】

本発明の特に好ましい実施態様では、このポリヌクレオチドは、完全長の遺伝子を含んでいて配列番号１１で与えられる配列を有するＢＡＳＢ０６５ポリペプチドをコードする領域、またはその変異体をコードする領域を含んでいる。

【０１６３】

配列番号１１で与えられるＢＡＳＢ０６５ポリヌクレオチドは、ナイセリア・メニンギティディス菌株ＡＴＣＣ１３０９０に由来するＢＡＳＢ０６５ポリヌクレオチドである。

【０１６４】

本発明のさらに別の側面によれば、ＢＡＳＢ０６５ポリペプチドとポリヌクレオチド、特にナイセリア・メニンギティディスのＢＡＳＢ０６５ポリペプチドとポリヌクレオチドをコードおよび／または発現する、単離された核酸分子が提供される。そのような核酸分子としては、例えば、未処理のＲＮＡ、リボザイムＲＮＡ、ｍＲＮＡ、ｃＤＮＡ、ゲノムＤＮＡ、Ｂ－ＤＮＡ、Ｚ－ＤＮＡが挙げられる。本発明のさらに別の実施態様として、生物学的、診断上、予防上、臨床上、または治療上有効なポリヌクレオチドとポリペプチド、これらの変異体、これらを含む組成物がある。

【０１６５】

本発明の別の側面は、配列番号１２の推定アミノ酸配列を有するＢＡＳＢ０６５ポリペプ

チドをコードしており、少なくとも１つの完全長遺伝子を含む単離されたポリヌクレオチドと、このポリヌクレオチドと密接に関係したポリヌクレオチドと、これらの変異体に関する。

【０１６６】

本発明の特に好ましい実施態様では、ナイセリア・メニンギティディスに由来し、配列番号１２のアミノ酸配列を含み、またはそのアミノ酸配列からなるＢＡＳＢ０６５ポリペプチド、またはその変異体が提供される。

【０１６７】

配列番号１１で与えられるポリヌクレオチド配列など、この明細書の情報を用いると、標準的なクローニング法およびスクリーニング法を利用し、次に完全長のクローンを得ることによって、ＢＡＳＢ０６５ポリペプチドをコードする本発明のポリヌクレオチドを得ることができる。なお標準的なクローニング法およびスクリーニング法としては、出発材料としてナイセリア・メニンギティディス細胞を用いて細菌から染色体ＤＮＡのクローニングとシークエンシングを行なう方法がある。例えば配列番号１１で与えられるポリヌクレオチド配列などの本発明のポリヌクレオチド配列を得るためには、大腸菌またはそれ以外の適切な宿主の中で、ナイセリア・メニンギティディスの染色体ＤＮＡのクローンのライブラリーを、部分配列から由来し、好ましくは１７マーまたはそれよりも長い放射線標識したオリゴヌクレオチドでプローブするのが一般的である。次に、ストリンジェント・ハイブリダイゼーションを用いてプローブのＤＮＡと同じＤＮＡを有するクローンを識別することができる。もとのポリペプチド配列またはポリヌクレオチド配列から設計したシークエンシング用プライマーを用いたハイブリダイゼーションを通じてこのように同定された個々のクローンをシークエンシングすることにより、ポリヌクレオチド配列を両方の方向に伸長させ、完全長遺伝子の配列を決定することができる。都合のよいことに、このようなシークエンシングは、例えばプラスミド・クローンから調製した変性した二本鎖ＤＮＡを用いて実施することができる。適切な方法は、マニアティス，Ｔ、フリッチ，Ｅ．Ｆ．、サムブルック他、『分子クローニング：実験室マニュアル』第２版（コールド・スプリング・ハーバー・ラボラトリー・プレス、コールド・スプリング・ハーバー、ニューヨーク州、１９８９年）に記載されている（特に「ハイブリダイゼーションによるスクリーニング」１．９０と、「変性した二本鎖ＤＮＡ鋳型のシークエンシング」１３．７０を参照のこと）。直接的にゲノムＤＮＡのシークエンシングを行なって完全長遺伝子の配列を得ることもできる。本発明の証拠として、配列番号１１で与えられる各ポリヌクレオチドは、ナイセリア・メニンギティディスに由来するＤＮＡライブラリーの中で発見された。

【０１６８】

さらに、配列番号１１で与えられる各ＤＮＡ配列は、配列番号１２で与えられるアミノ酸残基とほぼ同数のアミノ酸残基を有するタンパク質をコードするオープン・リーディング・フレームを含んでいる。このタンパク質の推定分子量は、当業者には周知のアミノ酸残基の分子量の値を用いて計算することができる。

【０１６９】

配列番号１１のポリヌクレオチドは、配列番号１１のヌクレオチド番号１の開始コドンとヌクレオチド番号７１５から始まる終止コドンの間で、配列番号１２のポリペプチドをコードしている。

【０１７０】

本発明のさらに別の側面によれば、以下のものを含む単離されたポリヌクレオチド、または以下のものからなる単離されたポリヌクレオチドが提供される。

（ａ）配列番号１１の全長にわたって配列番号１１と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、それ以上に好ましくは少なくとも９７～９９％が一致または完全に一致したポリヌクレオチド配列、または

（ｂ）配列番号１２の全長にわたって配列番号１２と少なくとも８５％が一致、好ましく

は少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、それ以上に好ましくは少なくとも９７～９９％が一致または１００％正確に一致したポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列。

【０１７１】

本発明のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドは、ナイセリア・メニンギティディス以外の種からのホモログやオーソログも含め、配列番号１１の配列またはその断片からなる標識したプローブまたは検出可能なプローブ、あるいはこれらの配列またはその断片を含む標識したプローブまたは検出可能なプローブを用いてストリンジェント・ハイブリダイゼーション条件（例えば、温度が４５～６５℃、ＳＤＳの濃度が０．１～１％）のもとで適切なライブラリーをスクリーニングし、完全長遺伝子および／またはそのポリヌクレオチド配列を含むゲノム・クローンを単離するステップを含む方法によって得ることができる。

【０１７２】

本発明により、配列番号１１の中のコード配列（オープン・リーディング・フレーム）と全長にわたって一致するポリヌクレオチド配列が提供される。さらに本発明により、成熟ポリペプチドのためのコード配列またはその断片のほか、成熟ポリペプチドのためのコード配列またはリーディング・フレーム中にあって別のコード配列を有する断片が提供される。別のコード配列とは、例えば、リーダー配列または分泌配列、プレタンパク質配列、プロタンパク質配列、プレプロタンパク質配列をコードする配列である。本発明のポリヌクレオチドは、少なくとも１つの非コード配列も含んでいてよい。例示するならば、少なくとも１つの非コード５’配列や３’配列、例えば転写はされるが翻訳はされない配列や、終結シグナル（ρ依存性終結シグナルやρ非依存性終結シグナルなど）、リボソーム結合部位、コザック配列、ｍＲＮＡを安定化させる配列、イントロン、ポリアデニル化シグナルなどが挙げられるが、これだけに限定されるわけではない。ポリヌクレオチド配列は、付加アミノ酸をコードする付加コード配列も含んでいてよい。例えば、融合したポリペプチドの精製を容易にするマーカー配列をコードすることができる。本発明のいくつかの実施態様では、マーカー配列は、ｐＱＥベクター（キアジェン社）の中に与えられるヘキサヒスチジン・ペプチド（ゲンツ他、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、第８６巻、８２１～８２４ページ、１９８９年）、またはＨＡペプチド・タグ（ウイルソン他、Ｃｅｌｌ、第３７巻、７６７ページ、１９８４年）である。そのどちらも、融合することになるポリペプチド配列を精製するのに役立てることができる。本発明のポリヌクレオチドは、構造遺伝子と、それにもともと付随していて遺伝子の発現を制御する配列とを有するポリヌクレオチドも含んでいる。ただし、本発明のポリヌクレオチドに含まれているのがそれだけとは限らない。

【０１７３】

配列番号１２のＢＡＳＢ０６５ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列は、それぞれ配列番号１１のヌクレオチド番号１～７１４に含まれるポリペプチド・コード配列と同じであってよい。あるいは、遺伝暗号の冗長性（縮重）の結果として、配列番号１２のポリペプチドをコードする配列であってもよい。

【０１７４】

“ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド”という表現は、この明細書では、本発明のポリペプチド、特に細菌のポリペプチド、さらに特定するならば、配列番号１２で与えられるアミノ酸配列を有するナイセリア・メニンギティディスのＢＡＳＢ０６５ポリペプチドをコードする配列を含むポリヌクレオチドのことを意味する。この表現は、ポリペプチドをコードする単一の連続領域または不連続領域（例えば、組み込まれたファージ、組み込まれた挿入配列、組み込まれたベクター配列、組み込まれたトランスポゾン配列によって中断されたポリヌクレオチド、またはＲＮＡの編集、ゲノムＤＮＡの再構成のために中断されたポリヌクレオチド）に加え、やはりコード配列および／または非コード配列を含んでいる可能性のある付加領域を含むポリヌクレオチドのことも意味する。

【０１７５】

本発明はさらに、配列番号１２の推定アミノ酸配列を有するポリペプチドの変異体をコードする、この明細書に記載したポリヌクレオチドの変異体にも関する。本発明のポリヌクレオチドの断片は、例えば、本発明の完全長ポリヌクレオチドを合成するのに用いることができる。

【０１７６】

さらに、特に好ましい実施態様によれば、配列番号１２で与えられるＢＡＳＢ０６５ポリペプチドのアミノ酸配列のうち、いくつかのアミノ酸残基、例えば５～１０個、１～５個、１～３個、２個、１個、０個のアミノ酸残基が置換、変更、欠失、および／または、付加された状態が任意に組み合わされたＢＡＳＢ０６５変異体をコードするポリヌクレオチドが提供される。その中でも特に好ましいのは、ＢＡＳＢ０６５ポリペプチドの特性および活性を変化させないサイレントな置換、付加、欠失である。

【０１７７】

さらに、本発明の好ましい実施態様によれば、全長にわたって少なくとも８５％が、配列番号１２で与えられるアミノ酸配列を有するＢＡＳＢ０６５ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドと一致するポリヌクレオチドと、そのポリヌクレオチドと相補的なポリヌクレオチドが提供される。この点に関し、全長にわたって少なくとも９０％が一致するポリヌクレオチドが特に好ましく、そうした特に好ましいポリヌクレオチドの中でも、少なくとも９５％が一致するポリヌクレオチドが特に好ましい。さらに、少なくとも９５％が一致するポリヌクレオチドの中でも少なくとも９７％が一致するポリヌクレオチドがさらに好ましく、その中でも少なくとも９８％一致するもの、少なくとも９９％一致するものがそれ以上に好ましく、少なくとも９９％一致するものがより一層好ましい。

【０１７８】

好ましい実施態様によれば、配列番号１１のＤＮＡによってコードされる成熟ポリペプチドと実質的に同じ生物学的な機能または活性を保持しているポリペプチドをコードするポリヌクレオチドが提供される。

【０１７９】

本発明の好ましいいくつかの実施態様によれば、ＢＡＳＢ０６５ポリヌクレオチド配列、例えば配列番号１１のポリヌクレオチドと特にストリンジェント条件下においてハイブリダイズするポリヌクレオチドが提供される。

【０１８０】

本発明はさらに、この明細書に記載したポリヌクレオチド配列とハイブリダイズするポリヌクレオチドに関する。この点に関し、本発明は、特に、この明細書に記載したポリヌクレオチドと厳しい条件下においてハイブリダイズするポリヌクレオチドに関する。この明細書で用いる“厳しい（ｓｔｒｉｎｇｅｎｔ）条件”、“厳しいハイブリダイゼーション条件”という表現は、配列間で少なくとも９５％、好ましくは少なくとも９７％が一致した場合にのみ起こるハイブリダイゼーションのことを意味する。厳しいハイブリダイゼーション条件の具体例は、５０％ホルムアミド、５×ＳＳＣ（１５０ｍＭのＮａＣｌ、１５ｍＭのクエン酸三ナトリウム）、５０ｍＭのリン酸ナトリウム（ｐＨ７．６）、５×デンハルト溶液、１０％硫酸デキストラン、２０μｇ／ｍｌの変性、切断したサケ精子ＤＮＡを含む溶液中で４２℃にて一晩培養し、次に、ハイブリダイゼーション用支持体を約６５℃にて０．１×ＳＳＣの中で洗浄するというものである。ハイブリダイゼーションと洗浄の条件は周知であり、例えばサムブルック他、『分子クローニング：実験室マニュアル』第２版（コールド・スプリング・ハーバー・ラボラトリー・プレス、コールド・スプリング・ハーバー、ニューヨーク州、１９８９年）の特に第１１章に記載されている。本発明のポリヌクレオチド配列には溶液ハイブリダイゼーションを行なうこともできる。

【０１８１】

本発明によればさらに、配列番号１１で与えられるポリヌクレオチド配列にとって完全な遺伝子を含む適切なライブラリーを、配列番号１１で与えられるこのポリヌクレオチド配列またはその断片を有するプローブを用いて厳しいハイブリダイゼーション条件のもとでスクリーニングし、そのポリヌクレオチド配列を単離することにより得られるポリヌクレ

オチド配列からなるポリヌクレオチド、またはそうしたポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドが提供される。そのようなポリヌクレオチドを得るのに役立つ断片としては、例えば、この明細書の別の箇所に詳しく説明したプローブやプライマーが挙げられる。

【０１８２】

本発明のポリヌクレオチド・アッセイに関してはこの明細書の別の箇所に説明してあるが、例えば本発明のポリヌクレオチドをＲＮＡ、ｃＤＮＡ、ゲノムＤＮＡのハイブリダイゼーション用プローブとして用い、ＢＡＳＢ０６５をコードする完全長ｃＤＮＡやゲノム・クローンを単離したり、ＢＡＳＢ０６５遺伝子との一致度が高い他の遺伝子、特に配列の一致度が高いｃＤＮＡやゲノム・クローンを単離したりすることができる。このプローブは、一般に、少なくとも１５のヌクレオチド残基または塩基対を含んでいることになろう。このプローブは、少なくとも３０のヌクレオチド残基または塩基対を含んでいることが好ましく、少なくとも５０のヌクレオチド残基または塩基対を含んでいてもよい。特に好ましいプローブは、２０以上かつ３０未満のヌクレオチド残基または塩基対を含むことになろう。

【０１８３】

ＢＡＳＢ０６５遺伝子のコード領域は、配列番号１１で与えられるＤＮＡ配列を用いてオリゴヌクレオチド・プローブを合成し、このプローブを用いてスクリーニングを行なうことによって単離できる。そこで、本発明の遺伝子と相補的な配列を有する標識したオリゴヌクレオチドを用いてｃＤＮＡ、ゲノムＤＮＡ、またはｍＲＮＡのライブラリーをスクリーニングし、ライブラリーのどのメンバーにプローブがハイブリダイズするかを確認する。

【０１８４】

本発明の１つの目的は、ＢＡＳＢ０６６ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、特にこの明細書でＢＡＳＢ０６６と表記するポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供することである。

【０１８５】

本発明の特に好ましい実施態様では、このポリヌクレオチドは、完全長の遺伝子を含んでいて配列番号１３で与えられる配列を有するＢＡＳＢ０６６ポリペプチドをコードする領域、またはその変異体をコードする領域を含んでいる。

【０１８６】

配列番号１３で与えられるＢＡＳＢ０６６ポリヌクレオチドは、ナイセリア・メニンギティディス菌株ＡＴＣＣ１３０９０に由来するＢＡＳＢ０６６ポリヌクレオチドである。

【０１８７】

本発明のさらに別の側面によれば、ＢＡＳＢ０６６ポリペプチドとポリヌクレオチド、特にナイセリア・メニンギティディスのＢＡＳＢ０６６ポリペプチドとポリヌクレオチドをコードおよび／または発現する、単離された核酸分子が提供される。そのような核酸分子としては、例えば、未処理のＲＮＡ、リボザイムＲＮＡ、ｍＲＮＡ、ｃＤＮＡ、ゲノムＤＮＡ、Ｂ－ＤＮＡ、Ｚ－ＤＮＡが挙げられる。本発明のさらに別の実施態様として、生物学的、診断上、予防上、臨床上、または治療上有効なポリヌクレオチドとポリペプチド、これらの変異体、これらを含む組成物がある。

【０１８８】

本発明の別の側面は、配列番号１４の推定アミノ酸配列を有するＢＡＳＢ０６６ポリペプチドをコードしており、少なくとも１つの完全長遺伝子を含む単離されたポリヌクレオチドと、このポリヌクレオチドと密接に関係したポリヌクレオチドと、これらの変異体に関する。

【０１８９】

本発明の特に好ましい実施態様では、ナイセリア・メニンギティディスに由来し、配列番号１４のアミノ酸配列を含み、またはそのアミノ酸配列からなるＢＡＳＢ０６６ポリペプチド、またはその変異体が提供される。

【０１９０】

配列番号１３で与えられるポリヌクレオチド配列など、この明細書の情報を用いると、標準的なクローニング法およびスクリーニング法を利用し、次に完全長のクローンを得ることによって、ＢＡＳＢ０６６ポリペプチドをコードする本発明のポリヌクレオチドを得ることができる。なお標準的なクローニング法およびスクリーニング法としては、出発材料としてナイセリア・メニンギティディス細胞を用いて細菌から染色体ＤＮＡのクローニングとシークエンシングを行なう方法がある。例えば配列番号１３で与えられるポリヌクレオチド配列などの本発明のポリヌクレオチド配列を得るためには、大腸菌またはそれ以外の適切な宿主の中で、ナイセリア・メニンギティディスの染色体ＤＮＡのクローンのライブラリーを、部分配列から由来し、好ましくは１７マーまたはそれよりも長い放射線標識したオリゴヌクレオチドでプローブするのが一般的である。次に、ストリンジェント・ハイブリダイゼーションを用いてプローブのＤＮＡと同じＤＮＡを有するクローンを識別することができる。もとのポリペプチド配列またはポリヌクレオチド配列から設計したシークエンシング用プライマーを用いたハイブリダイゼーションを通じてこのように同定された個々のクローンをシークエンシングすることにより、ポリヌクレオチド配列を両方の方向に伸長させ、完全長遺伝子の配列を決定することができる。都合のよいことに、このようなシークエンシングは、例えばプラスミド・クローンから調製した変性した二本鎖ＤＮＡを用いて実施することができる。適切な方法は、マニアティス，Ｔ、フリッチ，Ｅ．Ｆ．、サムブルック他、『分子クローニング：実験室マニュアル』第２版（コールド・スプリング・ハーバー・ラボラトリー・プレス、コールド・スプリング・ハーバー、ニューヨーク州、１９８９年）に記載されている（特に「ハイブリダイゼーションによるスクリーニング」１．９０と、「変性した二本鎖ＤＮＡ鋳型のシークエンシング」１３．７０を参照のこと）。直接的にゲノムＤＮＡのシークエンシングを行なって完全長遺伝子の配列を得ることもできる。本発明の証拠として、配列番号１３で与えられる各ポリヌクレオチドは、ナイセリア・メニンギティディスに由来するＤＮＡライブラリーの中で発見された。

【０１９１】

さらに、配列番号１３で与えられる各ＤＮＡ配列は、配列番号１４で与えられるアミノ酸残基とほぼ同数のアミノ酸残基を有するタンパク質をコードするオープン・リーディング・フレームを含んでいる。このタンパク質の推定分子量は、当業者には周知のアミノ酸残基の分子量の値を用いて計算することができる。

【０１９２】

配列番号１３のポリヌクレオチドは、配列番号１３のヌクレオチド番号１の開始コドンとヌクレオチド番号１１７４から始まる終止コドンの間で、配列番号２のポリペプチドをコードしている。

【０１９３】

本発明のさらに別の側面によれば、以下のものを含む単離されたポリヌクレオチド、または以下のものからなる単離されたポリヌクレオチドが提供される。

（ａ）配列番号１３の全長にわたって配列番号１３と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、それ以上に好ましくは少なくとも９７～９９％が一致または完全に一致したポリヌクレオチド配列、または

（ｂ）配列番号１４の全長にわたって配列番号１４と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、それ以上に好ましくは少なくとも９７～９９％が一致または１００％正確に一致したポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列。

【０１９４】

本発明のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドは、ナイセリア・メニンギティディス以外の種からのホモログやオーソログも含め、配列番号１３の配列またはその断片からなる標識したプローブまたは検出可能なプローブ、あるいはこれらの配列またはその断片を含む標識したプローブまたは検出可能なプローブを用いてストリンジェント・ハイブリ

ダイゼーション条件（例えば、温度が４５～６５℃、ＳＤＳの濃度が０．１～１％）のもとで適切なライブラリーをスクリーニングし、完全長遺伝子および／またはそのポリヌクレオチド配列を含むゲノム・クローンを単離するステップを含む方法によって得ることができる。

【０１９５】

本発明により、配列番号１３の中のコード配列（オープン・リーディング・フレーム）と全長にわたって一致するポリヌクレオチド配列が提供される。さらに本発明により、成熟ポリペプチドのためのコード配列またはその断片のほか、成熟ポリペプチドのためのコード配列またはリーディング・フレーム中にあって別のコード配列を有する断片が提供される。別のコード配列とは、例えば、リーダー配列または分泌配列、プレタンパク質配列、プロタンパク質配列、プレプロタンパク質配列をコードする配列である。本発明のポリヌクレオチドは、少なくとも１つの非コード配列も含んでいてよい。例示するならば、少なくとも１つの非コード５’配列や３’配列、例えば転写はされるが翻訳はされない配列や、終結シグナル（ρ依存性終結シグナルやρ非依存性終結シグナルなど）、リボソーム結合部位、コザック配列、ｍＲＮＡを安定化させる配列、イントロン、ポリアデニル化シグナルなどが挙げられるが、これだけに限定されるわけではない。ポリヌクレオチド配列は、付加アミノ酸をコードする付加コード配列も含んでいてよい。例えば、融合したポリペプチドの精製を容易にするマーカー配列をコードすることができる。本発明のいくつかの実施態様では、マーカー配列は、ｐＱＥベクター（キアジェン社）の中に与えられるヘキサヒスチジン・ペプチド（ゲンツ他、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、第８６巻、８２１～８２４ページ、１９８９年）、またはＨＡペプチド・タグ（ウイルソン他、Ｃｅｌｌ、第３７巻、７６７ページ、１９８４年）である。そのどちらも、融合することになるポリペプチド配列を精製するのに役立てることができる。本発明のポリヌクレオチドは、構造遺伝子と、それにもともと付随していて遺伝子の発現を制御する配列とを有するポリヌクレオチドも含んでいる。ただし、本発明のポリヌクレオチドに含まれているのがそれだけとは限らない。

【０１９６】

配列番号１４のＢＡＳＢ０６６ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列は、それぞれ配列番号１３のヌクレオチド番号１～１１７３に含まれるポリペプチド・コード配列と同じであってよい。あるいは、遺伝暗号の冗長性（縮重）の結果として、配列番号１４のポリペプチドをコードする配列であってもよい。

【０１９７】

“ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド”という表現は、この明細書では、本発明のポリペプチド、特に細菌のポリペプチド、さらに特定するならば、配列番号１４で与えられるアミノ酸配列を有するナイセリア・メニンギティディスのＢＡＳＢ０６６ポリペプチドをコードする配列を含むポリヌクレオチドのことを意味する。この表現は、ポリペプチドをコードする単一の連続領域または不連続領域（例えば、組み込まれたファージ、組み込まれた挿入配列、組み込まれたベクター配列、組み込まれたトランスポゾン配列によって中断されたポリヌクレオチド、またはＲＮＡの編集、ゲノムＤＮＡの再構成のために中断されたポリヌクレオチド）に加え、やはりコード配列および／または非コード配列を含んでいる可能性のある付加領域を含むポリヌクレオチドのことも意味する。

【０１９８】

本発明はさらに、配列番号１４の推定アミノ酸配列を有するポリペプチドの変異体をコードする、この明細書に記載したポリヌクレオチドの変異体にも関する。本発明のポリヌクレオチドの断片は、例えば、本発明の完全長ポリヌクレオチドを合成するのに用いることができる。

【０１９９】

さらに、特に好ましい実施態様によれば、配列番号１４で与えられるＢＡＳＢ０６６ポリペプチドのアミノ酸配列のうち、いくつかのアミノ酸残基、例えば５～１０個、１～５個、１～３個、２個、１個、０個のアミノ酸残基が置換、変更、欠失、および／または、付

加された状態が任意に組み合わされたＢＡＳＢ０６６変異体をコードするポリヌクレオチドが提供される。その中でも特に好ましいのは、ＢＡＳＢ０６６ポリペプチドの特性および活性を変化させないサイレントな置換、付加、欠失である。

【０２００】

さらに、本発明の好ましい実施態様によれば、全長にわたって少なくとも８５％が、配列番号１４で与えられるアミノ酸配列を有するＢＡＳＢ０６６ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドと一致するポリヌクレオチドと、そのポリヌクレオチドと相補的なポリヌクレオチドが提供される。この点に関し、全長にわたって少なくとも９０％が一致するポリヌクレオチドが特に好ましく、そうした特に好ましいポリヌクレオチドの中でも、少なくとも９５％が一致するポリヌクレオチドが特に好ましい。さらに、少なくとも９５％が一致するポリヌクレオチドの中でも少なくとも９７％が一致するポリヌクレオチドがさらに好ましく、その中でも少なくとも９８％一致するもの、少なくとも９９％一致するものがそれ以上に好ましく、少なくとも９９％一致するものがより一層好ましい。

【０２０１】

好ましい実施態様によれば、配列番号１３のＤＮＡによってコードされる成熟ポリペプチドと実質的に同じ生物学的な機能または活性を保持しているポリペプチドをコードするポリヌクレオチドが提供される。

【０２０２】

本発明の好ましいいくつかの実施態様によれば、ＢＡＳＢ０６６ポリヌクレオチド配列、例えば配列番号１３のポリヌクレオチドと特にストリンジェント条件下においてハイブリダイズするポリヌクレオチドが提供される。

【０２０３】

本発明はさらに、この明細書に記載したポリヌクレオチド配列とハイブリダイズするポリヌクレオチドに関する。この点に関し、本発明は、特に、この明細書に記載したポリヌクレオチドと厳しい条件下においてハイブリダイズするポリヌクレオチドに関する。この明細書で用いる“厳しい（ｓｔｒｉｎｇｅｎｔ）条件”、“厳しいハイブリダイゼーション条件”という表現は、配列間で少なくとも９５％、好ましくは少なくとも９７％が一致した場合にのみ起こるハイブリダイゼーションのことを意味する。厳しいハイブリダイゼーション条件の具体例は、５０％ホルムアミド、５×ＳＳＣ（１５０ｍＭのＮａＣｌ、１５ｍＭのクエン酸三ナトリウム）、５０ｍＭのリン酸ナトリウム（ｐＨ７．６）、５×デンハルト溶液、１０％硫酸デキストラン、２０μｇ／ｍｌの変性、切断したサケ精子ＤＮＡを含む溶液中で４２℃にて一晩培養し、次に、ハイブリダイゼーション用支持体を約６５℃にて０．１×ＳＳＣの中で洗浄するというものである。ハイブリダイゼーションと洗浄の条件は周知であり、例えばサムブルック他、『分子クローニング：実験室マニュアル』第２版（コールド・スプリング・ハーバー・ラボラトリー・プレス、コールド・スプリング・ハーバー、ニューヨーク州、１９８９年）の特に第１１章に記載されている。本発明のポリヌクレオチド配列には溶液ハイブリダイゼーションを行なうこともできる。

【０２０４】

本発明によればさらに、配列番号１３で与えられるポリヌクレオチド配列にとって完全な遺伝子を含む適切なライブラリーを、配列番号１３で与えられるこのポリヌクレオチド配列またはその断片を有するプローブを用いて厳しいハイブリダイゼーション条件のもとでスクリーニングし、そのポリヌクレオチド配列を単離することにより得られるポリヌクレオチド配列からなるポリヌクレオチド、またはそうしたポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドが提供される。そのようなポリヌクレオチドを得るのに役立つ断片としては、例えば、この明細書の別の箇所に詳しく説明したプローブやプライマーが挙げられる。

【０２０５】

本発明のポリヌクレオチド・アッセイに関してはこの明細書の別の箇所に説明してあるが、例えば本発明のポリヌクレオチドをＲＮＡ、ｃＤＮＡ、ゲノムＤＮＡのハイブリダイゼーション用プローブとして用い、ＢＡＳＢ０６６をコードする完全長ｃＤＮＡやゲノム・クローンを単離したり、ＢＡＳＢ０６６遺伝子との一致度が高い他の遺伝子、特に配列の

一致度が高いｃＤＮＡやゲノム・クローンを単離したりすることができる。このプローブは、一般に、少なくとも１５のヌクレオチド残基または塩基対を含んでいることになろう。このプローブは、少なくとも３０のヌクレオチド残基または塩基対を含んでいることが好ましく、少なくとも５０のヌクレオチド残基または塩基対を含んでいてもよい。特に好ましいプローブは、２０以上かつ３０未満のヌクレオチド残基または塩基対を含むことになろう。

【０２０６】

ＢＡＳＢ０６６遺伝子のコード領域は、配列番号１３で与えられるＤＮＡ配列を用いてオリゴヌクレオチド・プローブを合成し、このプローブを用いてスクリーニングを行なうことによって単離できる。そこで、本発明の遺伝子と相補的な配列を有する標識したオリゴヌクレオチドを用いてｃＤＮＡ、ゲノムＤＮＡ、またはｍＲＮＡのライブラリーをスクリーニングし、ライブラリーのどのメンバーにプローブがハイブリダイズするかを確認する。

【０２０７】

本発明の１つの目的は、ＢＡＳＢ０７１ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、特にこの明細書でＢＡＳＢ０７１と表記するポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供することである。

【０２０８】

本発明の特に好ましい実施態様では、このポリヌクレオチドは、完全長の遺伝子を含んでいて配列番号１５で与えられる配列を有するＢＡＳＢ０７１ポリペプチドをコードする領域、またはその変異体をコードする領域を含んでいる。

【０２０９】

配列番号１５で与えられるＢＡＳＢ０７１ポリヌクレオチドは、ナイセリア・メニンギティディス菌株ＡＴＣＣ１３０９０に由来するＢＡＳＢ０７１ポリヌクレオチドである。

【０２１０】

本発明のさらに別の側面によれば、ＢＡＳＢ０７１ポリペプチドとポリヌクレオチド、特にナイセリア・メニンギティディスのＢＡＳＢ０７１ポリペプチドとポリヌクレオチドをコードおよび／または発現する、単離された核酸分子が提供される。そのような核酸分子としては、例えば、未処理のＲＮＡ、リボザイムＲＮＡ、ｍＲＮＡ、ｃＤＮＡ、ゲノムＤＮＡ、Ｂ－ＤＮＡ、Ｚ－ＤＮＡが挙げられる。本発明のさらに別の実施態様として、生物学的、診断上、予防上、臨床上、または治療上有効なポリヌクレオチドとポリペプチド、これらの変異体、これらを含む組成物がある。

【０２１１】

本発明の別の側面は、配列番号１６の推定アミノ酸配列を有するＢＡＳＢ０７１ポリペプチドをコードしており、少なくとも１つの完全長遺伝子を含む単離されたポリヌクレオチドと、このポリヌクレオチドと密接に関係したポリヌクレオチドと、これらの変異体に関する。

【０２１２】

本発明の特に好ましい実施態様では、ナイセリア・メニンギティディスに由来し、配列番号１６のアミノ酸配列を含み、またはそのアミノ酸配列からなるＢＡＳＢ０７１ポリペプチド、またはその変異体が提供される。

【０２１３】

配列番号１５で与えられるポリヌクレオチド配列など、この明細書の情報を用いると、標準的なクローニング法およびスクリーニング法を利用し、次に完全長のクローンを得ることによって、ＢＡＳＢ０７１ポリペプチドをコードする本発明のポリヌクレオチドを得ることができる。なお標準的なクローニング法およびスクリーニング法としては、出発材料としてナイセリア・メニンギティディス細胞を用いて細菌から染色体ＤＮＡのクローニングとシークエンシングを行なう方法がある。例えば配列番号１５で与えられるポリヌクレオチド配列などの本発明のポリヌクレオチド配列を得るためには、大腸菌またはそれ以外の適切な宿主の中で、ナイセリア・メニンギティディスの染色体ＤＮＡのクローンのライ

ブラリーを、部分配列から由来し、好ましくは１７マーまたはそれよりも長い放射線標識したオリゴヌクレオチドでプローブするのが一般的である。次に、ストリンジェント・ハイブリダイゼーションを用いてプローブのＤＮＡと同じＤＮＡを有するクローンを識別することができる。もとのポリペプチド配列またはポリヌクレオチド配列から設計したシークエンシング用プライマーを用いたハイブリダイゼーションを通じてこのように同定された個々のクローンをシークエンシングすることにより、ポリヌクレオチド配列を両方の方向に伸長させ、完全長遺伝子の配列を決定することができる。都合のよいことに、このようなシークエンシングは、例えばプラスミド・クローンから調製した変性した二本鎖ＤＮＡを用いて実施することができる。適切な方法は、マニアティス，Ｔ、フリッチ，Ｅ．Ｆ．、サムブルック他、『分子クローニング：実験室マニュアル』第２版（コールド・スプリング・ハーバー・ラボラトリー・プレス、コールド・スプリング・ハーバー、ニューヨーク州、１９８９年）に記載されている（特に「ハイブリダイゼーションによるスクリーニング」１．９０と、「変性した二本鎖ＤＮＡ鋳型のシークエンシング」１３．７０を参照のこと）。直接的にゲノムＤＮＡのシークエンシングを行なって完全長遺伝子の配列を得ることもできる。本発明の証拠として、配列番号１５で与えられる各ポリヌクレオチドは、ナイセリア・メニンギティディスに由来するＤＮＡライブラリーの中で発見された。

【０２１４】

さらに、配列番号１５で与えられる各ＤＮＡ配列は、配列番号１６で与えられるアミノ酸残基とほぼ同数のアミノ酸残基を有するタンパク質をコードするオープン・リーディング・フレームを含んでいる。このタンパク質の推定分子量は、当業者には周知のアミノ酸残基の分子量の値を用いて計算することができる。

【０２１５】

配列番号１５のポリヌクレオチドは、配列番号１５のヌクレオチド番号１の開始コドンとヌクレオチド番号８０５から始まる終止コドンの間で、配列番号２のポリペプチドをコードしている。

【０２１６】

本発明のさらに別の側面によれば、以下のものを含む単離されたポリヌクレオチド、または以下のものからなる単離されたポリヌクレオチドが提供される。

（ａ）配列番号１５の全長にわたって配列番号１５と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、それ以上に好ましくは少なくとも９７～９９％が一致または完全に一致したポリヌクレオチド配列、または

（ｂ）配列番号１６の全長にわたって配列番号１６と少なくとも８５％が一致、好ましくは少なくとも９０％が一致、さらに好ましくは少なくとも９５％が一致、それ以上に好ましくは少なくとも９７～９９％が一致または１００％正確に一致したポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列。

【０２１７】

本発明のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドは、ナイセリア・メニンギティディス以外の種からのホモログやオーソログも含め、配列番号１５の配列またはその断片からなる標識したプローブまたは検出可能なプローブ、あるいはこれらの配列またはその断片を含む標識したプローブまたは検出可能なプローブを用いてストリンジェント・ハイブリダイゼーション条件（例えば、温度が４５～６５℃、ＳＤＳの濃度が０．１～１％）のもとで適切なライブラリーをスクリーニングし、完全長遺伝子および／またはそのポリヌクレオチド配列を含むゲノム・クローンを単離するステップを含む方法によって得ることができる。

【０２１８】

本発明により、配列番号１５の中のコード配列（オープン・リーディング・フレーム）と全長にわたって一致するポリヌクレオチド配列が提供される。さらに本発明により、成熟ポリペプチドのためのコード配列またはその断片のほか、成熟ポリペプチドのためのコー

ド配列またはリーディング・フレーム中にあって別のコード配列を有する断片が提供される。別のコード配列とは、例えば、リーダー配列または分泌配列、プレタンパク質配列、プロタンパク質配列、プレプロタンパク質配列をコードする配列である。本発明のポリヌクレオチドは、少なくとも１つの非コード配列も含んでいてよい。例示するならば、少なくとも１つの非コード５’配列や３’配列、例えば転写はされるが翻訳はされない配列や、終結シグナル（ρ依存性終結シグナルやρ非依存性終結シグナルなど）、リボソーム結合部位、コザック配列、ｍＲＮＡを安定化させる配列、イントロン、ポリアデニル化シグナルなどが挙げられるが、これだけに限定されるわけではない。ポリヌクレオチド配列は、付加アミノ酸をコードする付加コード配列も含んでいてよい。例えば、融合したポリペプチドの精製を容易にするマーカー配列をコードすることができる。本発明のいくつかの実施態様では、マーカー配列は、ｐＱＥベクター（キアジェン社）の中に与えられるヘキサヒスチジン・ペプチド（ゲンツ他、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、第８６巻、８２１～８２４ページ、１９８９年）、またはＨＡペプチド・タグ（ウイルソン他、Ｃｅｌｌ、第３７巻、７６７ページ、１９８４年）である。そのどちらも、融合することになるポリペプチド配列を精製するのに役立てることができる。本発明のポリヌクレオチドは、構造遺伝子と、それにもともと付随していて遺伝子の発現を制御する配列とを有するポリヌクレオチドも含んでいる。ただし、本発明のポリヌクレオチドに含まれているのがそれだけとは限らない。

【０２１９】

配列番号１６のＢＡＳＢ０７１ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列は、それぞれ配列番号１５のヌクレオチド番号１～８０４に含まれるポリペプチド・コード配列と同じであってよい。あるいは、遺伝暗号の冗長性（縮重）の結果として、配列番号１６のポリペプチドをコードする配列であってもよい。

【０２２０】

“ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド”という表現は、この明細書では、本発明のポリペプチド、特に細菌のポリペプチド、さらに特定するならば、配列番号１６で与えられるアミノ酸配列を有するナイセリア・メニンギティディスのＢＡＳＢ０７１ポリペプチドをコードする配列を含むポリヌクレオチドのことを意味する。この表現は、ポリペプチドをコードする単一の連続領域または不連続領域（例えば、組み込まれたファージ、組み込まれた挿入配列、組み込まれたベクター配列、組み込まれたトランスポゾン配列によって中断されたポリヌクレオチド、またはＲＮＡの編集、ゲノムＤＮＡの再構成のために中断されたポリヌクレオチド）に加え、やはりコード配列および／または非コード配列を含んでいる可能性のある付加領域を含むポリヌクレオチドのことも意味する。

【０２２１】

本発明はさらに、配列番号１６の推定アミノ酸配列を有するポリペプチドの変異体をコードする、この明細書に記載したポリヌクレオチドの変異体にも関する。本発明のポリヌクレオチドの断片は、例えば、本発明の完全長ポリヌクレオチドを合成するのに用いることができる。

【０２２２】

さらに、特に好ましい実施態様によれば、配列番号１６で与えられるＢＡＳＢ０７１ポリペプチドのアミノ酸配列のうち、いくつかのアミノ酸残基、例えば５～１０個、１～５個、１～３個、２個、１個、０個のアミノ酸残基が置換、変更、欠失、および／または、付加された状態が任意に組み合わされたＢＡＳＢ０７１変異体をコードするポリヌクレオチドが提供される。その中でも特に好ましいのは、ＢＡＳＢ０７１ポリペプチドの特性および活性を変化させないサイレントな置換、付加、欠失である。

【０２２３】

さらに、本発明の好ましい実施態様によれば、全長にわたって少なくとも８５％が、配列番号１６で与えられるアミノ酸配列を有するＢＡＳＢ０７１ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドと一致するポリヌクレオチドと、そのポリヌクレオチドと相補的なポリヌクレオチドが提供される。この点に関し、全長にわたって少なくとも９０％が一致するポ

リヌクレオチドが特に好ましく、そうした特に好ましいポリヌクレオチドの中でも、少なくとも９５％が一致するポリヌクレオチドが特に好ましい。さらに、少なくとも９５％が一致するポリヌクレオチドの中でも少なくとも９７％が一致するポリヌクレオチドがさらに好ましく、その中でも少なくとも９８％一致するもの、少なくとも９９％一致するものがそれ以上に好ましく、少なくとも９９％一致するものがより一層好ましい。

【０２２４】

好ましい実施態様によれば、配列番号１５のＤＮＡによってコードされる成熟ポリペプチドと実質的に同じ生物学的な機能または活性を保持しているポリペプチドをコードするポリヌクレオチドが提供される。

【０２２５】

本発明の好ましいいくつかの実施態様によれば、ＢＡＳＢ０７１ポリヌクレオチド配列、例えば配列番号１５のポリヌクレオチドと特にストリンジェント条件下においてハイブリダイズするポリヌクレオチドが提供される。

【０２２６】

本発明はさらに、この明細書に記載したポリヌクレオチド配列とハイブリダイズするポリヌクレオチドに関する。この点に関し、本発明は、特に、この明細書に記載したポリヌクレオチドと厳しい条件下においてハイブリダイズするポリヌクレオチドに関する。この明細書で用いる“厳しい（ｓｔｒｉｎｇｅｎｔ）条件”、“厳しいハイブリダイゼーション条件”という表現は、配列間で少なくとも９５％、好ましくは少なくとも９７％が一致した場合にのみ起こるハイブリダイゼーションのことを意味する。厳しいハイブリダイゼーション条件の具体例は、５０％ホルムアミド、５×ＳＳＣ（１５０ｍＭのＮａＣｌ、１５ｍＭのクエン酸三ナトリウム）、５０ｍＭのリン酸ナトリウム（ｐＨ７．６）、５×デンハルト溶液、１０％硫酸デキストラン、２０μｇ／ｍｌの変性、切断したサケ精子ＤＮＡを含む溶液中で４２℃にて一晩培養し、次に、ハイブリダイゼーション用支持体を約６５℃にて０．１×ＳＳＣの中で洗浄するというものである。ハイブリダイゼーションと洗浄の条件は周知であり、例えばサムブルック他、『分子クローニング：実験室マニュアル』第２版（コールド・スプリング・ハーバー・ラボラトリー・プレス、コールド・スプリング・ハーバー、ニューヨーク州、１９８９年）の特に第１１章に記載されている。本発明のポリヌクレオチド配列には溶液ハイブリダイゼーションを行なうこともできる。

【０２２７】

本発明によればさらに、配列番号１５で与えられるポリヌクレオチド配列にとって完全な遺伝子を含む適切なライブラリーを、配列番号１５で与えられるこのポリヌクレオチド配列またはその断片を有するプローブを用いて厳しいハイブリダイゼーション条件のもとでスクリーニングし、そのポリヌクレオチド配列を単離することにより得られるポリヌクレオチド配列からなるポリヌクレオチド、またはそうしたポリヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドが提供される。そのようなポリヌクレオチドを得るのに役立つ断片としては、例えば、この明細書の別の箇所に詳しく説明したプローブやプライマーが挙げられる。

【０２２８】

本発明のポリヌクレオチド・アッセイに関してはこの明細書の別の箇所に説明してあるが、例えば本発明のポリヌクレオチドをＲＮＡ、ｃＤＮＡ、ゲノムＤＮＡのハイブリダイゼーション用プローブとして用い、ＢＡＳＢ０７１をコードする完全長ｃＤＮＡやゲノム・クローンを単離したり、ＢＡＳＢ０７１遺伝子との一致度が高い他の遺伝子、特に配列の一致度が高いｃＤＮＡやゲノム・クローンを単離したりすることができる。このプローブは、一般に、少なくとも１５のヌクレオチド残基または塩基対を含んでいることになろう。このプローブは、少なくとも３０のヌクレオチド残基または塩基対を含んでいることが好ましく、少なくとも５０のヌクレオチド残基または塩基対を含んでいてもよい。特に好ましいプローブは、２０以上かつ３０未満のヌクレオチド残基または塩基対を含むことになろう。

【０２２９】

ＢＡＳＢ０７１遺伝子のコード領域は、配列番号１５で与えられるＤＮＡ配列を用いてオ

リゴヌクレオチド・プローブを合成し、このプローブを用いてスクリーニングを行なうことによって単離できる。そこで、本発明の遺伝子と相補的な配列を有する標識したオリゴヌクレオチドを用いてｃＤＮＡ、ゲノムＤＮＡ、またはｍＲＮＡのライブラリーをスクリーニングし、ライブラリーのどのメンバーにプローブがハイブリダイズするかを確認する。

【０２３０】

完全長ＤＮＡを得るため、または短いＤＮＡを伸長させるためには、当業者が利用している周知の方法がいくつかある。例えば、ｃＤＮＡ末端高速増幅（ＲＡＣＥ）法に基づいた方法である（例えば、フローマン他、ＰＮＡＳ ＵＳＡ、第８５巻、８９９８～９００２ページ、１９８８年を参照のこと）。最近この技術が改良されて例えばＭａｒａｔｈｏｎ（登録商標）法（クロンテック・ラボラトリーズ社）となり、従来よりも長いｃＤＮＡの探索が非常に簡単になった。このＭａｒａｔｈｏｎ（登録商標）法では、ｃＤＮＡは選択した組織から抽出したｍＲＮＡから調製され、“アダプター”配列が各末端部に連結される。次に、遺伝子特異的なオリゴヌクレオチド・プライマーとアダプター特異的なオリゴヌクレオチド・プライマーを組み合わせて核酸の増幅（ＰＣＲ）を行ない、ＤＮＡの“欠けている”５’末端を増幅する。次に、“入れ子になった”プライマー、すなわち増幅された産物の中でアニールするよう設計されたプライマー（代表例は、アダプター配列において３’末端をさらにアニールするアダプター特異的なプライマーや、選択した遺伝子配列において５’末端をさらにアニールする遺伝子特異的なプライマー）を用いてＰＣＲ反応を繰り返す。次に、この反応の産物をＤＮＡシークエンシングにより解析し、存在しているＤＮＡに直接この産物を結合させることによって、あるいは５’プライマーを設計するための新しい配列情報を用いて独立した完全長ＰＣＲを行なうことによって完全長ＤＮＡを構成し、完全な配列を得ることができる。

【０２３１】

本発明のポリヌクレオチドとポリペプチドは、例えば、疾患、中でもヒトの疾患の治療法や診断法を発見するための研究試薬、研究材料として使用することができる。これについてはこの明細書においてポリヌクレオチド・アッセイとの関連で詳しく説明する。

【０２３２】

本発明のポリヌクレオチドは、配列番号１～１６の配列から導かれたオリゴヌクレオチドである。これらポリヌクレオチドは、この明細書に記載した方法、好ましくはＰＣＲにおいて利用して、ここで同定したポリヌクレオチドの全体または一部が、感染した組織内の細菌の中で転写されるかどうかを確かめるのに用いることができる。このような配列は、病原体の感染段階や感染タイプの診断にも利用できると考えられている。

【０２３３】

本発明により、成熟タンパク質に対してアミノ末端またはカルボキシル末端にアミノ酸が付加されたポリペプチド、または成熟ポリペプチド内のアミノ酸からなるポリペプチド（成熟した形態が例えばポリペプチド鎖を２本以上持っている場合）をコードするポリヌクレオチドも提供される。このような配列はいろいろな機能を有するが、中でも、タンパク質を前駆体から成熟した形態へと処理する際にある役割を演じていたり、タンパク質の輸送を可能にしたり、タンパク質の半減期を長くしたり短くしたり、アッセイまたは産生のためにタンパク質の取り扱いを容易にしたりできる可能性がある。生体内では一般的なことだが、付加されたアミノ酸は細胞の酵素によって成熟タンパク質から除去される可能性がある。

【０２３４】

本発明のあらゆるポリヌクレオチドのそれぞれについて、相補的なポリヌクレオチドが提供される。これら相補的なポリヌクレオチドは、対象となる各ポリヌクレオチドに対して完全に相補的であることが好ましい。

【０２３５】

前駆体タンパク質は、成熟タンパク質に１つまたはそれ以上のプロ配列が融合した形態であるため、不活性になっている可能性がある。プロ配列を除去すると、そうした不活性な

前駆体は一般に活性化される。プロ配列のいくつかまたはすべてを除去すると活性化させることができる。一般に、このような前駆体をプロタンパク質と呼ぶ。

【０２３６】

本発明のいくつかのポリヌクレオチドを記述するにあたって、ヌクレオチドに対する標準的な表記であるＡ、Ｇ、Ｃ、Ｔ／Ｕに加え、“Ｎ”という表記も用いることができる。“Ｎ”は、ＤＮＡまたはＲＮＡの４つのヌクレオチドのうちの任意のものがＤＮＡ配列またはＲＮＡ配列の中の指定された位置に現われてよいことを意味している。ただし、正しいリーディング・フレームで隣接したヌクレオチドの位置と組み合わせて読んだ場合に、Ｎがそのリーディング・フレーム内で早すぎる終止コドンを発生させる効果を持つような核酸ではないことが好ましい場合は除く。

【０２３７】

要するに、本発明のポリヌクレオチドがコードできるのは、成熟タンパク質、成熟タンパク質＋リーダー配列（これをプレタンパク質と呼ぶことができよう）、プレタンパク質のリーダー配列ではないプロ配列を１つまたはそれ以上有する成熟タンパク質前駆体、またはプレプロタンパク質である。プレプロタンパク質というのはプロタンパク質の前駆体であり、リーダー配列と１つまたはそれ以上のプロ配列を含んでいる。プロ配列は、一般に、活性がある成熟した形態のポリペプチドを生み出すための処理ステップにおいて除去される。

【０２３８】

本発明の１つの側面によれば、本発明のポリヌクレオチドを疾病の治療または予防、特に遺伝子免疫法に利用する方法が提供される。

【０２３９】

本発明のポリヌクレオチドを遺伝子免疫法に利用する際には、適切なデリバリー方法を用いることが好ましかろう。例えば、プラスミドＤＮＡを筋肉に直接注射する方法（ウォルフ他、Ｈｕｍ．Ｍｏｌ．Ｇｅｎｅｔ．、第１巻、３６３ページ、１９９２年；マンソープ他、Ｈｕｍ．Ｇｅｎｅ．Ｔｈｅｒ．、第４巻、４１９ページ、１９８３年）、特定のタンパク質担体と複合体を形成したＤＮＡのデリバリー（ウー他、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．、第２６４巻、１６９８５ページ、１９８９年）、ＤＮＡ－リン酸カルシウム沈殿法（ベンヴェニスティとリシェフ、ＰＮＡＳ ＵＳＡ、第８３巻、９５５１ページ、１９８６年）、さまざまな形態のリポソーム内にＤＮＡを包み込む方法（カネダ他、Ｓｃｉｅｎｃｅ、第２４３巻、３７５ページ、１９８９年）、粒子衝撃（タン他、Ｎａｔｕｒｅ、第３５６巻、１５２ページ、１９９２年；アイゼンブラウン他、ＤＮＡ Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌ．、第１２巻、７９１ページ、１９９３年）、クローニングしたレトロウイルス・ベクターを用いたインビボ感染（シーガー他、ＰＮＡＳ ＵＳＡ、第８１巻、５８４９ページ、１９８４年）といった方法がある。

ベクター、宿主細胞、発現系

本発明は、本発明の１つまたは複数のポリヌクレオチドを含むベクターと、本発明のベクターを用いて遺伝子改変した宿主細胞と、組み換え技術による本発明のポリペプチドの産生とに関する。本発明のＤＮＡ構造体に由来するＲＮＡを用いてそのようなタンパク質を産生させるには、細胞フリーな翻訳系も用いることができる。

【０２４０】

本発明の組み換えポリペプチドは、発現系を含む遺伝子改変した宿主細胞をもとにして当業者に周知の方法で調製することができる。したがって、さらに別の側面として、本発明は、本発明の１つまたは複数のポリヌクレオチドを含む発現系と、その発現系を用いて遺伝子改変した宿主細胞と、組み換え技術による本発明のポリペプチドの産生とに関する。

【０２４１】

本発明のポリペプチドを遺伝子組み換えにより産生させるには、遺伝子工学により宿主細胞に発現系またはその一部、あるいは本発明のポリヌクレオチドを組み込む。ポリヌクレオチドを宿主細胞に導入するには、標準的な実験の手引書に記載されている方法を用いる。実験の手引書としては、例えば、デイヴィス他、『分子生物学における基本的な方法』

（１９８６年）、サムブルック他、『分子クローニング：実験室マニュアル』第２版（コールド・スプリング・ハーバー・ラボラトリー・プレス、コールド・スプリング・ハーバー、ニューヨーク州、１９８９年）がある。方法としては、例えば、リン酸カルシウム・トランスフェクション、ＤＥＡＥ－デキストランを媒介としたトランスフェクション、トランスベクション、微量注入、陽イオン性脂質を媒介としたトランスフェクション、電気穿孔、形質導入、スクレープ・ローディング、バリスティック導入、感染がある。

【０２４２】

適切な宿主細胞の代表例としては、細菌細胞である連鎖球菌（ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｉ）、ブドウ球菌（ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｉ）、腸球菌（ｅｎｔｅｒｏｃｏｃｃｉ）、大腸菌（Ｅ．Ｃｏｌｉ）、放線菌（ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ）、シアノバクテリア、枯草菌（Ｂａｃｉｌｌｕｓ ｓｕｂｔｉｌｉｓ）、モラクセラ・カタラーリス（Ｍｏｒａｘｅｌｌａ ｃａｔａｒｒｈａｌｉｓ）、インフルエンザ菌（Ｈａｅｍｏｐｈｉｌｕｓ ｉｎｆｌｕｅｎｚａｅ）、髄膜炎菌（Ｎｅｉｓｓｅｒｉａ ｍｅｎｉｎｇｉｔｉｄｉｓ）の細胞；菌類の細胞である酵母、クルイヴェロミセス（Ｋｌｕｙｖｅｒｏｍｙｃｅｓ）、サッカロミセス、担子菌（ｂａｓｉｄｌｏｍｙｃｅｔｅ）、カンジダ・アルビカンス（Ｃａｎｄｉｄａ ａｌｂｉｃａｎｓ）、コウジカビ（Ａｓｐｅｒｇｉｌｌｕｓ）の細胞；昆虫の細胞であるショウジョウバエ（Ｄｒｏｓｏｐｈｉｌａ）Ｓ２、スポドプテラ（Ｓｐｏｄｏｐｔｅｒａ）Ｓｆ９の細胞；動物の細胞であるＣＨＯ、ＣＯＳ、ＨｅＬａ、Ｃ１２７、３Ｔ３、ＢＨＫ、２９３、ＣＶ－１、バウエス（Ｂｏｗｅｓ）黒腫の細胞；植物の細胞である裸子植物、被子植物の細胞が挙げられる。

【０２４３】

本発明のポリペプチドを産生させるのに多彩な発現系を用いることができる。そのようなベクターとしては、特に、染色体由来のベクター、エピソーム由来のベクター、ウイルス由来のベクターが挙げられる。具体的には、細菌プラスミド由来のベクター、バクテリオファージ由来のベクター、トランスポゾン由来のベクター、酵母エピソーム由来のベクター、挿入要素由来のベクター、酵母染色体要素由来のベクターや、バキュロウイルス、ＳＶ４０などのパポーバウイルス、ワクシニアウイルス、アデノウイルス、鶏痘ウイルス、仮性狂犬病ウイルス、ピコルナウイルス、レトロウイルス、アルファウイルスなどのウイルスに由来するベクターのほか、これらの組み合わせに由来するベクター、例えばプラスミドとバクテリオファージの遺伝子要素であるコスミドとファージミドの組み合わせに由来するベクターが挙げられる。発現系構造体は、発現の調節と発生を制御する領域を含んでいてよい。一般に、宿主内でポリヌクレオチドの維持、伝播、発現および／またはポリペプチドの発現をさせるのに適した任意の系またはベクターを用いて発現させることができる。周知のさまざまな一般的な方法のうちの任意の方法を用いて適切なＤＮＡ配列を発現系に挿入することができる。そうした方法は、例えば、サムブルック他、『分子クローニング：実験室マニュアル』（前掲）に記載されている。

【０２４４】

真核生物における組み換え発現系においては、翻訳されたタンパク質を小胞体の内腔、細胞周辺腔、または細胞外環境に分泌させるため、適切な分泌シグナルが、発現されるポリペプチドに組み込まれている可能性がある。このシグナルは、ポリペプチドにとって内在性である可能性と、異種性シグナルである可能性とがある。

【０２４５】

本発明のポリペプチドは、周知の方法によって組み換え細胞培養物から回収し、精製することができる。周知の方法としては、例えば、硫酸アンモニウムまたはエタノールによる沈殿、酸抽出、陰イオンまたは陽イオン交換クロマトグラフィ、ホスホセルロース・クロマトグラフィ、疎水性相互作用クロマトグラフィ、アフィニティ・クロマトグラフィ、ヒドロキシルアパタイト・クロマトグラフィ、レクチン・クロマトグラフィが挙げられる。精製にはイオン金属アフィニティ・クロマトグラフィ（ＩＭＡＣ）を利用するのが最も好ましい。ポリペプチドが細胞内合成、単離、精製の間に変性した場合には、周知の方法を用いてタンパク質を再度折り畳み、活性な立体配座を再現することができる。

【０２４６】
発現系は、ウイルスや細菌などの生きた組み換え微生物であってもよい。対象とする遺伝子を生きた組み換えウイルスや細菌のゲノムに挿入することができる。この生きたベクターを接種して生体に感染させると、抗原が生体内で発現し、免疫応答が誘導されることになる。この目的で使用されるウイルスや細菌としては、例えば、ポックスウイルス（例えばワクシニア、禽痘、カナリア痘）、アルファウイルス（シンドビスウイルス、セムリキ森林ウイルス、ベネズエラ馬脳炎ウイルス）、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、ピコルナウイルス（ポリオウイルス、ライノウイルス）、ヘルペスウイルス（水痘帯状ヘルペスウイルスなど）、リステリア菌、サルモネラ菌、ナイセリア菌、ＢＣＧが挙げられる。これらのウイルスや細菌は毒性を持っている可能性があり、生ワクチンを得るためにさまざまな方法で毒性を弱めることができる。このような生ワクチンも本発明の一部である。

診断法、予後予測法、血清型分類法、突然変異検出法

本発明は、本発明のＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１というポリヌクレオチドとポリペプチドを診断用試薬として用いることにも関する。真核生物、特に哺乳類、その中でもヒトにおけるＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１ポリヌクレオチドおよび／またはポリペプチドを検出することにより、疾病の診断、疾病の段階分類、感染した生体の薬剤に対する反応を診断する方法が提供されることになる。真核生物、特に哺乳類、その中でもヒト、その中でもＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１という遺伝子またはタンパク質を含む生物に感染したヒト、またはその生物の感染が疑われるヒトは、周知のさまざまな方法ならびにこの明細書に記載した方法によって、核酸またはアミノ酸レベルで検出することが可能である。

【０２４７】
予後、診断、またはそれ以外の解析のためのポリペプチドとポリヌクレオチドは、感染が推定される個体および／または感染した個体の体内物質から得ることができる。他の任意の供給源、特にＤＮＡまたはＲＮＡに由来するポリヌクレオチドは、直接検出に用いること、あるいは解析を行なう前にＰＣＲまたはその他の任意の方法で酵素による増幅を行なうことができる。ＲＮＡ、特にｍＲＮＡや、ｃＤＮＡ、ゲノムＤＮＡも同様にして用いることができる。増幅を行なうことにより、個人に感染した生物またはその個人の体内に住み着いている生物の種や菌株のキャラクテリゼーションを、その生物から選択したポリヌクレオチドの血清型を分析することにより実現できる。増幅された産物を、関連した生物、好ましくは同じ属の異なる種、または同じ種の異なる株から選択した参照配列の血清型と比較した場合のサイズ変化により、欠失および挿入を検出することができる。点突然変異は、増幅したＤＮＡを、標識したＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１ポリヌクレオチド配列とハイブリダイズさせることにより同定できる。完全に一致した配列、またはかなりの割合が一致した配列は、ＤＮＡとＲＮＡのそれぞれについてＤＡアーゼまたはＲＮアーゼによる消化によって、あるいは溶解温度または再生キネティックスの差を検出することによって、不完全にしか一致していない複製、またはかなりの割合が一致していない複製と区別することができる。ポリヌクレオチド配列の差は、参照配列と比較した場合のゲル中におけるポリヌクレオチド断片の電気泳動における移動度の変化としても検出することができる。その場合に変性剤は用いても用いなくてもよい。ポリヌクレオチドの差は、ＤＮＡまたはＲＮＡを直接シークエンシングすることによっても検出することができる。例えば、マイヤーズ他、Ｓｃｉｅｎｃｅ、第２３０巻、１２４２ページ、１９８５年を参照のこと。特定の位置における配列の変化は、ＲＮアーゼ、Ｖ１、Ｓ１保護アッセイなどのヌクレアーゼ保護アッセイや、化学的切断法によっても明らかにすることができる。例えば、コットン他、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ

、第８５巻、４３９７～４４０１ページ、１９８５年を参照のこと。
【０２４８】
別の実施態様では、ＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１ヌクレオチド配列またはその断片を含むオリゴヌクレオチド・プローブをアレイに構成して、例えば遺伝子突然変異、血清型、分類、同定のスクリーニングを効果的に行なうことができる。アレイ技術は周知で一般性があるため、遺伝子発現、遺伝子連鎖、遺伝子可変性などの分子遺伝学のさまざまな問題に適用することができる（例えば、チー他、Ｓｃｉｅｎｃｅ、第２７４巻、６１０ページ、１９９６年を参照のこと）。
【０２４９】
そこで別の側面として、本発明は、以下のものを含む診断キットに関する。
（ａ）本発明のポリヌクレオチド、好ましくは配列番号１、３、５、７、９、１１、１３、１５のヌクレオチド配列、またはその断片；
（ｂ）（ａ）の配列と相補的なヌクレオチド配列；
（ｃ）本発明のポリペプチド、好ましくは配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、１６のポリペプチド、またはその断片；
（ｄ）本発明のポリペプチドに対する抗体、好ましくは配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、１６のポリペプチドに対する抗体。
【０２５０】
このようなキット（ａ）、（ｂ）、（ｃ）、（ｄ）のいずれもが実質的な成分を含んでいることが理解されよう。このようなキットは、特に、疾病の診断または疾病に対する感受性の診断に用いられる。
【０２５１】
本発明は、診断用試薬としての本発明のポリヌクレオチドの利用法にも関する。本発明のポリヌクレオチド、好ましくは配列番号１、３、５、７、９、１１、１３、１５のポリヌクレオチドが突然変異して過少発現、過剰発現、または変化した発現を起こすと疾病や病原性と関係してくるので、そうした突然変異を検出することは診断の手段となり、疾病の診断、疾病の予後予測、疾病段階の決定、疾病に対する感受性の確認の参考にしたり、そうしたことを明確にしたりすることができる。このようなポリヌクレオチドに突然変異を起こした生物、特にそのような状態の感染生物は、さまざまな方法、例えばこの明細書の別の箇所に記載した方法によってポリヌクレオチド・レベルで検出することができる。
【０２５２】
本発明のポリヌクレオチドおよび／またはポリペプチドに突然変異または多型（対立遺伝子の変異）を有する生物からの細胞は、さまざまな方法によってポリヌクレオチドまたはポリペプチドのレベルで検出し、例えば血清型を決めることもできる。例えば、ＲＴ－ＰＣＲを利用してＲＮＡにおける突然変異を検出することができる。ＲＴ－ＰＣＲを自動化した検出システム、例えばジーンスキャンと組み合わせることが特に好ましい。ＲＮＡ、ｃＤＮＡ、ゲノムＤＮＡに対してもＰＣＲを行なうことができる。一例として、ＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドと相補的なＰＣＲプライマーを用いて突然変異を同定したり解析したりすることができる。
【０２５３】
本発明によれば、１、２、３または４個のヌクレオチドが５’末端および／または３’末端から除去されたプライマーがさらに提供される。このプライマーは、特に、個体に由来するサンプル、例えば体を構成している物質に由来するサンプルから単離したＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１のＤＮＡおよび／またはＲＮＡを増幅するのに用いることができる。感染した個体から単離したポリヌクレオチドをこのプライマーを用いて増幅すると、次にさまざまな方法によりそのポリヌクレオチドの配列を明らかにする

ことができる。このようにして、ポリヌクレオチド配列における突然変異を検出し、その突然変異をもとにして、感染状態またはその段階や進行状況の診断および／または予後予測、感染体の血清型決定および／または分類を行なうことができる。

【０２５４】

本発明によればさらに、疾病の診断、好ましくは細菌感染の診断、さらに好ましくはナイセリア・メニンギティディスによって起こる感染を診断する方法も提供される。この方法には、個体に由来するサンプル、例えば体を構成している物質に由来するサンプルから、配列番号１、３、５、７、９、１１、１３、１５の配列を有するポリヌクレオチドの発現レベルの上昇を測定する操作が含まれる。ＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１ポリヌクレオチドの発現の上昇または減少は、ポリヌクレオチドの定量法として当業者には周知の方法のうちの任意の方法を用いて測定することができる。そうした方法としては、例えば、増幅法、ＰＣＲ法、ＲＴ－ＰＣＲ法、ＲＮアーゼ保護法、ノーザン・ブロット法、分光法、その他のハイブリダイゼーション法がある。

【０２５５】

さらに、対照用の正常組織サンプルと比べることによってＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１ポリペプチドの過剰発現を検出するという本発明の診断法を利用し、例えば感染の存在を検出することができる。宿主に由来するサンプル、例えば体を構成している物質に由来するサンプル中のＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１ポリペプチドのレベルを測定するのに用いることができるアッセイ法は当業者には周知である。そうしたアッセイ法としては、放射線免疫検定法、競合結合アッセイ、ウエスタン・ブロット解析法、抗体サンドイッチ・アッセイ、抗体検出法、ＥＬＩＳＡ法などがある。

【０２５６】

本発明のポリヌクレオチドは、ポリヌクレオチド・アレイの成分、好ましくは高密度アレイまたはグリッドの成分として用いることができる。この高密度アレイは、診断および予後予測に特に有効である。例えば、それぞれが、異なる遺伝子に加えて本発明の１つまたは複数のポリヌクレオチドを含むスポットの集合を用い、体を構成している物質から得られた、またはそうした物質に由来するプローブを用い、ハイブリダイゼーションまたは核酸増幅などを利用してプロービングを行ない、個体の体内に特定のポリヌクレオチド配列または関連した配列が存在しているかどうかを決定することができる。そのようなものが存在しているということは、病原体、特にナイセリア・メニンギティディスが存在していることを示唆している可能性があり、疾病または疾病進行の診断および／または予後予測を明確にするのに役立つ可能性がある。配列番号１、３、５、７、９、１１、１３、１５のポリヌクレオチド配列の多数の変異体を含むグリッドが好ましい。配列番号２、４、６、８、１０、１２、１４、１６のポリペプチド配列をコードするポリヌクレオチド配列の多数の変異体を含むグリッドも好ましい。

抗体

本発明のポリペプチドとポリヌクレオチド、またはその変異体、またはそれを発現する細胞を免疫原として用い、そのようなポリペプチドまたはポリヌクレオチドに対して免疫特異的な抗体を産生させることができる。

【０２５７】

本発明の好ましいいくつかの実施態様によれば、ＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１ポリペプチドまたはポリヌクレオチドに対する抗体が提供される。

【０２５８】

本発明のポリペプチドまたはポリヌクレオチドに対する抗体は、本発明のポリペプチドおよび／またはポリヌクレオチド、あるいはエピトープを有するその一方または両方の断片

、あるいはその一方または両方のアナログ、あるいはその一方または両方を発現する細胞を、動物、好ましくはヒトでない動物に一般的なプロトコルに従って投与することにより得ることができる。モノクローナル抗体を調製するためには、連続的細胞系培養によって産生される抗体を提供する任意の従来法を用いることができる。さまざまな方法があり、例えば、ケーラー，Ｇ、ミルシュタイン，Ｃ．、Ｎａｔｕｒｅ、第２５６巻、４９５～４９７ページ、１９７５年；コズボー他、Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ Ｔｏｄａｙ、第４巻、７２ページ、１９８３年；コール他、『モノクローナル抗体とガン治療』（アラン Ｒ．リス社、１９８５年）の７７～９６ページが挙げられる。

【０２５９】

一本鎖の抗体の産生法（アメリカ合衆国特許第４，９４６，７７８号）を利用して本発明のポリペプチドまたはポリヌクレオチドに対する一本鎖の抗体を産生させることができる。また、トランスジェニック・マウス、またはそれ以外の生物や動物、例えば哺乳類を利用して、本発明のポリペプチドまたはポリヌクレオチドに対する免疫特異的なヒト化した抗体を発現させることができる。

【０２６０】

別の方法として、ファージ提示法を利用して、抗ＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１を処理するためにスクリーニングされたヒト由来リンパ球のＰＣＲ増幅されたｖ－遺伝子のレパートリーから、あるいは実験されたことのないライブラリーから、本発明のポリペプチドに対する結合活性を有する抗体遺伝子を選択することができる（マッカファーティ他、Ｎａｔｕｒｅ、第３４８巻、５５２～５５４ページ、１９９０年；マークス他、Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、第１０巻、７７９～７８３ページ、１９９２年）。これら抗体の親和性は、例えばチェーン・シャッフリングによって向上させることもできる（クラクソン他、Ｎａｔｕｒｅ、第３５２巻、６２８ページ、１９９１年）。

【０２６１】

上記の抗体を用いて本発明のポリペプチドまたはポリヌクレオチドを発現するクローンを単離または同定し、例えばアフィニティ・クロマトグラフィによってそのポリペプチドまたはポリヌクレオチドを精製することができる。

【０２６２】

したがって、特にＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１ポリペプチドまたはＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１ポリヌクレオチドに対する抗体を用いて感染、特に細菌感染を治療することができる。

【０２６３】

ポリペプチドの変異体として、抗原、エピトープ、または免疫に関して等価な変異体は、本発明の特別な一側面を構成する。

【０２６４】

抗体またはその変異体を修飾して個体の中で免疫性を低下させることが好ましい。例えば、個体がヒトである場合、抗体が“ヒト化され”ていて、ハイブリドーマに由来する抗体の相補性決定領域がヒトのモノクローナル抗体に移植されていることが最も好ましい。これについては、例えば、ジョーンズ他、Ｎａｔｕｒｅ、第３２１巻、５２２～５２５ページ、１９８６年、またはテンペスト他、Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、第９巻、２６６～２７３ページ、１９９１年に記載されている。

アンタゴニストとアゴニスト－アッセイと分子

本発明のポリペプチドとポリヌクレオチドは、例えば細胞、細胞フリーな調製物、化合物ライブラリー、天然産物の混合物の中で小さな分子からなる基質やリガンドの結合力を評価するのに用いることもできる。これら基質やリガンドは、天然の基質やリガンドでもよく、構造または機能を似せた人工物でもよい。例えば、コリガン他、『免疫学における最新のプロトコル』、第１（２）巻、第５章、１９９１年を参照のこと。

【０２６５】
スクリーニング法により、ポリペプチドまたはポリヌクレオチド、そのポリペプチドまたはポリヌクレオチドを有する細胞または膜、またはそのポリペプチドの融合タンパク質に対する候補化合物の結合を、その候補化合物に直接または間接に付随する標識を用いて容易に測定することが可能である。また、スクリーニング法では、標識した競合化合物との競合が起こることがある。さらに、これらスクリーニング法においてポリペプチドまたはポリヌクレオチドを含む細胞に対する適切な検出システムを用いることにより、候補化合物が、ポリペプチドまたはポリヌクレオチドの活性化または抑制によってシグナルを発生するかどうかをテストすることができる。活性のインヒビターは、一般に、既知のアゴニストの存在下で分析し、候補化合物が存在していることによってそのアゴニストが活性化に及ぼす効果を観測する。構成的に活性なポリペプチドおよび／または構成的に発現するポリペプチドとポリヌクレオチドを用い、アゴニストまたはインヒビターの存在下で、候補化合物がそのポリペプチドまたはポリヌクレオチドの活性化を抑制するかどうかをテストすることにより、逆アゴニストまたは逆インヒビターのスクリーニングができる。さらに、スクリーニング法は、候補化合物を本発明のポリペプチドまたはポリヌクレオチドを含む溶液と混合して混合物にし、その混合物中のＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１ポリペプチドおよび／またはポリヌクレオチドの活性を測定し、その混合物のＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１ポリペプチドおよび／またはポリヌクレオチドの活性を基準と比較する操作だけを含むようにすることが可能である。融合タンパク質、例えばＦｃタンパク質とＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１ポリペプチドとから作られる融合タンパク質は、すでに説明したように、本発明のポリペプチドのアンタゴニストや、系統発生上および／または機能上関連したポリペプチドのアンタゴニストを同定するためのハイスループット・スクリーニング・アッセイにも用いることができる（Ｄ．ベネット他、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｒｅｃｏｇｎｉｔｉｏｎ、第８巻、５２～５８ページ、１９９５年；Ｋ．ヨハンソン他、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．、第２７０巻（１６）、９４５９～９４７１ページ、１９９５年を参照のこと）。

【０２６６】
本発明のポリペプチドと結合および／または相互作用するポリヌクレオチド、ポリペプチド、抗体は、付加化合物が細胞内におけるｍＲＮＡおよび／またはポリペプチドの産生に及ぼす効果を検出するスクリーニング法を設計するのにも用いることができる。例えば、モノクローナル抗体とポリクローナル抗体を用いてポリペプチドの分泌レベルまたは細胞付随レベルを測定するため、従来技術において標準的な方法によりＥＬＩＳＡを構成することができる。これは、適切に処理した細胞または組織からのポリペプチドの産生を抑制または促進する可能性のある薬剤（それぞれ、アンタゴニスト、アゴニストと呼ばれる）を発見するのに利用できる。

【０２６７】
本発明により、ＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１ポリペプチドまたはポリヌクレオチドの作用を促進（アゴニスト）または阻止（アンタゴニスト）する化合物、特に細菌発育抑制性および／または殺菌性の化合物を同定するための化合物スクリーニング法も提供される。このスクリーニング法にはハイスループット技術を含めることが可能である。例えば、アゴニストまたはアンタゴニストをスクリーニングするため、ＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１ポリペプチドと、そのポリペプチドの基質またはリガンドを標識したものとを含む合成反応用混合物、細胞の区画（例えば膜、細胞外被、細胞壁）、またはこれらのうちの任意のものの調製物を、ＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳ

ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１のアゴニストまたはアンタゴニストの可能性がある候補化合物の不在下または存在下で培養する。候補化合物がＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１ポリペプチドを作動させる能力または拮抗する能力は、標識したリガンドの結合の低下、またはそのような基質からの産物の産生低下となって現われる。ＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１ポリペプチドの効果を誘起することなく結合する分子は、よいアンタゴニストである可能性が最も高い。よく結合する分子や、場合によっては基質からの産物の産生率を上昇させる分子、シグナル伝達を増加させる分子、化学チャネルの活性を増大させる分子は、アゴニストである。状況に応じて起こる基質からの産物の産生、シグナル伝達、化学チャネルの活性の割合やレベルは、レポーター系を用いることによって容易に検出することができる。この点に関して役に立つ可能性のあるレポーター系としては、測色用に標識した基質が産物に変換されたもの、ＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１ポリヌクレオチドまたはポリペプチドの活性の変化に関与するレポーター遺伝子、従来技術で既知の結合アッセイが挙げられるが、これだけに限定されるわけではない。

【０２６８】

ＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１のアゴニストを探すアッセイの別の一例は、競合抑制アッセイにとって適切な条件下で、ＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１と潜在的なアゴニストとを、ＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１と結合する分子、ＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１と結合する組み換え分子、天然の基質またはリガンド、あるいは基質またはリガンドを真似たものと結合させるという競合アッセイである。ＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１を放射活性物質または測色用化合物などで標識すると１つの結合分子に結合したり産物に変換されたりするＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１の数を正確に測定できるため、潜在的なアンタゴニストの効果を評価することができる。

【０２６９】

潜在的なアンタゴニストとしては、特に、本発明のポリヌクレオチドおよび／またはポリペプチドと結合し、そのことによってその活性または発現が抑制されたり消えたりする小さな有機分子、ペプチド、ポリペプチド、抗体が挙げられる。潜在的なアンタゴニストとしては、結合分子の同じ部位に結合するがＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１によって誘起される活性を誘起せず、そのことによってＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１ポリペプチドおよび／またはポリヌクレオチドが結合するのを排除してＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１ポリペプチドおよび／またはポリヌクレオチドの作用または発現を阻止する小さな有機分子、ペプチド、密接な関係のあるタンパク質などのポリペプチド、抗体も可能である。

【０２７０】

潜在的なアンタゴニストとしては、ポリペプチドの結合部位と結合してその部位を占拠し、そのことによって細胞と結合する分子の結合を阻止し、正常な生物活性を抑制する小さな分子も挙げられる。小さな分子の実例としては、小さな有機分子、ペプチド、ペプチド

様分子が挙げれられるが、これだけに限定されるわけではない。これ以外の潜在的なアンタゴニストとしては、アンチセンス分子がある（この分子の説明に関しては、オカノ、Ｊ．Ｎｅｕｒｏｃｈｅｍ．、第５６巻、５６０ページ、１９９１年；『遺伝子発現のアンチセンス・インヒビターとしてのオリゴデオキシヌクレオチド』、ＣＲＣプレス、ボカ・ラトン、フロリダ州、１９８８年を参照のこと）。好ましい潜在的なアンタゴニストとしては、ＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１と関係のある化合物、ＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１の変異体が挙げられる。

【０２７１】

さらに別の側面として、本発明は、本発明のポリペプチドまたはその断片と、さまざまなサブクラスの免疫グロブリン（ＩｇＧ、ＩｇＭ、ＩｇＡ、ＩｇＥ）のＨ鎖またはＬ鎖の定常領域のさまざまな部分を含む遺伝子組み換え可溶性融合タンパク質に関する。免疫グロブリンとして好ましいのは、ヒトＩｇＧ、特にＩｇＧ１のＨ鎖の定常部分であり、そのヒンジ領域において融合が起こる。特別な実施態様によると、Ｆｃ部は、血液凝固第Ｘａ因子を用いて切断することのできる切断配列を組み込むことによって簡単に除去することができる。本発明はさらに、遺伝子工学によるこの融合タンパク質の調製方法と、この融合タンパク質を利用して行なう薬剤のスクリーニング、診断、治療にも関する。本発明のさらに別の側面は、そのような融合タンパク質をコードするポリヌクレオチドにも関する。融合タンパク質に関する技術の実例は、国際特許出願ＷＯ９４／２９４５８、ＷＯ９４／２２９１４に見ることができる。

【０２７２】

この明細書に記載した各ポリヌクレオチド配列は、抗菌化合物の発見や開発に用いることができる。コードされたタンパク質は、発現すると、抗菌薬剤をスクリーニングするためのターゲットとして用いることができる。さらに、コードされたタンパク質のアミノ末端領域をコードしているポリヌクレオチド配列、シャイン・ダルガルノ配列、または個々のｍＲＮＡの翻訳を容易にする配列を用いてアンチセンス配列を構成し、対象とするコード配列の発現を制御することができる。

【０２７３】

本発明により、本発明のポリペプチド、ポリヌクレオチド、アゴニスト、アンタゴニストを利用して、１つまたは複数の病原体と、感染後の発病の原因である真核生物の宿主、好ましくは哺乳類の宿主との間の最初の物理的相互作用を阻止するという利用法も提供される。特に、本発明の分子は、細菌、中でもグラム陽性菌および／またはグラム陰性菌が、留置器具上の真核生物、好ましくは哺乳類の細胞外マトリックス・タンパク質に、または傷の細胞外マトリックス・タンパク質に付着するのを阻止するのに用いること；真核生物、好ましくは哺乳類の細胞外マトリックス・タンパク質と、組織の損傷をもたらす細菌のＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１タンパク質の間に細菌が付着するのを阻止するのに用いること、および／または；留置器具の移植その他の外科的方法とは異なる経緯により感染したことによって発病が普通に進行するのを阻止するのに用いることができる。

【０２７４】

本発明のさらに別の側面によれば、ＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１アゴニストとアンタゴニスト、好ましくは細菌発育抑制性および／または殺菌性のアゴニストとアンタゴニストが提供される。

【０２７５】

本発明のアゴニストとアンタゴニストは、例えば、疾病の予防、抑制、および／または、治療に用いることができる。

【０２７６】

さらに別の側面として、本発明は、本発明のポリペプチドのミモトープに関する。ミモトープは、天然のペプチドと（配列または構造が）非常によく似たペプチド配列であり、天然のペプチドを認識する抗体によって認識される。ミモトープはまた、適切な担体と結合した場合に、天然のペプチドを認識する抗体を強化することもできる。

【０２７７】

ペプチド・ミモトープは、選択したアミノ酸を付加したり、欠失させたり、置換したりすることによって特定の目的用に設計することができる。したがってペプチドは、タンパク質担体と容易に結合できるように修飾することができる。例えば、いくつかの化学的結合法にとっては末端にシステインを含むようにすることが望ましかろう。それに加え、タンパク質担体と結合したペプチドにおいて、そのペプチドの結合した末端とは反対側に疎水性末端を含むようにして、そのペプチドの結合していないこの自由な末端がタンパク質担体の表面と会合したままになっているようにすることが望ましかろう。そうすることにより、このペプチドが、もとの分子全体の文脈にあるときのペプチドの配座と非常によく似た配座になる。例えばペプチドは、Ｎ末端のシステインとＣ末端の疎水性のアミド化された尾部を持つように変えることができる。また、１つまたはそれ以上のアミノ酸についてＤ－立体異性体を付加または置換して、例えばペプチドの安定性を向上させるという好ましい誘導体を作ることができる。

【０２７８】

また、ペプチド・ミモトープは、ファージ提示法などの方法を利用し、本発明のポリペプチドと結合することのできる抗体を用いて同定することができる（ＥＰ　０　５５２　２６７　Ｂ１）。この方法により、天然のペプチドと構造が似ており、したがってアンチ天然のペプチド抗体に結合できるが、必ずしも天然のポリペプチドとは配列がそれほど似てはいない多数のペプチド配列が生まれる。

ワクチン

本発明の別の側面は、個体、特に哺乳類、好ましくはヒトにおいて免疫応答を誘起する方法に関する。この方法は、その個体を、感染、特に細菌感染、中でもナイセリア・メニンギティディスの感染から保護するため、抗体および／またはＴ細胞免疫応答を発生させるのに十分なＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１ポリヌクレオチドおよび／またはポリペプチド、あるいはその断片または変異体をこの個体に接種する操作を含んでいる。

【０２７９】

本発明により、そのような免疫応答によって細菌の複製速度が遅くなる方法も提供される。本発明のさらに別の側面は、個体において免疫応答を誘起する別の方法に関する。この方法は、その個体に核酸ベクター、配列、またはリボザイムを供給してＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１ポリヌクレオチドおよび／またはポリペプチド、あるいはその断片または変異体の発現を指示し、ＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１ポリヌクレオチドおよび／またはポリペプチド、あるいはその断片または変異体を生体内で発現させて、疾病がすでにその個体、好ましくはヒトの体内で発生しているかどうかどうかに関係なく、その個体をその疾病から保護するために、抗体および／またはＴ細胞（例えばサイトカイン産生Ｔ細胞または細胞障害性Ｔ細胞を含む）の免疫応答の発生などの免疫応答を誘起する操作を含んでいる。遺伝子投与の一例は、その遺伝子を、粒子のコーティングなどとして望む細胞の中に急いで入れるというものである。このような核酸ベクターは、ＤＮＡ、ＲＮＡ、リボザイム、修飾された核酸、ＤＮＡ／ＲＮＡハイブリッド、ＤＮＡ－タンパク質複合体、またはＲＮＡ－タンパク質複合体を含むことができる。

【０２８０】

本発明のさらに別の側面は、個体、好ましくはヒトに導入されたときにその個体の体内で

免疫応答を誘起することができて、その個体にＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１ポリヌクレオチドおよび／またはそれによってコードされたポリペプチドに対する免疫応答を誘起する免疫性組成物に関する。この免疫性組成物は、組み換えＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１ポリヌクレオチドおよび／またはそれによってコードされたポリペプチド、および／または、このＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１ポリヌクレオチド、それによってコードされたポリペプチド、または本発明の他のポリペプチドの抗体をコードし発現するＤＮＡおよび／またはＲＮＡを含んでいる。この免疫応答を治療または予防に利用することが可能である。また、この免疫応答は、抗体免疫の形態および／または細胞免疫の形態、例えばＣＴＬまたはＣＤ４＋Ｔ細胞から生まれる細胞免疫の形態を取ることができる。

【０２８１】

ＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１ポリペプチドまたはその断片を、補タンパク質または化合物断片と融合させることが可能である。補タンパク質または化合物断片は、それ自体は抗体を産生させても産生させなくてもよいが、第１のタンパク質を安定化させて、抗原特性および／または免疫特性、好ましくは保護特性を有する融合タンパク質または修飾タンパク質を産生させることができるものである。したがって、組み換え融合タンパク質は、例えばインフルエンザ菌、グルタチオン－Ｓ－トランスフェラーゼ（ＧＳＴ）、β－ガラクトシダーゼなどの抗原性補タンパク質、またはそのタンパク質を可溶化しその産生と精製を容易にする任意の他の比較的大きな補タンパク質からのリポタンパク質をさらに含んでいることが好ましい。さらに、補タンパク質は、そのタンパク質を受け入れる生物の免疫系を一般的に刺激するという意味のアジュバントとして作用することができる。補タンパク質は、第１のタンパク質のアミノ末端またはカルボキシル末端のいずれかに付着することができる。

【０２８２】

本発明のワクチン組成物では、ＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１ポリペプチドおよび／またはポリヌクレオチド、その断片、そのミモトープ、その変異体が、上記の生きた組み換えベクター、例えば生きた細菌ベクターなどのベクター内に存在していてもよい。

【０２８３】

ＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１ポリペプチドにとっては、生きていないベクター、例えば細菌の外膜小胞、すなわち“泡状突起”も適している。ＯＭ泡状突起はグラム陰性菌の２層膜の外膜に由来するものであり、クラミジア・トラコマティス（Ｃ．ｔｒａｃｈｏｍａｔｉｓ）やオウム病クラミジア（Ｃ．ｐｓｉｔｔａｃｉ）を始めとする多数のグラム陰性菌において記録されている（ツー，Ｌ．他、ＦＥＭＳ Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．Ｌｅｔｔ．、第１６３巻、２２３～２２８ページ、１９９８年）。泡状突起を発生させると報告されている細菌性病原体としては、ボルデテラ・ペルトゥシス（Ｂｏｒｄｅｔｅｌｌａ ｐｅｒｔｕｓｓｉｓ）、ボレリア・ブルグドルフェリ（Ｂｏｒｒｅｌｉａ ｂｕｒｇｄｏｒｆｅｒｉ）、ブルセラ・メリテンシス（Ｂｒｕｃｅｌｌａ ｍｅｌｉｔｅｎｓｉｓ）、ブルセラ・オヴィス（Ｂｒｕｃｅｌｌａ ｏｖｉｓ）、大腸菌（Ｅｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ ｃｏｌｉ）、インフルエンザ菌（Ｈａｅｍｏｐｈｉｌｕｓ ｉｎｆｌｕｅｎｚａ）、レジオネラ・プヌーモフィラ（Ｌｅｇｉｏｎｅｌｌａ ｐｎｅｕｍｏｐｈｉｌａ）、ナイセリア・ゴノロエア（Ｎｅｉｓｓｅｒｉａ ｇｏｎｏｒｒｈｏｅａｅ）、ナイセリア・メニンギティディス、スードモナス・アエルギノサ（Ｐｓｅｕｄｏｎｏｎａｓ ａｅｒｕｇｉｎｏｓａ）、イェルシニア・エンテロコリティカ（Ｙｅｒｓｉｎｉａ ｅ

ｎｔｅｒｏｃｏｌｉｔｉｃａ）などがあるが、これだけに限定されるわけではない。

【０２８４】

泡状突起（Ｂｌｅｂｓ）は、もともとの配座において外膜タンパク質を提供できるという利点があり、したがってワクチンに特に有効である。泡状突起は、外膜にある１つまたはそれ以上の分子の発現が変化するように細菌を遺伝子改変することにより、ワクチン用に改良することもできる。そこで、例えば外膜の所望の免疫タンパク質の発現、例えばＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１ポリペプチドの発現を（例えばプロモーターを変化させることによって）導入したり上方調節したりすることができる。その代わりに、あるいはそれに加えて、関係のない外膜分子（例えば、非保護抗原、または免疫優勢であるが可変性のあるタンパク質）または、有害な外膜分子（例えば、ＬＰＳなどの毒性分子、または自己免疫応答を誘起する可能性のある分子）の発現を下方調節することができる。こられの方法について以下に詳しく説明する。

【０２８５】

ＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１遺伝子の非コード・フランキング領域は、その遺伝子の発現にとって重要な調節領域を含んでいる。この調節は、転写レベルと翻訳レベルの両方で起こる。遺伝子のオープン・リーディング・フレームの上流または下流に位置しているこれら領域の配列は、ＤＮＡシークエンシングによって得ることができる。この配列情報により、潜在的な調節モチーフを決定すること、例えばさまざまなプロモーター要素、ターミネーター配列、誘起可能な配列要素、リプレッサー、相変異の原因となる要素、シャイン・ダルガルノ配列、潜在的な二次構造を有する調節関与領域のほか、これ以外のタイプの調節モチーフや調節配列を決定することができる。

【０２８６】

この配列情報により、ＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１遺伝子の自然な発現を変化させることができる。遺伝子発現の上方調節は、プロモーター、シャイン・ダルガルノ配列、潜在的なリプレッサー、オペレータ要素、または関係のある他の要素を変えることによって実現できる。同様に、発現の下方調節は、似たような変更によって実現することができる。また、相変異配列を変化させることにより、遺伝子の発現を相変異の制御下に置いたり、この調節から独立させたりすることができる。別の方法では、遺伝子を１つまたはそれ以上の誘起要素の制御下に置いて、発現を制御できるようにすることができる。そうした制御の具体例としては、温度シフトによる誘起や、誘起性基質の付加、例えば選択した炭水化物またはその誘導体、微少元素、ビタミン、補因子、金属イオンなどの付加が挙げられるが、これだけに限定されるわけではない。

【０２８７】

上記のような変更は、いくつかの異なったやり方で導入することができる。遺伝子の発現に関係する配列の変更は、生体内でランダムな突然変異を起こした後に望む表現型を選択することによって実現できる。別の方法は、興味の対象となる領域を分離した後、その領域をランダムに突然変異させること、または部位特異的突然変異による置換、挿入、または欠失を起こさせることにより変化させることからなる。次に、このように変化した領域を相同的組み換えによって細菌の遺伝子に再導入して、遺伝子の発現に及ぼす効果を評価することができる。別の方法では、対象となる領域の配列に関する知識を利用して、天然の調節配列の全部または一部を置換または除去する。この場合、ターゲットとなる調節領域を分離・変更して、別の遺伝子からの調節要素、さまざまな遺伝子からの調節要素の組み合わせ、合成した調節要素、またはそれ以外の任意の調節要素が含まれるように、あるいは野生型の調節配列の特定の部分が除去されるようにする。するとこれらの変更された配列は、相同的組み換えを通じて細菌の遺伝子に再導入することができる。遺伝子発現の上方調節に利用できる可能性のある好ましいプロモーターとしては、ナイセリア・メニンギティディスまたはナイセリア・ゴノロエアに由来するプロモーターであるｐｏｒＡ、ｐ

ｏｒＢ、ｌｂｐＢ、ｔｂｐＢ、ｐ１１０、１ｓｔ、ｈｐｕＡＢ；ｏｍｐＣＤ、ｃｏｐＢ、ｌｂｐＢ、ｏｍｐＥ、ＵｓｐＡ１；ＵｓｐＡ２；モラクセラ・カタラーリス（Ｍ．　Ｃａｔａｒｒｈａｌｉｓ）に由来するＴｂｐＢ；インフルエンザ菌に由来するｐ１、ｐ２、ｐ４、ｐ５、ｐ６、ｌｐＤ、ｔｂｐＢ、Ｄ１５、Ｈｉａ、Ｈｍｗ１、Ｈｍｗ２が挙げられるが、これだけに限定されるわけではない。

【０２８８】

一実施態様によれば、遺伝子の発現は、（この遺伝子の上方配列を分離し、この配列をインビトロで変化させ、相同的組み換えによってゲノムを再導入する操作を通じて）この遺伝子のプロモーターをより強力なプロモーターと交換することにより変化させることができる。上方調節された発現は、細菌内と、細菌から選別した（細菌が作った）外膜小胞の中の両方で実現することができる。

【０２８９】

別の実施態様によれば、上記の方法を利用して、ワクチンへの応用特性が改善された組み換え細菌株を生み出すことができる。そうした株としては、毒性を弱めた株、特定の抗原の発現が増えた株、免疫応答を妨げる遺伝子がノックアウトされた（またはその遺伝子の発現が低下した）株、免疫優勢なタンパク質の発現が調節された株、外膜小胞の選別が調節された株が挙げられるが、これだけに限定されるわけではない。

【０２９０】

そこで本発明によれば、ＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１遺伝子の変化した上流領域も提供される。この変化した上流領域は、外膜に位置するＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１タンパク質の発現レベルを変化させる異種性調節要素を含んでいる。本発明のこの側面による上流領域は、ＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１遺伝子の上流にある配列を含んでいる。上流領域は、ＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１遺伝子のすぐ上流から始まり、通常は、ＡＴＧ開始コドンからこの遺伝子の約１０００ｂｐ上流を超えない位置まで続いている。ポリシストロン性配列（オペロン）に位置する遺伝子の場合、上流領域は、対象となる遺伝子の直前、またはオペロン内の最初の遺伝子の前から始まることがある。本発明のこの側面による変化した上流領域は、ＡＴＧの５００～７００ｂｐ上流の位置に異種性プロモーターを含んでいることが好ましい。

【０２９１】

そこで本発明により、変化した細菌の泡状突起内に、ＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１ポリペプチドが提供される。さらに本発明によれば、膜をベースとした生きていない泡状突起ベクターを生み出すことのできる宿主細胞が提供される。さらに本発明によれば、異種性調節要素を含む変化した上流領域を有するＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１遺伝子を含む核酸ベクターが提供される。

【０２９２】

さらに本発明によれば、本発明による宿主細胞と細菌の泡状突起を調製する方法が提供される。

【０２９３】

本発明によれば、さらに、組成物、特にワクチン組成物が提供されるほか、本発明のポリペプチドおよび／またはポリヌクレオチドと免疫促進性ＤＮＡ配列を含む方法が提供される。免疫促進性ＤＮＡ配列についてはサトウ，　Ｙ．他、Ｓｃｉｅｎｃｅ、第２７３巻、３５２ページ、１９９６年に記載されている。

【０２９４】

本発明によれば、さらに、ナイセリア・メニンギティディスに感染したモデル動物における遺伝子を使った免疫確立実験で用いられるポリヌクレオチド構造体中において、上記のポリヌクレオチド、またはその特定の断片で細菌細胞の表面タンパク質の非可変領域をコードすることが知られている断片を用いる方法も提供される。このような実験は、予防または治療のための免疫応答を起こすことのできるタンパク質エピトープを同定する上で特に役立つであろう。この方法により、感染に対して抵抗力のある動物、あるいは感染を除去することのできる動物の必要な器官に由来する特別な価値を有するモノクローナル抗体を、哺乳類、特にヒトにおける細菌感染、特にナイセリア・メニンギティディスの感染の予防薬または治療方法の開発のためにまもなく調製できるようになると考えられている。

【０２９５】

本発明には、本発明の免疫性組み換えポリペプチドおよび／またはポリヌクレオチドと、適切な基剤、例えば医薬として許容される担体とを含むワクチン製剤も含まれる。ポリペプチドとポリヌクレオチドは胃で分解される可能性があるため、それぞれを非経口的に投与することが好ましい。例えば、皮下、筋肉内、静脈内、皮内に投与する。非経口投与に適した製剤としては、抗酸化剤、緩衝溶液、細菌発育抑制化合物、製剤を個体の体液、好ましくは血液と等張にする溶質とを含む可能性のある水性、非水性の無菌注射液や；分散剤または増粘剤を含む可能性のある水性、非水性の無菌分散液が挙げられる。製剤は、単位用量、または複数回用量の容器、例えば密封したアンプルやガラス瓶の形態にすることができる。製剤は、凍結乾燥状態にして保管し、使用する直前に無菌基剤を添加するだけでよいようにすることができる。

【０２９６】

本発明のワクチン製剤は、その製剤の免疫性を向上させるためにアジュバント系をさらに含んでいてもよい。アジュバント系は、ＴＨ１タイプの応答を選択的に増加させることが好ましい。

【０２９７】

免疫応答は、大きく２つの典型的なカテゴリーに分けることができる。それは、体液を媒介とした免疫応答と細胞を媒介とした免疫応答である（伝統的に、抗体と、防護のための細胞エフェクター機構をそれぞれ特徴とする）。応答のこれらカテゴリーは、ＴＨ１タイプの応答（細胞を媒介とした応答）、ＴＨ２タイプの応答（体液を媒介とした応答）と呼ばれている。

【０２９８】

典型的なＴＨ１タイプの免疫応答は、抗原特異的でハプロタイプが限定された細胞毒性のあるＴリンパ球と、ナチュラルキラー細胞の応答とを生み出すことが特徴であると言えよう。マウスでは、ＴＨ１タイプの応答は、ＩｇＧ２ａサブタイプの抗体を産生することを特徴とするのに対し、ヒトでは、この応答はＩｇＧ１タイプの抗体に対応する。ＴＨ２タイプの免疫応答は、免疫グロブリンのさまざまなイソタイプを産生させることを特徴とする。例えばマウスでは、ＩｇＧ１、ＩｇＡ、ＩｇＭが産生される。

【０２９９】

これら２つのタイプの免疫応答が展開するときに裏で操っているのはサイトカインであると考えることができる。ＴＨ１タイプのサイトカインがハイレベルだと、所定の抗原に対して細胞を媒介とした免疫応答が誘起され、ＴＨ２タイプのサイトカインがハイレベルだと、その抗原に対して体液を媒介とした免疫応答が誘起される傾向がある。

【０３００】

ＴＨ１タイプの免疫応答とＴＨ２タイプの免疫応答の区別は厳密ではない。実際には、個体は、ＴＨ１が優勢である、あるいはＴＨ２が優勢であると記述される免疫応答を支持することになる。しかし、ネズミ類のＣＤ４＋ｖｅＴ細胞クローンにおいてモスマンとコフマンによって記述されているサイトカイン・ファミリーを考えると便利なことがしばしばある（モスマン，Ｔ．Ｒ．とコフマン，Ｒ．Ｌ．、「ＴＨ１細胞とＴＨ２細胞：さまざまな機能特性へと通じるさまざまなパターンのリンホカイン分泌」、Ａｎｎｕａｌ Ｒｅｖｉｅｗ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ、第７巻、１４５～１７３ページ、１９８９年）。

一般に、ＴＨ１タイプの応答には、Ｔリンパ球によるＩＦＮ－γとＩＬ－２というサイトカインの産生が伴っている。ＴＨ１タイプの免疫応答の誘起にしばしば直接関係する他のサイトカイン、例えばＩＬ－１２は、Ｔ細胞によって産生されない。これとは逆に、ＴＨ２タイプの応答には、ＩＬ－４、ＩＬ－５、ＩＬ－６、ＩＬ－１３の分泌が伴っている。

【０３０１】

ある種のワクチン・アジュバントは、ＴＨ１タイプまたはＴＨ２タイプのサイトカイン応答のいずれかを刺激するのに特に適していることが知られている。一般に、ワクチン接種後または感染後の免疫応答のＴＨ１：ＴＨ２のバランスを示す最良の指標としては、抗原で再度刺激した後にインビトロでＴリンパ球によるＴＨ１タイプまたはＴＨ２タイプのサイトカイン産生を測定すること、および／または、抗原特異的な抗体反応のＩｇＧ１：ＩｇＧ２ａの比を測定することが挙げられる。

【０３０２】

したがってＴＨ１タイプのアジュバントは、インビトロで抗体によって再度刺激を受けたときに、分離したＴ細胞群を選択的に刺激してＴＨ１タイプのサイトカインをハイレベルに産生させ、ＣＤ８＋細胞毒性Ｔリンパ球と、ＴＨ１タイプのアイソタイプに伴う抗原特異的免疫グロブリン応答の両方の展開を促進するアジュバントである。

【０３０３】

ＴＨ１タイプの細胞応答を選択的に刺激することのできるアジュバントは、国際特許出願ＷＯ９４／００１５３、ＷＯ９５／１７２０９に記載されている。

【０３０４】

３デ－Ｏ－アクリル化モノホスホリル脂質Ａ（３Ｄ－ＭＰＬ）は、そうしたアジュバントの１つである。これは、ＧＢ２２２０２１１（リビ）により公知である。化学的には、これは、３デ－Ｏ－アクリル化モノホスホリル脂質Ａと４、５、または６アクリル化した鎖の混合物であり、リビ・イムノケム社、モンタナ州が製造している。３デ－Ｏ－アクリル化モノホスホリル脂質Ａの好ましい形態は、欧州特許第０　６８９　４５４　Ｂ１号（スミスクライン・ビーチャム・バイオロジカルズ社）に開示されている。

【０３０５】

３Ｄ－ＭＰＬの粒子は十分小さくし、０．２２ミクロンの膜を通過して滅菌濾過されることが好ましい（欧州特許第０　６８９　４５４号）。

【０３０６】

３Ｄ－ＭＰＬは、一用量あたり１０μｇ～１００μｇ、好ましくは２５～５０μｇ含まれることになろう。そのとき抗原は、典型例では一用量あたり２～５０μｇ含まれることになろう。

【０３０７】

別の好ましいアジュバントとしてはＱＳ２１がある。これは、キラヤに由来するＨｐｌｃ精製された非毒性の分画である。場合によっては、これに３デ－Ｏ－アクリル化モノホスホリル脂質Ａ（３Ｄ－ＭＰＬ）を混合し、さらに基剤を混合することもできる。

【０３０８】

ＱＳ２１の製造方法は、アメリカ合衆国特許第５，０５７，５４０号に開示されている。

【０３０９】

ＱＳ２１を含む非反応性アジュバント製剤は、過去の文献に記載されている（ＷＯ９６／３３７３９）。ＱＳ２１とコレステロールを含むそのような製剤は、抗原と合わせて処方したときにＴＨ１を刺激するアジュバントとしてうまくいくことが知られている。

【０３１０】

ＴＨ１タイプの細胞応答を選択的に刺激するさらに別のアジュバントとしては、免疫調節性オリゴヌクレオチドがある。例えばメチル化されていないＣｐＧ配列が、ＷＯ９６／０２５５５に開示されている。

【０３１１】

ＴＨ１を刺激する上記のようなさまざまなアジュバントの組み合わせも、ＴＨ１タイプの細胞応答を選択的に刺激するアジュバントとして考えられる。例えば、ＱＳ２１を３Ｄ－

ＭＰＬと合わせて処方することができる。ＱＳ２１：３Ｄ－ＭＰＬの比は、典型的には１：１０から１０：１であろうが、１：５から５：１であることが好ましく、実質的に１：１であることもしばしばある。最適な相乗効果が得られるＱＳ２１：３Ｄ－ＭＰＬの比の好ましい範囲は、２．５：１から１：１である。

【０３１２】

本発明のワクチン組成物には基剤も含まれていることが好ましい。基剤は、水中油型乳剤、またはアルミニウム塩、例えばリン酸アルミニウムや水酸化アルミニウムである。

【０３１３】

好ましい水中油型乳剤は、スクワレン、αトコフェロール、トゥイーン８０（商標）などの代謝可能な油である。特に好ましい側面では、本発明のワクチン組成物中の抗原は、そのような乳剤中でＱＳ２１および３Ｄ－ＭＰＬと結合している。さらに、水中油型乳剤は、スパン８５（商標）および／またはレシチン（ｌｅｃｉｔｈｉｎ）および／またはトリカプリリン（ｔｒｉｃａｐｒｙｌｉｎ）を含んでいてもよい。

【０３１４】

ヒトに投与する場合には、典型的には、ＱＳ２１と３Ｄ－ＭＰＬがワクチン中に、一用量あたり１μｇ～２００μｇ、例えば１０～１００μｇ、好ましくは１０μｇ～５０μｇ含まれることになろう。水中油型乳剤は、典型的には、２～１０％のスクワレン、２～１０％のαトコフェロール、０．３～３％のトゥイーン８０を含むことになろう。スクワレン：αトコフェロールの比は、等しいか１未満であることが好ましい。というのも、このようにすると乳剤がより安定になるからである。スパン８５が１％のレベルで存在していてもよい。場合によっては、本発明のワクチンに安定剤がさらに含まれていることが望ましい。

【０３１５】

非毒性の水中油型乳剤は、毒性のない油、例えばスクワランまたはスクワレンと、乳化剤、例えばトゥイーン８０とを水溶性基剤の中に含んでいることが好ましい。水溶性基剤は、例えばリン酸緩衝溶液にすることができる。

【０３１６】

水中油型乳剤中にＱＳ２１、３Ｄ－ＭＰＬ、トコフェロールを含む特に強力なアジュバント製剤は、ＷＯ９５／１７２１０に記載されている。

【０３１７】

本発明により、本発明のワクチン製剤に加えて他の抗原、特にガンの治療、自己免疫疾患や関連した疾患の治療に有効な抗原を含む多価のワクチン組成物が提供される。そのような多価のワクチン組成物には、上記のＴＨ－１を誘起するアジュバントが含まれていてもよい。

【０３１８】

本発明を特定のＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１ポリペプチドとポリヌクレオチドに関して記述してきたが、本発明には、天然に存在するポリペプチドとポリヌクレオチドの断片や、ポリペプチドまたはポリヌクレオチドの免疫特性に実質的に影響を与えない付加、欠失、または置換を伴う同様の組み換えたポリペプチドとポリヌクレオチドも含まれるものと理解する。

【０３１９】

抗原は、１個の細菌全体（死んだもの、または生きたもの）の形態として、または細胞以下の分画の形態として供給することもできる。その中には、もちろんナイセリア・メニンギティディスそのものを供給することも含まれる。

組成物、キット、投与

本発明のさらに別の側面によれば、１個の細胞または多細胞生物に投与するための、ＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１ポリヌクレオチドおよび／またはＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳ

ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６又はＢＡＳＢ０７１ポリペプチドを含む組成物が提供される。

【０３２０】

本発明は、この明細書に記載したポリヌクレオチドおよび／またはポリペプチド、あるいはそのアゴニストまたはアンタゴニストを含む組成物にも関する。本発明のポリペプチドとポリヌクレオチドは、細胞、組織、または生物に対して使用するために、無菌でない、または無菌の１つまたは複数の基剤、例えば個体に投与するのに適した薬理学的な基剤と組み合わせて用いることができる。このような組成物は、例えば、媒体に添加する量、すなわち治療に効果がある量の本発明のポリペプチドおよび／またはポリヌクレオチドと、薬理学的に受容可能な基剤または賦形剤とを含んでいる。基剤としては、生理的食塩水、緩衝生理的食塩水、デキストロース、水、グリセロール、エタノールのほか、これらの組み合わせが挙げられるが、これだけに限定されない。製剤は、投与形態に合致している必要がある。本発明はさらに、本発明の上記組成物の１つまたはそれ以上の成分を充填した１つまたはそれ以上の容器を備える診断用、薬理学用のパックまたはキットにも関する。

【０３２１】

本発明のポリペプチド、ポリヌクレオチド、その他の化合物は、単独で、あるいは他の化合物、例えば治療用化合物と組み合わせて用いることができる。

【０３２２】

本発明の薬理学的組成物は、効果的かつ使いやすい任意の方法で投与することができる。具体例としては、特に、局所的、経口、肛門、膣、静脈内、腹腔内、筋肉内、皮下、鼻孔内、皮内の投与が挙げられる。

【０３２３】

治療において、あるいは予防として、活性な薬剤を注射可能な組成物として、例えば無菌の好ましくは等張の水性分散液として、個体に投与することができる。

【０３２４】

さらに別の側面では、本発明により、治療に効果的な量のポリペプチドおよび／またはポリヌクレオチド、例えば本発明のポリペプチドおよび／またはポリヌクレオチド、アゴニストまたはアンタゴニストのペプチド、または小分子化合物を可溶形態にしたものを、薬理学的に受容可能な基剤または賦形剤と組み合わせて含む薬理学的組成物が提供される。基剤としては、生理的食塩水、緩衝生理的食塩水、デキストロース、水、グリセロール、エタノール、これらの組み合わせが挙げられるが、これだけに限定されない。本発明はさらに、本発明の上記組成物の１つまたはそれ以上の成分を充填した１つまたはそれ以上の容器を備える薬理学用のパックまたはキットにも関する。本発明のポリペプチド、ポリヌクレオチド、その他の化合物は、単独で、あるいは他の化合物、例えば治療用化合物と組み合わせて用いることができる。

【０３２５】

組成物は、投与経路、例えば全身か経口かに応じて適した形態にされることになる。全身投与の好ましい形態としては、注射、典型的には静脈内注射が挙げられる。他の注射経路、例えば皮下注射、筋肉内注射、腹腔内注射も可能である。全身投与の別の手段としては、胆汁塩、フシジン酸（ｆｕｓｉｄｉｃ ａｃｉｄｓ）、または他の洗浄剤といった浸透剤を用いた経粘膜投与や経皮投与が挙げられる。さらに、本発明のポリペプチドまたはその他の化合物を溶腸性製剤またはカプセル化製剤の形態にすることができる場合には、経口投与も可能である。これら化合物の投与は、軟膏、ペースト、ゲル、溶液、粉末などの形態で局所的および／または限局的に行なうことも可能である。

【０３２６】

哺乳類、特にヒトへの投与では、活性のある薬剤の１日の用量が０．０１ｍｇ／ｋｇ～１０ｍｇ／ｋｇ、典型的には１ｍｇ／ｋｇとなることが予想される。いずれにせよ、内科医が、個人にとって最適な実際の用量を決定することになる。用量は、個々人の年齢、体重、反応によって異なる。上記の用量は、平均的な場合の例である。もちろん、用量がより多かったりより少なかったりするほうが好ましい場合も存在しており、それも本発明の範囲に含まれる。

【０３２７】
要求される用量の幅は、選択したペプチド、投与経路、製剤の性質、患者の疾病の性質、医者の判断に応じて変化する。しかし適切な用量は、患者の体重１ｋｇにつき０．１～１００μｇである。
【０３２８】
ワクチン組成物は、注射可能な形態が都合がよい。従来のアジュバントを用いて免疫応答を増大させることができる。ワクチンの適切な単位用量は、体重１ｋｇにつき抗体が０．５～５μｇであり、このような用量を１～３週間の間隔で１～３回投与することが好ましい。上記の幅の用量だと、本発明の化合物を用いた場合に不都合な中毒効果が観察されてその化合物を投与するのに適した個体に投与できなくなることはなかろう。
【０３２９】
しかし、利用可能な化合物が多彩であり、投与経路によって効果が異なることを考えると、必要とされる用量の幅は広いことが予想される。例えば、経口投与の場合には、静脈内注射による投与よりも用量を多くする必要があろう。用量レベルの差は、従来技術で周知のように、最適化のための標準的な経験的作業によって調節することができる。
配列データベース、有形媒体に記憶させた配列、アルゴリズム
ポリヌクレオチドとポリペプチドの配列は、２次元構造や３次元構造を決定したり、似たホモロジー配列をさらに同定したりするための貴重な情報源となる。コンピュータで読むことのできる媒体にデータを記憶させ、記憶させたデータを既知の巨大分子構造プログラムにおいて利用したり、ＧＣＧプログラム・パッケージなどの周知の探索ツールを用いて配列データベースを探索したりすることにより、こうしたことが非常に容易になる。
【０３３０】
本発明により、特徴的な配列またはストリングの解析法、特に遺伝子配列またはコードされたタンパク質配列の解析法も提供される。好ましい配列解析法としては、例えば、一致解析や類似性解析などの配列ホモロジー解析法、ＤＮＡ、ＲＮＡ、タンパク質の構造の解析、配列集合分岐解析、配列モチーフ解析、オープン・リーディング・フレーム決定、核酸塩基コーリング、コドン利用解析、核酸塩基トリミング、シークエンシング・クロマトグラムのピーク解析が挙げられる。
【０３３１】
ホモロジーを同定するための、コンピュータに基づいた方法が提供される。この方法は、本発明のポリヌクレオチド配列を含む第１のポリヌクレオチド配列をコンピュータが読むことのできる媒体に与え；この第１のポリヌクレオチド配列を少なくとも１つの第２のポリヌクレオチド配列またはポリペプチド配列と比較してホモロジーを同定するステップを含んでいる。
【０３３２】
ホモロジーを同定するための、コンピュータに基づいた別の方法も提供される。この方法は、本発明のポリヌクレオチド配列を含む第１のポリペプチド配列をコンピュータが読むことのできる媒体に与え；この第１のポリペプチド配列を少なくとも１つの第２のポリヌクレオチド配列またはポリペプチド配列と比較してホモロジーを同定するステップを含んでいる。
【０３３３】
この明細書で引用したあらゆる出版物や参考文献は、特許や特許出願なども含め、個々の出版物や参考文献が十分に説明されたものとして、参考のために特別かつ個別に組み込むよう指示されているかのようにして、その全体が参考としてこの明細書に組み込まれている。この特許出願のほうに優先権があることをわれわれが主張する他のあらゆる特許出願も、出版物や参考文献に関して上に説明したのと同様にして、全体が本明細書中に援用される。
定義
従来技術で知られている“一致（ｉｄｅｎｔｉｔｙ）”は、２つまたはそれ以上のポリペプチド配列、あるいは場合によっては２つまたはそれ以上のポリヌクレオチド配列を比較

することによって決まる関係である。従来技術では、“一致”は、複数のポリペプチド配列あるいは場合によっては複数のポリヌクレオチド配列の間でストリング同士の一致によって決まる配列関連度のことも意味する。“一致”は、既知の方法を用いて容易に計算することができる。そうした方法は、例えば以下の文献に記載されているが、これだけに限定されるわけではない。『計算分子生物学』、レスク，Ａ．Ｍ．編、オックスフォード大学出版、ニューヨーク州、１９８８年；『バイオコンピューティング：情報学とゲノム計画』、スミス，Ｄ．Ｗ．編、アカデミック・プレス、ニューヨーク州、１９９３年；『配列データのコンピュータ解析』、第１部、グリフィン，Ａ．Ｍ．とグリフィン，Ｈ．Ｇ．編、ヒューマナ・プレス、ニュージャージー州、１９９４年；『分子生物学における配列解析』、フォン・ハイネ，Ｇ．、アカデミック・プレス、１９８７年；『配列解析プライマー』、グリブスコフ，Ｍ．とドゥヴルー，Ｊ．編、Ｍ ストックトン・プレス、ニューヨーク州、１９９１年；カリージョ，Ｈとリップマン，Ｄ．、ＳＩＡＭ Ｊ．Ａｐｐｌｉｅｄ Ｍａｔｈ．、第４８巻、１０７３ページ、１９８８年。一致を確認する方法は、テストする配列同士の一致が最大になるように設計する。さらに、一致を確認する方法は、誰もが利用可能なコンピュータ・プログラムにコード化されている。２つの配列の間の一致を確認するのにコンピュータ・プログラムを用いる方法としては、ＧＣＧプログラム・パッケージのＧＡＰプログラム（ドゥヴルー，Ｊ．他、Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓｅａｒｃｈ、第１２巻（１）、３８７ページ、１９８４年）、ＢＬＡＳＴＰ、ＢＬＡＳＴＮ（アルトシュール，Ｓ．Ｆ．他、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．、第２１５巻、４０３～４１０ページ、１９９０年）、ＦＡＳＴＡ（ピアーソンとリップマン、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、第８５巻、２４４４～２４４８ページ、１９８８年）があるが、それだけに限定されるわけではない。ＢＬＡＳＴファミリーのプログラムは、ＮＣＢＩその他のソースから誰でも利用することができる（『ＢＬＡＳＴマニュアル』、アルトシュール，Ｓ．他、ＮＣＢＩ ＮＬＭ ＮＩＨ ベセスダ、ＭＤ ２０８９４；アルトシュール，Ｓ．他、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．、第２１５巻、４０３～４１０ページ、１９９０年）。よく知られているスミス・ウォーターマンのアルゴリズムも一致を確認するのに用いることができる。

【０３３４】

ポリペプチド配列を比較するためのパラメータには以下のものがある。

アルゴリズム：ニードルマンとヴンシュ、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．、第４８巻、４４３～４５３ページ、１９７０年、

比較行列：ヘニコフとヘニコフ、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、第８９巻、１０９１５～１０９１９ページ、１９９２年によるＢＬＯＳＳＵＭ６２、

ギャップ・ペナルティ：８、

ギャップ長ペナルティ：２。

【０３３５】

これらパラメータを含む有用なプログラムは、ジェネティックス・コンピュータ・グループ（マディソン、ウィスコンシン州）から“ギャップ”プログラムとして誰でも利用することができる。上記のパラメータは、ペプチドを比較するためのデフォルト・パラメータである（端部のギャップに対するペナルティはない）。

【０３３６】

ポリヌクレオチドを比較するためのパラメータには以下のものがある。

アルゴリズム：ニードルマンとヴンシュ、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．、第４８巻、４４３～４５３ページ、１９７０年、

比較行列：一致＝＋１０、不一致＝０、

ギャップ・ペナルティ：５０、

ギャップ長ペナルティ：３。

ジェネティックス・コンピュータ・グループ（マディソン、ウィスコンシン州）から“ギャップ”プログラムとして利用できる。これらパラメータは、核酸を比較するためのデフォルト・パラメータである。

【０３３７】
ポリヌクレオチドとポリペプチドに対する“一致”の好ましい意味は、場合に応じて以下の（１）と（２）で与えられる。
【０３３８】
（１）実施態様のポリヌクレオチドがさらに、配列番号１の参照配列と少なくとも５０、６０、７０、８０、８５、９０、９５、９７、または１００％一致したポリヌクレオチド配列を含む単離されたポリヌクレオチドを含んでいる。このポリヌクレオチド配列は、配列番号１の参照配列と一致していてもよいし、参照配列と比べて所定の数までヌクレオチドが変化していてもよい。この変化は、少なくとも１つのヌクレオチドの欠失、置換（トランジションやトランスバージョンを含む）、または挿入のいずれかである。またこの変化は、参照ヌクレオチド配列の５’末端または３’末端の位置に起こってもよいし、これら末端の間の任意の位置に起こり、参照配列のヌクレオチドの間に個別に点在するか、または参照配列内の１つまたはそれ以上の連続的なグループの中に点在していてもよい。変化するヌクレオチドの数は、配列番号１のヌクレオチドの総数に、パーセント一致を定義する整数を１００で割った値を掛け、次にその積を配列ＩＤ番号１のヌクレオチドの総数から差し引くことによって決まる。すなわち、
$n_n \leqq x_n - (x_n \cdot y)$
となる。ここに、n_nは変化したヌクレオチドの数であり、x_nは配列番号１のヌクレオチドの総数であり、ｙは、５０％の場合に０．５０、６０％の場合に０．６０、７０％の場合に０．７０、８０％の場合に０．８０、８５％の場合に０．８５、９０％の場合に０．９０、９５％の場合に０．９５、９７％の場合に０．９７、１００％の場合に１．００であり、・は、積演算の記号であり、x_nとｙの積が非整数になった場合には、その値よりも小さな最も近い整数に丸めた後にx_nから差し引く。配列番号２のポリペプチドをコードしているポリヌクレオチド配列の変化により、このコード配列中にナンセンス突然変異、ミスセンス突然変異、またはフレームシフト突然変異が発生し、そのことによって、そうした変化後のポリヌクレオチドによってコードされたポリペプチドが変化する可能性がある。
【０３３９】
例えば、本発明のポリヌクレオチド配列は、配列番号１の参照配列と一致していてもよい。すなわち、このポリヌクレオチド配列は、１００％一致していてもよいし、参照配列と比べて所定数までの核酸変化が含まれていてパーセント一致が１００％よりも小さくなっていてもよい。この変化は、少なくとも１つのヌクレオチドの欠失、置換（トランジションやトランスバージョンを含む）、または挿入のいずれかである。またこの変化は、参照ポリヌクレオチド配列の５’末端または３’末端の位置に起こってもよいし、これら末端の間の任意の位置に起こり、参照配列の核酸の間に個別に点在するか、または参照配列内の１つまたはそれ以上の連続的なグループの中に点在していてもよい。所定のパーセント一致に対する変化した核酸の数は、配列番号１の核酸の総数に、パーセント一致を定義する整数を１００で割った値を掛け、次にその積を配列番号１の核酸の総数から差し引くことによって決まる。すなわち、
$n_n \leqq x_n - (x_n \cdot y)$
となる。ここに、n_nは変化した核酸の数であり、x_nは配列番号１の核酸の総数であり、ｙは、例えば７０％の場合に０．７０、８０％の場合に０．８０、８５％の場合に０．８５などであり、・は、積演算の記号であり、x_nとｙの積が非整数になった場合には、その値よりも小さな最も近い整数に丸めた後にx_nから差し引く。
【０３４０】
（２）実施態様のポリペプチドがさらに、配列番号２の参照配列と少なくとも５０、６０、７０、８０、８５、９０、９５、９７、または１００％一致したポリペプチド配列を含む単離されたポリペプチドを含んでいる。このポリペプチド配列は、配列番号２の参照配列と一致していてもよいし、参照配列と比べて所定の数までアミノ酸が変化していてもよい。この変化は、少なくとも１つのアミノ酸の欠失、置換（保存された置換や保存されて

いない置換を含む）、または挿入のいずれかである。またこの変化は、参照ポリペプチド配列のアミノ末端またはカルボキシル末端の位置に起こってもよいし、これら末端の間の任意の位置に起こり、参照配列のアミノ酸の間に個別に点在するか、または参照配列内の１つまたはそれ以上の連続的なグループの中に点在していてもよい。変化するアミノ酸の数は、配列番号２のアミノ酸の総数に、パーセント一致を定義する整数を１００で割った値を掛け、次にその積を配列番号２のアミノ酸の総数から差し引くことによって決まる。すなわち、

$n_a \leqq x_a -(x_a \cdot y)$

となる。ここに、n_aは変化したヌクレオチドの数であり、x_aは配列番号２のアミノ酸の総数であり、ｙは、５０％の場合に０．５０、６０％の場合に０．６０、７０％の場合に０．７０、８０％の場合に０．８０、８５％の場合に０．８５、９０％の場合に０．９０、９５％の場合に０．９５、９７％の場合に０．９７、１００％の場合に１．００であり、・は、積演算の記号であり、x_aとｙの積が非整数になった場合には、その値よりも小さな最も近い整数に丸めた後にx_aから差し引く。

【０３４１】

例えば、本発明のポリペプチド配列は、配列番号２の参照配列と一致していてもよい。すなわち、このポリペプチド配列は、１００％一致していてもよいし、参照配列と比べて所定数までのアミノ酸変化が含まれていてパーセント一致が１００％よりも小さくなっていてもよい。この変化は、少なくとも１つのアミノ酸の欠失、置換（保存された置換や保存されていない置換を含む）、または挿入のいずれかである。またこの変化は、参照ポリペプチド配列のアミノ末端またはカルボキシル末端の位置に起こってもよいし、これら末端の間の任意の位置に起こり、参照配列のアミノ酸の間に個別に点在するか、または参照配列内の１つまたはそれ以上の連続的なグループの中に点在していてもよい。所定のパーセント一致に対する変化するアミノ酸の数は、配列番号２のアミノ酸の総数に、パーセント一致を定義する整数を１００で割った値を掛け、次にその積を配列番号２のアミノ酸の総数から引くことによって決まる。すなわち、

$n_a \leqq x_a -(x_a \cdot y)$

となる。ここに、n_aは変化したアミノ酸の数であり、x_aは配列番号２のアミノ酸の総数であり、ｙは、例えば７０％の場合に０．７０、８０％の場合に０．８０、８５％の場合に０．８５などであり、・は、積演算の記号であり、x_aとｙの積が非整数になった場合には、その値よりも小さな最も近い整数に丸めた後にx_aから差し引く。

【０３４２】

この明細書で生物に関して用いる“個体”は、多細胞真核生物のことを意味する。その中には後生生物、哺乳類、ヒツジ科動物、ウシ科動物、類人猿、霊長類、ヒトが含まれるが、これだけに限定されるわけではない。

【０３４３】

“単離された”とは、天然の状態から“人間の手によって”変えられたことを意味する。すなわち、そうしたことが自然界で起こるならば、もとの環境から変化しているか、隔離されている、あるいはその両者が起こっている。例えば、生物の体内に存在するポリヌクレオチドまたはポリペプチドは“単離されて”はいないが、その同じポリヌクレオチドまたはポリペプチドが自然の状態で共に存在している物質から分離されている場合には、この明細書で用いる意味で“単離されて”いる。さらに、形質転換、遺伝子操作、またはそれ以外の組み換え技術によって生体内に導入されたポリヌクレオチドまたはポリペプチドは、その生体の中にまだ存在しているとしても、その生物が生きているか死んでいるかには関係なく、“単離され”ている。

【０３４４】

“ポリヌクレオチド”とは、一般に、任意のポリリボヌクレオチドまたはポリデオキシリボヌクレオチドのことである。それは修飾されていないＲＮＡまたはＤＮＡでもよいし、修飾されたＲＮＡまたはＤＮＡでもよく、１本鎖の領域と２本鎖の領域を含んでいる。

【０３４５】

“変異体”とは、参照用のポリヌクレオチドまたはポリペプチドとは異なるが、主要な特性は維持しているポリヌクレオチドまたはポリペプチドのことである。ポリヌクレオチドの典型的な変異体は、参照ポリヌクレオチドとヌクレオチド配列が異なっている。変異体のヌクレオチド配列における変化により、参照ポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドのアミノ酸配列が異なることもあるし、異ならないこともある。ヌクレオチドの変化により、参照配列によってコードされるポリペプチドにおいてアミノ酸の置換、付加、欠失、融合、切断が起こることがある。これについては以下に説明する。ポリペプチドの典型的な変異体は、参照ポリペプチドとはアミノ酸配列が異なっている。一般に、差は、参照ポリペプチドの配列と変異体が全体として非常に似ており、多くの領域で配列が一致しているものに限定される。変異体と参照ポリペプチドの違いは、アミノ酸配列において１つまたはそれ以上のアミノ酸の置換、付加、欠失が任意に組み合わさったものである可能性がある。置換または挿入されたアミノ酸残基は、遺伝暗号によってコードされたアミノ酸でもよいし、遺伝暗号によってコードされていないアミノ酸でもよい。ポリヌクレオチドまたはポリペプチドの変異体は、対立遺伝子変異体などの自然に起こる変異体でもよいし、自然に起こることが知られていない変異体でもよい。ポリヌクレオチドまたはポリペプチドの自然には起こらない変異体は、突然変異誘発技術または直接的合成によって作ることができる。

【０３４６】

“疾患”とは、細菌の感染によって起こるあらゆる疾患、または細菌感染と関連したあらゆる疾患のことを意味し、例えば、上気道感染、菌血症や髄膜炎などの侵入性細菌疾患が挙げられる。

【０３４７】

実施例

以下の実施例は、当業者には周知かつ当然となっている標準的な方法で実施する。ただし、別の方法を詳しく記載した場合は別である。実施例は単なる例示であって、本発明がそれだけに限定されることはない。

実施例１

ナイセリア・メニンギティディスＡＴＣＣ１３０９０中のＢＡＳＢ０５１遺伝子

ナイセリア・メニンギティディス菌株ＡＴＣＣ１３０９０のＢＡＳＢ０５１遺伝子を配列番号１に示す。ＢＡＳＢ０５１ポリヌクレオチド配列を翻訳したものが配列番号２に示してあるが、これは、ナイセリア・ゴノロエアエ（Ｎｅｉｓｓｅｒｉａ ｇｏｎｏｒｒｈｏｅａｅ）ＣｏｍＬリポプロテインとの類似性が有意である。ＢＡＳＢ０５１ポリペプチドは、リポタンパク質にシグナル配列に特徴的なリーダー配列を含む。

実施例２

ナイセリア・メニンギティディス株ＡＴＣＣ１３０９０内のＢＡＳＢ０５７遺伝子

ナイセリア・メニンギティディス株ＡＴＣＣ１３０９０のＢＡＳＢ０５７遺伝子を配列番号３に示す。配列番号４中に示すＢＡＳＢ０５７ポリヌクレオチド配列の翻訳物は、ナイセリア・ゴノロエアエＭｔｒＥ外膜リポタンパク質に対する有意な類似性を示す。ＢＡＳＢ０５７ポリペプチドは、リポタンパク質シグナル配列に特徴的なリーダー配列を含む。

実施例３

ナイセリア・メニンギティディス株ＡＴＣＣ１３０９０内のＢＡＳＢ０６０遺伝子

ナイセリア・メニンギティディス株ＡＴＣＣ１３０９０のＢＡＳＢ０６０遺伝子を配列番号５に示す。配列番号６中に示すＢＡＳＢ０６０ポリヌクレオチド配列の翻訳物は、既知のタンパク質のいずれとも有意な類似性を示さなかった。ＢＡＳＢ０６０ポリペプチドは、リポタンパク質シグナル配列に特徴的なリーダー配列を含み、そして外膜リポタンパク質の特徴をもつ。

実施例４

ナイセリア・メニンギティディス株ＡＴＣＣ１３０９０内のＢＡＳＢ０６１遺伝子

ナイセリア・メニンギティディス株ＡＴＣＣ１３０９０のＢＡＳＢ０６１遺伝子を配列番号７に示す。配列番号８中に示すＢＡＳＢ０６１ポリヌクレオチド配列の翻訳物は、ナイ

セリア・メニンギティディスｍｌｐ遺伝子産物に対する有意な類似性を示す。ＢＡＳＢ０６１ポリペプチドは、リポタンパク質シグナル配列に特徴的なリーダー配列を含み、そして外膜リポタンパク質の特徴をもつ。

実施例５

ナイセリア・メニンギティディス株ＡＴＣＣ１３０９０内のＢＡＳＢ０６３遺伝子

ナイセリア・メニンギティディス株ＡＴＣＣ１３０９０のＢＡＳＢ０６３遺伝子を配列番号９に示す。配列番号１０中に示すＢＡＳＢ０６３ポリヌクレオチド配列の翻訳物は、既知のいずれのタンパク質に対しても有意な類似性を示さなかった。しかしながら、ＢＡＳＢ０６３ポリペプチドは、リポタンパク質シグナル配列に特徴的なリーダー配列を含み、そして外膜リポタンパク質の特徴をもつ。

実施例６

ナイセリア・メニンギティディス株ＡＴＣＣ１３０９０内のＢＡＳＢ０６５遺伝子

ナイセリア・メニンギティディス株ＡＴＣＣ１３０９０のＢＡＳＢ０６５遺伝子を配列番号１１に示す。配列番号１２中に示すＢＡＳＢ０６５ポリヌクレオチド配列の翻訳物は、既知のいずれのタンパク質に対しても有意な類似性を示さなかった。しかしながら、ＢＡＳＢ０６５ポリペプチドは、リポタンパク質シグナル配列に特徴的なリーダー配列を含み、そして外膜リポタンパク質の特徴をもつ。

実施例７

ナイセリア・メニンギティディス株ＡＴＣＣ１３０９０内のＢＡＳＢ０６６遺伝子

ナイセリア・メニンギティディス株ＡＴＣＣ１３０９０のＢＡＳＢ０６６遺伝子を配列番号１３に示す。配列番号１４中に示すＢＡＳＢ０６６ポリヌクレオチド配列の翻訳物は、ナイセリア・メニンギティディスＣｔｒＡタンパク質に対する有意な類似性を示す。ＢＡＳＢ０６６ポリペプチドは、リポタンパク質シグナル配列に特徴的なリーダー配列を含み、そして外膜にあるタンパク質の特徴をもつ。

実施例８

ナイセリア・メニンギティディス株ＡＴＣＣ１３０９０内のＢＡＳＢ０７１遺伝子

ナイセリア・メニンギティディス株ＡＴＣＣ１３０９０のＢＡＳＢ０７１遺伝子を配列番号１５に示す。配列番号１６中に示すＢＡＳＢ０７１ポリヌクレオチド配列の翻訳物は、ナイセリア・ゴノロエアエＨｉｓＪタンパク質に対する有意な類似性を示す。ＢＡＳＢ０７１ポリペプチドは、リポタンパク質シグナル配列に特徴的なリーダー配列を含む。

【０３４８】

【化１】

ポリヌクレオチド配列及びポリペプチド配列

配列番号１
ATCC 13090株からのナイセリア・メニンギティディスBASB 051ポリヌクレオチド配列

ATGAAAAAAATTCTTTTAACGGTTTCATTAGGTTTGGCACTGAGTGCCTGTGCCACTCAA
GGTACGGTCGATAAAGATGCTCAGATTACCCAAGATTGGAGTGTGGAGAAGCTCTATGCC
GAAGCCCAGGACGAATTGAACAGCAGCAATTATACGCGGGCTGTCAAGTTATACGAAATC
TTGGAATCGCGCTTCCCCACCAGCCGCCATGCCCGGCAATCCCAACTGGATACCGCATAC
GCCTATTATAAAGACGATGAAAAAGACAAGGCTCTGGCGGCAATCGAACGCTTCCGCCGC
CTCCATCCGCAGCATCCGAATATGGATTACGCGCTGTATCTGCGCGGCTTGGTGCTGTTC
AACGAAGACCAGTCCTTCTTGAACAAACTGGCCTCGCAAGACTGGTCCGACCGCGACCCG
AAAGCCAACCGCGAAGTAACCCAGGCGTTTGCGGAACTCGTCCAACGCTTCCCCAACAGC
AAATACGCCGCCGATGCGACCGCACGCATGGTCAAACTGGTCGATGCACTGGGCGGCAAT
GAAATGTCGGTGGCGCGCTACTACATGAAACGCGGCGCATATATCGCCGCCGCCAACCGC
GCCCAAAAAATTATCGGCAGCTACCAAAATACACGCTATGTCGAAGAATCGCTCGCCATC
TTGGAACTTGCCTACCAAAAACTCGGCAAACCACAGCTTGCCGCCGATACGCGCCGCGTG
TTGGAAACCAACTTCCCGAAAAGCCCGTTTTTGACGCACGCTTGGCAGCCCGACGATATG
CCTTGGTGGCGTTACTGGCATTAA

配列番号２
配列番号１のポリヌクレオチド配列から演繹されたナイセリア・メニンギティディスBASB 051ポリペプチド配列

MKKILLTVSLGLALSACATQGTVDKDAQITQDWSVEKLYAEAQDELNSSNYTRAVKLYEI
LESRFPTSRHARQSQLDTAYAYYKDDEKDKALAAIERFRRLHPQHPNMDYALYLRGLVLF
NEDQSFLNKLASQDWSDRDPKANREVTQAFAELVQRFPNSKYAADATARMVKLVDALGGN
EMSVARYYMKRGAYIAAANRAQKIIGSYQNTRYVEESLAILELAYQKLGKPQLAADTRRV
LETNFPKSPFLTHAWQPDDMPWWRYWH

配列番号３
ATCC 13090からのナイセリア・メニンギティディスBASB 057ポリヌクレオチド配列

ATGGATACTACATTGAAAACCACCTTGACTTCTGTTGCAGCAGCCTTCGCATTATCCGCC
TGCACCATGATTCCCCAATACGAGCAGCCCAAAGTCGAAGTTGCCGAAACGTTTAAAAAC
GATACCGCCGACAGCGGCATCCGTGCGGTCGATTTAGGTTGGCATGACTATTTTGCCGAC
CCGCGCCTGCAAAAGCTGATCGACATCGCACTCGAGCGCAATACCAGTTTGCGTACCGCC
GTATTGAACAGCGAAATCTACCGCAAACAATACATGATTGAGCGCAACAACCTCCTGCCC
ACGCTTGCCGCCAATGCGAACGGCTCGCGCCAAGGCAGCTTGAGCGGCGGCAATGTCAGC
AGCAGCTACAATGTCGGACTGGGTGCGGCATCTTACGAACTCGACCTGTTCGGACGCGTC
CGCAGCAGCAGCGAAGCAGCACTGCAAGGCTATTTTGCAAGTGTCGCCAACCGCGATGCG
GCACATTTGAGCCTGATTGCCACCGTTGCCAAAGCCTATTTCAACGAACGTTATGCCGAA
GAAGCGATGTCTTTGGCGCAGCGTGTTTTGAAAACGCGCGAGGAAACCTACAAGCTGTCC
GAATTACGTTACAAGGCAGGCGTGATTTCCGCCGTCGCCCTACGTCAGCAGGAAGCCCTG
ATCGAATCTGCCAAAGCCGATTATGCCCATGCCGCGCGCAGCCGCGAACAGGCGCGCAAT
GCCTTGGCAACCTTGATTAACCAACCGATACCCGAAGACCTGCCTGCCGGTTTGCCGCTG
GACAAGCAGTTTTTTGTTGAAAAACTGCCGGCCGGTTTGAGTTCCGAAGTATTGCTCGAC
CGTCCCGATATCCGTGCTGCCGAACACGCGCTCAAACAGGCAAACGCCAATATCGGTGCG
GCACGCGCCGCCTTTTTCCCATCCATCCGCCTGACCGGAACCGTCGGTACGGGTTCTGCC

【０３４９】
【化２】

GAATTGGGTGGGTTGTTCAAAAGCGGCACGGGCGTTTGGTCGTTCGCGCCGTCTATTACC
CTGCCGATTTTTACCTGGGGTACGAACAAAGCCAACCTTGATGTAGCCAAGCTGCGCCAA
CAGGCACAAATCGTTGCCTATGAAGCCGCCGTCCAATCCGCATTTCAAGACGTGGCAAAC
GCATTGGCGGCGCGCGAGCAGCTGGATAAAGCCTATGACGCTTTAAGCAAACAAAGCCGC
GCCTCTAAAGAGGCGTTGCGCTTGGTCGGCCTGCGTTACAAGCACGGCGTATCCGGCGCG
CTCGACTTGCTCGATGCGGAACGCAGCAGCTATGCGGCGGAGGGTGCGGCTTTGTCGGCA
CAACTGACCCGCGCCGAAAACCTTGCCGATTTGTACAAGGCACTCGGCGGCGGATTGAAA
CGGGATACCCAAACCGACAAATAA

配列番号４
配列番号３のポリヌクレオチド配列から演繹されたナイセリア・メニンギティディスBASB 057ポリペプチド配列

MDTTLKTTLTSVAAAFALSACTMIPQYEQPKVEVAETFKNDTADSGIRAVDLGWHDYFAD
PRLQKLIDIALERNTSLRTAVLNSEIYRKQYMIERNNLLPTLAANANGSRQGSLSGGNVS
SSYNVGLGAASYELDLFGRVRSSSEAALQGYFASVANRDAAHLSLIATVAKAYFNERYAE
EAMSLAQRVLKTREETYKLSELRYKAGVISAVALRQQEALIESAKADYAHAARSREQARN
ALATLINQPIPEDLPAGLPLDKQFFVEKLPAGLSSEVLLDRPDIRAAEHALKQANANIGA
ARAAFFPSIRLTGTVGTGSAELGGLFKSGTGVWSFAPSITLPIFTWGTNKANLDVAKLRQ
QAQIVAYEAAVQSAFQDVANALAAREQLDKAYDALSKQSRASKEALRLVGLRYKHGVSGA
LDLLDAERSSYAAEGAALSAQLTRAENLADLYKALGGGLKRDTQTDK

配列番号５
ATCC 13090株からのナイセリア・メニンギティディスBASB 060ポリヌクレオチド配列

ATGAAAAAACTTCTAATGATAACCCTCACCGGTATGCTTGCAGCTTGTGCAACAGGTGTC
AATGTCGGCCGGTTGATGGTTGAAATGCCGCAGGGAGAACGTTCTGTCGTTGTGCAGGTT
CCCGCGACAAATAACCCGCTTTCCGATACGGTAGCTGTCGGAATGATTAAAACATCCGGT
TCGCCTTCGGCATCAAATATGATTGAAATGCTCGGCGCGGACAATATCAACGTCGGCGTG
GTGGGAAGCAGCCAAATGCTTAATAAGGCGACCGCACTTTATTCCTTAAACCATGCAAAG
AAAGTCGGAAATAATGTCAGTGTTTATATGATGGGCGACAGCGAAAGTGACAAGGCCGAT
TTGGAAAACGCGGCAAATGCCAAAAATATCAAATTGCATTATTTCTTTAACCAAAAATAA

配列番号６
配列番号５のポリヌクレオチド配列から演繹されたナイセリア・メニンギティディスBASB 060ポリペプチド配列

MKKLLMITLTGMLAACATGVNVGRLMVEMPQGERSVVVQVPATNNPLSDTVAVGMIKTSG
SPSASNMIEMLGADNINVGVVGSSQMLNKATALYSLNHAKKVGNNVSVYMMGDSESDKAD
LENAANAKNIKLHYFFNQK

配列番号７
ATCC 13090株からのナイセリア・メニンギティディスBASB 061ポリヌクレオチド配列

ATGAAAATCAAACAAATCGTCAAACCGGGCTTGGCAGTATTGGCGGCGGGCGTTCTGTCT
GCCTGCGCAACCAAAAGCAACGTCAAAGCCGACGGAACGACCGACAATCCGGTTTTCCCG
AAACCCTATTCCGTAACGCTCGACAACAATCGCGGTACATTCCCGACCTATGACGAATTG

【０３５０】
【化３】

GACTTGATGCGTCCCGGTCTGACCAAAGACGACATCTACAAAATCCTGGGTCGTCCGCAT
TACGACGAAGGTATGTACGGCGTGCGCGAATGGGATTATCTGTTCCACTTCCACACCCCG
GGCGTAGGCATCGACCCTGAAAACACTTCCGGCGTAGAAGGCATTACCACCTGTCAATAC
AAAATTATTTTCGATAAAGACAAATTTGCCCGCAGCTTCTACTGGAACCCCGTCTTCCCG
AAAGATGCCGCCTGTCCGCCGCCCGCACCCAAAGCCGAGCCGCAAgTCATCATCCGCGAA
ATCGTGCCCGCCAAAcCCAAACGCATCCGCCAATAA

配列番号８
配列番号７のポリヌクレオチド配列から演繹されたナイセリア・メニンギティディスBASB 061ポリペプチド配列

MKIKQIVKPGLAVLAAGVLSACATKSNVKADGTTDNPVFPKPYSVTLDNNRGTFPTYDEL
DLMRPGLTKDDIYKILGRPHYDEGMYGVREWDYLFHFHTPGVGIDPENTSGVEGITTCQY
KIIFDKDKFARSFYWNPVFPKDAACPPPAPKAEPQVIIREIVPAKPKRIRQ

配列番号９
ATCC 13090株からのナイセリア・メニンギティディスBASB 063ポリヌクレオチド配列

ATGAGACCATATGCTACTACCATTTATCAACTTTTTATTTTGTTTATTGGGAGTGTTTTT
ACTATGACCTCATGTGAACCTGTGAATGAAAAGACAGATCAAAAAGCAGTAAGTGCGCAA
CAGGCTAAAGAACAAACCAGTTTCAACAATCCCGAGCCAATGACAGGATTTGAACATACG
GTTACATTTGATTTTCAGGGCACCAAAATGGTTATCCCCTATGGCTATCTTGCACGGTAT
ACGCAAGACAATGCCACAAAATGGCTTTCCGACACGCCCGGGCAGGATGCTTACTCCATT
AATTTGATAGAGATTAGCGTCTATTACAAAAAAACCGACCAAGGCTGGGTTCTTGAGCCA
TACAACCAGCAAAACAAAGCACACTTTATCCAATTTCTACGCGACGGTTTGGATAGCGTG
GACGATATTGTTATCCGAAAAGATGCGTGTAGTTTAAGTACGACTATGGGAGAAAGATTG
CTTACTTACGGGGTTAAAAAAATGCCATCTGCCTATCCTGAATACGAGGCTTATGAAGAT
AAAAGACATATTCCTGAAAATCCATATTTTCATGAATTTTACTATATTAAAAAAGGAGAA
AATCCGGCGATTATTACTCATCGGAATAATCGAATAAACCAAACTGAAGAAGATAGTTAT
AGCACTAGCGTAGGTTCCTGTATTAACGGTTTCACGGTACAGTATTACCCGTTTATTCGG
GAAAAGCAGCAGCTCACACAGCAGGAGTTGGTAGGTTATCACCAACAAGTAGAGCAATTG
GTACAGAGTTTTGTAAACAATTCAAATAAAAAATAA

配列番号10
配列番号９のポリヌクレオチド配列から演繹されたナイセリア・メニンギティディスBASB 063ポリペプチド配列

MRPYATTIYQLFILFIGSVFTMTSCEPVNEKTDQKAVSAQQAKEQTSFNNPEPMTGFEHT
VTFDFQGTKMVIPYGYLARYTQDNATKWLSDTPGQDAYSINLIEISVYYKKTDQGWVLEP
YNQQNKAHFIQFLRDGLDSVDDIVIRKDACSLSTTMGERLLTYGVKKMPSAYPEYEAYED
KRHIPENPYFHEFYYIKKGENPAIITHRNNRINQTEEDSYSTSVGSCINGFTVQYYPFIR
EKQQLTQQELVGYHQQVEQLVQSFVNNSNKK

配列番号11
ATCC 13090株からのナイセリア・メニンギティディスBASB 065ポリヌクレオチド配列

ATGAAGACCAAATTACCGCTTTTTATCATTTGGCTGTCCGTATCCGCCGCCTGTTCTTCC

【０３５１】
【化４】

CCTGTTTCCCGCAATATTCAGGATATGCGGCCCGAACCGCAGGCAGAGGCAGGTAGTTCG
GACGCTATTCCCTATCCCGTTCCCACTCTGCAAGACCGTTTGGATTATCTGGAAGGCACA
CTCGTCCGCCTGTCGAACGAAGTGGAAACCTTAAACGGCAAAGTCAAAGCACTGGAGCAT
GCGAAAACACACCCTTCCGGTAGGGCATACGTCCAAAAACTCGACGACCGCAAGTTGAAA
GAGCATTACCTCAATACCGAAGGCGGCAGCGCATCCGCACATACCGTCGAAACCGCACAA
AACCTCTACAATCAGGCACTCAAACACTATAAAAGCGGCAGGTTTTCTGCCGCAGCCGCC
CTGTTGAAAGGCGCGGACGGAGGCGACGGCGGCAGCATCGCGCAACGCAGTATGTACCTG
TTGCTGCAAAGCAGGGCGCGTATGGGCAACTGCGAATCCGTCATCGAAATCGGAGGGCGT
TACGCCAACCGTTTCAAAGACAGCCCAACCGCGCCCGAAGCCATGTTCAAAATCGGCGAA
TGCCAATACAGGTTGCAGCAGAAAGACATTGCAAGGGCAACTTGGCGCAGCCTGATACAG
GCTTACCCGAGCAGCCCGGCGGCAAAACGCGCCGCCGCAGCCGTACGCAAACGATAG

配列番号12
配列番号11のポリヌクレオチド配列から演繹されたナイセリア・メニンギティディスBASB 065ポリペプチド配列

MKTKLPLFIIWLSVSAACSSPVSRNIQDMRPEPQAEAGSSDAIPYPVPTLQDRLDYLEGT
LVRLSNEVETLNGKVKALEHAKTHPSGRAYVQKLDDRKLKEHYLNTEGGSASAHTVETAQ
NLYNQALKHYKSGRFSAAAALLKGADGGDGGSIAQRSMYLLLQSRARMGNCESVIEIGGR
YANRFKDSPTAPEAMFKIGECQYRLQQKDIARATWRSLIQAYPSSPAAKRAAAAVRKR

配列番号13
ATCC 13090株からのナイセリア・メニンギティディスBASB 066ポリヌクレオチド配列

GTGTTTAAAGTGAAATTTTATATTCGTCACGCAGTATTATTATTGTGTGGAAGTTTAATT
GTAGGATGCTCTGCGATTCCTTCATCAGGCCCCAGCGCAAAAAAAATTGTCTCTTTAGGG
CAACAATCTGAAGTTCAAATTCCTGAAGTGGAGCTGATTGATGTGAATCATACGGTTGCT
CAGTTATTATATAAGGCTCAGATAAATCAGTCATTCACTCAGTTTGGCGATGGTTATGCT
TCGGCTGGTACGCTAAATATTGGTGATGTATTGGATATTATGATTTGGGAAGCGCCGCCG
GCAGTATTGTTTGGTGGTGGCCTTTCTTCGATGGGCTCGGGTAGTGCGCATCAAACTAAG
TTGCCAGAGCAGTTGGTCACGGCACGTGGTACGGTTTCTGTGCCGTTTGTTGGCGATATT
TCGGTGGTCGGTAAAACGCCTGGTCAGGTTCAGGAAATTATTAAAGGCCGCCTGAAAAAA
ATGGCCAATCAGCCACAAGTGATGGTGCGTTTGGTGCAGAATAATGCGGCGAATGTGTCG
GTGATTCGTGCTGGGAATAGTGTGCGTATGCCGCTGACGGCAGCCGGTGAGCGTGTGTTG
GATGCGGTGGCTGCGGTAGGTGGTTCAACGGCAAATGTGCAGGATACGAATGTGCAGCTG
ACACGTGGCAATGTAGTACGAACTGTTGCCTTGGAAGATTTAGTTGCAAATCCGCGACAA
AATATTTTGCTGCGTCGCGGTGATGTGGTTACCATGATTACCAATCCCTATACCTTTACG
TCTATGGGTGCGGTGGGGAGAACACAAGAAATCGGTTTTTCAGCCAGAGGCTTATCGCTT
TCTGAAGCCATTGGCCGTATGGGCGGTTTGCAAGATCGCCGTTCTGATGCGCGTGGTGTG
TTTGTGTTCCGCTATACGCCATTGGTGGAATTGCCGGCAGAACGTCAGGATAAATGGATT
GCTCAAGGTTATGGCAGTGAGGCAGAGATTCCAACGGTATATCGTGTGAATATGGCTGAT
GCGCATTCGCTATTTTCTATGCAGCGCTTTCCTGTGAAGAATAAAGATGTATTGTATGTG
TCGAATGCGCCGTTGGCTGAAGTGCAGAAATTCTTGTCGTTTGTGTTCTCGCCGGTTACC
AGTGGCGCGAACAGTATTAATAATTTAACTAATTAA

配列番号14
配列番号13のポリヌクレオチド配列から演繹されたナイセリア・メニンギティディスBASB 066ポリペプチド配列

【０３５２】
【化５】

MFKVKFYIRHAVLLLCGSLIVGCSAIPSSGPSAKKIVSLGQQSEVQIPEVELIDVNHTVA
QLLYKAQINQSFTQFGDGYASAGTLNIGDVLDIMIWEAPPAVLFGGGLSSMGSGSAHQTK
LPEQLVTARGTVSVPFVGDISVVGKTPGQVQEIIKGRLKKMANQPQVMVRLVQNNAANVS
VIRAGNSVRMPLTAAGERVLDAVAAVGGSTANVQDTNVQLTRGNVVRTVALEDLVANPRQ
NILLRRGDVVTMITNPYTFTSMGAVGRTQEIGFSARGLSLSEAIGRMGGLQDRRSDARGV
FVFRYTPLVELPAERQDKWIAQGYGSEAEIPTVYRVNMADAHSLFSMQRFPVKNKDVLYV
SNAPLAEVQKFLSFVFSPVTSGANSINNLTN

配列番号15
ATCC 13090株からのナイセリア・メニンギティディスBASB 071ポリヌクレオチド配列

ATGAATATGAAAAAATGGATTGCCGCCGCCCTTGCCTGTTCCGCGCTCGCGCTGTCTGCC
TGCGGCGGTCAGGGCAAAGATGCCGCCGCGCCCGCCGCAAACCCCGACAAAGTGTACCGC
GTGGCTTCCAACGCCGAGTTTGCCCCCTTTGAATCTTTAGACTCGAAAGGCAATGTTGAA
GGTTTCGATGTGGATTTGATGAACGCGATGGCGAAGGCGGGCAATTTTAAAATCGAATTC
AAACACCAGCCGTGGGACAGCCTTTTCCCCGCCTTGAACAACGGCGATGCGGACGTTGTG
ATGTCGGGCGTAACCATTACCGACGACCGCAAACAGTCTATGGACTTCAGCGACCCGTAT
TTTGAAATCACCCAAGTCGTCCTCGTTCCGAAAGGCAAAAAAATATCTTCTTCCGAAGAT
TTGAAAAACATGAACAAAGTCGGCGTGGTAACCGGCTACACGGGCGATTTCTCCGTATCC
AAACTCTTGGGCAACGACAACCCGAAAATCGCGCGCTTTGAAAACGTTCCCCTGATTATC
AAAGAACTGGAAAACGGCGGCTTGGATTCCGTGGTCAGCGACAGCGCAGTCATCGCCAAT
TATGTGAAAAACAATCCGACCAAAGGGATGGACTTCGTTACCCTGCCCGACTTCACCACC
GAACACTACGGCATCGCGGTACGCAAAGGCGACGAAGCAACCGTCAAAATGCTGAACGAT
GCGTTGAAAAAAGTACGCGAAAGCGGCGAATACGACAAAATCTACGCCAAATATTTTGCA
AAAGAAGACGGACAGGCCGCAAAATAA

配列番号16
配列番号15のポリヌクレオチド配列から演繹されたナイセリア・メニンギティディスBASB 071ポリペプチド配列

MNMKKWIAAALACSALALSACGGQGKDAAAPAANPDKVYRVASNAEFAPFESLDSKGNVE
GFDVDLMNAMAKAGNFKIEFKHQPWDSLFPALNNGDADVVMSGVTITDDRKQSMDFSDPY
FEITQVVLVPKGKKISSSEDLKNMNKVGVVTGYTGDFSVSKLLGNDNPKIARFENVPLII
KELENGGLDSVVSDSAVIANYVKNNPTKGMDFVTLPDFTTEHYGIAVRKGDEATVKMLND
ALKKVRESGEYDKIYAKYFAKEDGQAAK

【０３５３】
【表１】

出願人のファイル番号　KP/BM45348	国際出願

寄託された微生物に関する表示
(PCT Rule 13 bis)

A. 明細書の110頁２～22行に言及した微生物に関する表示	
B．寄託の特定 他の寄託が別紙に記載されている　□	
寄託機関の名称 AMERICAN TYPE CULTURE COLLECTION	
寄託機関のあて名（郵便番号及び国名を含む） 10801 UNIVERSITY BLVD, MANASSAS, VIRGINIA 20110-2209, UNITED STATES OF AMERICA	
寄託日 1997年６月22日（22.06.97）	寄託番号 13090
C．追加記載（該当しない場合には空白にしておく）この情報は添付別紙に続いている　□	
ヨーロッパ特許が求められるこれらの寄託に関し、寄託された微生物のサンプルは、ヨーロッパ特許の付与の公表まで、又は出願が拒絶され又は取り下げられもしくは取り下げられたものとみなされるまで入手可能となるであろう。但し、該サンプルを要求する人によって指名された専門家にのみそのようなサンプルを与える。	
D．この記載が目的とする指定国（すべての指定国を目的としないとき）	
E．別個の表示の届出（該当しない場合には空白にしておく）	
下記の表示は国際事務局に届け出る予定である。（例えば「受託番号」のように表示事項を明記する）	

受理官庁使用のみ	国際事務局使用のみ
□この用紙は国際出願と共に出願時に受理された。	□国際事務局が受理した日：
権限のある職員	権限のある職員

【０３５４】
寄託した材料
ナイセリア・メニンギティディス血清型Ｂ株を含む寄託物を１９９７年６月２２日にアメリカ基準培養コレクション（この明細書では“ＡＴＣＣ”と表記）に寄託し、寄託番号１３０９０が与えられた。この寄託物はナイセリア・メニンギティディス（アルブレヒトとゴーン）と表記され、ナイセリア・メニンギティディス単離体から構成された、凍結乾燥された１．５～２．９ｋｂの挿入体ライブラリーである。この寄託物は、Ｉｎｔ．Ｂｕｌｌ．Ｂａｃｔｅｒｉｏｌ．Ｎｏｍｅｎｃｌ．Ｔａｘｏｎ．、第８巻、１～１５ページ、１９５８年に記載されている。
【０３５５】
ナイセリア・メニンギティディス菌株寄託物は、この明細書では、“寄託された菌株”ま

たは“寄託された菌株のＤＮＡ”と呼ぶ。

【０３５６】

寄託された菌株は、完全長ＢＡＳＢ０５１、ＢＡＳＢ０５７、ＢＡＳＢ０６０、ＢＡＳＢ０６１、ＢＡＳＢ０６３、ＢＡＳＢ０６５、ＢＡＳＢ０６６、及びＢＡＳＢ０７１遺伝子を含んでいる。寄託された菌株に含まれているポリヌクレオチドの配列と、それによってコードされるポリペプチドのアミノ酸配列は、この明細書における配列の記述と何らかの問題が起こったときに照合する対象となる。

【０３５７】

菌株の寄託は、特許手続き上の微生物の寄託の国際的承認に関するブダペスト条約に基づいてなされた。菌株は、特許発行の際に一般に対して公開されてそれが取り消されることはなく、しかもその際の制約または条件もない。寄託された菌株は当業者の便宜のために提供されるだけであり、３５ＵＳＣ§１１２のもとで必要とされるように、寄託が効力発生のために必要とされることを認めるものではない。

【国際公開パンフレット】

PCT WORLD INTELLECTUAL PROPERTY ORGANIZATION
International Bureau

INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(51) International Patent Classification 7 :
C12N 15/31, C07K 14/22, A61K 39/095, C07K 16/12, G01N 33/569

A2

(11) International Publication Number: **WO 00/42191**

(43) International Publication Date: 20 July 2000 (20.07.00)

(21) International Application Number: PCT/EP00/00135

(22) International Filing Date: 10 January 2000 (10.01.00)

(30) Priority Data:

9900952.4	15 January 1999 (15.01.99)	GB
9900838.5	15 January 1999 (15.01.99)	GB
9901945.7	28 January 1999 (28.01.99)	GB
9901948.1	28 January 1999 (28.01.99)	GB
9902078.6	29 January 1999 (29.01.99)	GB
9902088.5	29 January 1999 (29.01.99)	GB
9902074.5	29 January 1999 (29.01.99)	GB
9902879.7	9 February 1999 (09.02.99)	GB
9902936.5	10 February 1999 (10.02.99)	GB
9903978.6	20 February 1999 (20.02.99)	GB
9904133.7	23 February 1999 (23.02.99)	GB
9904404.2	25 February 1999 (25.02.99)	GB

(71) Applicant *(for all designated States except US)*: SMITHKLINE BEECHAM BIOLOGICALS S.A. [BE/BE]; Rue de l'Institut 89, B–1330 Rixensart (BE).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants *(for US only)*: RUELLE, Jean–Louis [BE/BE]; SmithKline Beecham Biologicals S.A., Rue de l'Institut 89, B–1330 Rixensart (BE). THONNARD, Joelle [BE/BE]; SmithKline Beecham Biologicals S.A., Rue de l'Institut 89, B–1330 Rixensart (BE).

(74) Agent: PRIVETT, Kathryn, Louise; SmithKline Beecham, Two New Horizons Court, Brentford, Middlesex TW8 9EP (GB).

(81) Designated States: AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published
Without international search report and to be republished upon receipt of that report.

(54) Title: NOVEL COMPOUNDS

(57) Abstract

The invention provides BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 and BASB071 polypeptides, and polynucleotides encoding BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 and BASB071 polypeptides, and methods for producing such polypeptides by recombinant techniques. Also provided are diagnostic, prophylactic and therapeutic uses.

FOR THE PURPOSES OF INFORMATION ONLY

Codes used to identify States party to the PCT on the front pages of pamphlets publishing international applications under the PCT.

AL	Albania	ES	Spain	LS	Lesotho	SI	Slovenia
AM	Armenia	FI	Finland	LT	Lithuania	SK	Slovakia
AT	Austria	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Senegal
AU	Australia	GA	Gabon	LV	Latvia	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaijan	GB	United Kingdom	MC	Monaco	TD	Chad
BA	Bosnia and Herzegovina	GE	Georgia	MD	Republic of Moldova	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tajikistan
BE	Belgium	GN	Guinea	MK	The former Yugoslav Republic of Macedonia	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Greece			TR	Turkey
BG	Bulgaria	HU	Hungary	ML	Mali	TT	Trinidad and Tobago
BJ	Benin	IE	Ireland	MN	Mongolia	UA	Ukraine
BR	Brazil	IL	Israel	MR	Mauritania	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Iceland	MW	Malawi	US	United States of America
CA	Canada	IT	Italy	MX	Mexico	UZ	Uzbekistan
CF	Central African Republic	JP	Japan	NE	Niger	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NL	Netherlands	YU	Yugoslavia
CH	Switzerland	KG	Kyrgyzstan	NO	Norway	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Democratic People's Republic of Korea	NZ	New Zealand		
CM	Cameroon			PL	Poland		
CN	China	KR	Republic of Korea	PT	Portugal		
CU	Cuba	KZ	Kazakstan	RO	Romania		
CZ	Czech Republic	LC	Saint Lucia	RU	Russian Federation		
DE	Germany	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DK	Denmark	LK	Sri Lanka	SE	Sweden		
EE	Estonia	LR	Liberia	SG	Singapore		

Novel Compounds

FIELD OF THE INVENTION

This invention relates to polynucleotides, (herein referred to as "BASB051 polynucleotide(s)", "BASB057 polynucleotide(s)", "BASB060 polynucleotide(s)", "BASB061 polynucleotide(s)", "BASB063 polynucleotide(s)", "BASB065 polynucleotide(s)", "BASB066 polynucleotide(s)" and "BASB071 polynucleotide(s)"), polypeptides encoded by them (referred to herein as "BASB051", "BASB057", "BASB060", "BASB061", "BASB063", "BASB065", "BASB066" and "BASB071" respectively or "BASB051 polypeptide(s)", BASB057 polypeptide(s)", BASB060 polypeptide(s)", BASB061 polypeptide(s)", BASB063 polypeptide(s)", BASB065 polypeptide(s)", BASB066 polypeptide(s)" and BASB071 polypeptide(s)" respectively), recombinant materials and methods for their production. In another aspect, the invention relates to methods for using such polypeptides and polynucleotides, including vaccines against bacterial infections. In a further aspect, the invention relates to diagnostic assays for detecting infection of certain pathogens.

BACKGROUND OF THE INVENTION

Neisseria meningitidis (meningococcus) is a Gram-negative bacterium frequently isolated from the human upper respiratory tract. It occasionally causes invasive bacterial diseases such as bacteremia and meningitis. The incidence of meningococcal disease shows geographical seasonal and annual differences (Schwartz, B., Moore, P.S., Broome, C.V.; Clin. Microbiol. Rev. 2 (Supplement), S18-S24, 1989). Most disease in temperate countries is due to strains of serogroup B and varies in incidence from 1-10/100,000/year total population sometimes reaching higher values (Kaczmarski, E.B. (1997), Commun. Dis. Rep. Rev. 7: R55-9, 1995; Scholten, R.J.P.M., Bijlmer, H.A., Poolman, J.T. et al. Clin. Infect. Dis. 16: 237-246, 1993; Cruz, C., Pavez, G., Aguilar, E., et al. Epidemiol. Infect. 105: 119-126, 1990).

Epidemics dominated by serogroup A meningococci, mostly in central Africa, are encountered, sometimes reaching levels up to 1000/100.000/year (Schwartz, B., Moore, P.S., Broome, C.V. Clin. Microbiol. Rev. 2 (Supplement), S18-S24, 1989). Nearly all cases as a whole of meningococcal disease are caused by serogroup A, B, C, W-135 and Y meningococci and a tetravalent A, C, W-135, Y polysaccharide vaccine is available (Armand, J., Arminjon, F., Mynard, M.C., Lafaix, C., J. Biol. Stand. 10: 335-339, 1982).

The polysaccharide vaccines are currently being improved by way of chemical conjugating them to carrier proteins (Lieberman, J.M., Chiu, S.S., Wong, V.K., et al. JAMA 275 : 1499-1503, 1996).

A serogroup B vaccine is not available, since the B capsular polysaccharide was found to be nonimmunogenic, most likely because it shares structural similarity to host components (Wyle, F.A., Artenstein, M.S., Brandt, M.L. et al. J. Infect. Dis. 126: 514-522, 1972; Finne, J.M., Leinonen, M., Mäkelä, P.M. Lancet ii.: 355-357, 1983).

For many years efforts have been initiated and carried out to develop meningococcal outer membrane based vaccines (de Moraes, J.C., Perkins, B., Camargo, M.C. et al. Lancet 340: 1074-1078, 1992; Bjune, G., Hoiby, E.A. Gronnesby, J.K. et al. 338: 1093-1096, 1991). Such vaccines have demonstrated efficacies from 57% - 85% in older children (>4 years) and adolescents.

Many bacterial outer membrane components are present in these vaccines, such as PorA, PorB, Rmp, Opc, Opa, FrpB and the contribution of these components to the observed protection still needs futher definition. Other bacterial outer membrane components have been defined by using animal or human antibodies to be potentially relevant to the induction of protective immunity, such as TbpB and NspA (Martin, D., Cadieux, N., Hamel, J., Brodeux, B.R., J. Exp. Med. 185: 1173-1183, 1997; Lissolo, L., Maître-Wilmotte, C., Dumas, p. et al.,

Inf. Immun. 63: 884-890, 1995). The mechanisms of protective immunity will involve antibody mediated bactericidal activity and opsonophagocytosis.

A bacteremia animal model has been used to combine all antibody mediated mechanisms (Saukkonen, K., Leinonen, M., Abdillahi, H. Poolman, J. T. Vaccine 7: 325-328, 1989). It is generally accepted that the late complement component mediated bactericidal mechanism is crucial for immunity against meningococcal disease (Ross, S.C., Rosenthal P.J., Berberic, H.M., Densen, P. J. Infect. Dis. 155: 1266-1275, 1987).

The frequency of *Neisseria meningitidis* infections has risen dramatically in the past few decades. This has been attributed to the emergence of multiply antibiotic resistant strains and an increasing population of people with weakened immune systems. It is no longer uncommon to isolate *Neisseria meningitidis* strains that are resistant to some or all of the standard antibiotics. This phenomenon has created an unmet medical need and demand for new anti-microbial agents, vaccines, drug screening methods, and diagnostic tests for this organism.

SUMMARY OF THE INVENTION

The present invention relates to BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066, and BASB071, in particular BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066, and BASB071 polypeptides and BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066, and BASB071 polynucleotides, recombinant materials and methods for their production. In another aspect, the invention relates to methods for using such polypeptides and polynucleotides, including prevention and treatment of microbial diseases, amongst others. In a further aspect, the invention relates to diagnostic assays for detecting diseases associated with microbial infections and conditions associated with such infections, such as assays for detecting expression or activity of BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066, and BASB071 polynucleotides or polypeptides.

Various changes and modifications within the spirit and scope of the disclosed invention will become readily apparent to those skilled in the art from reading the following descriptions and from reading the other parts of the present disclosure.

5

DESCRIPTION OF THE INVENTION

The invention relates to BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066, and BASB071 polypeptides and polynucleotides as described in greater detail
10 below. The invention relates especially to BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066, and BASB071 having the nucleotide and amino acid sequences set out in SEQ ID NO:1,3,5,7,9,11,13,15 and SEQ ID NO:2,4,6,8,10,12,14,16 respectively. It is understood that sequences recited in the Sequence Listing below as "DNA" represent an exemplification of one embodiment of the invention, since those of
15 ordinary skill will recognize that such sequences can be usefully employed in polynucleotides in general, including ribopolynucleotides.

Polypeptides

In one aspect of the invention there are provided polypeptides of *Neisseria meningitidis*
20 referred to herein as "BASB051", "BASB057", "BASB060", "BASB061", "BASB063", "BASB065", "BASB066" and "BASB071", and "BASB051 polypeptides", "BASB057 polypeptides", "BASB060 polypeptides", "BASB061 polypeptides", "BASB063 polypeptides", "BASB065 polypeptides", "BASB066 polypeptides", and "BASB071 polypeptides" as well as biologically, diagnostically, prophylactically, clinically or
25 therapeutically useful variants thereof, and compositions comprising the same.

The present invention further provides for:

(a) an isolated polypeptide which comprises an amino acid sequence which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, most preferably at least 97-99% or exact identity, to that of SEQ ID NO:2.

(b) a polypeptide encoded by an isolated polynucleotide comprising a polynucleotide sequence which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, even more preferably at least 97-99% or exact identity to SEQ ID NO:1 over the entire length of SEQ ID NO:1.

(c) a polypeptide encoded by an isolated polynucleotide comprising a polynucleotide sequence encoding a polypeptide which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, even more preferably at least 97-99% or exact identity, to the amino acid sequence of SEQ ID NO:2.

The BASB051 polypeptide provided in SEQ ID NO:2 is the BASB051 polypeptide from *Neisseria meningitidis* strain ATCC13090.

The invention also provides an immunogenic fragment of a BASB051 polypeptide, that is, a contiguous portion of the BASB051 polypeptide which has the same or substantially the same immunogenic activity as the polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO:2. That is to say, the fragment (if necessary when coupled to a carrier) is capable of raising an immune response which recognises the BASB051 polypeptide. Such an immunogenic fragment may include, for example, the BASB051 polypeptide lacking an N-terminal leader sequence, and/or a transmembrane domain and/or a C-terminal anchor domain. In a preferred aspect the immunogenic fragment of BASB051 according to the invention comprises substantially all of the extracellular domain of a polypeptide which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, most preferably at least 97-99% identity, to that of SEQ ID NO:2 over the entire length of SEQ ID NO:2.

The present invention further provides for:

(a) an isolated polypeptide which comprises an amino acid sequence which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, most preferably at least 97-99% or exact identity, to that of SEQ ID NO:4.

(b) a polypeptide encoded by an isolated polynucleotide comprising a polynucleotide sequence which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, even more preferably at least 97-99% or exact identity to SEQ ID NO:3 over the entire length of SEQ ID NO:3.

(c) a polypeptide encoded by an isolated polynucleotide comprising a polynucleotide sequence encoding a polypeptide which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, even more preferably at least 97-99% or exact identity, to the amino acid sequence of SEQ ID NO:4

The BASB057 polypeptide provided in SEQ ID NO:4 is the BASB057 polypeptide from *Neisseria meningitidis* strain ATCC13090.

The invention also provides an immunogenic fragment of a BASB057 polypeptide, that is, a contiguous portion of the BASB057 polypeptide which has the same or substantially the same immunogenic activity as the polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO:4. That is to say, the fragment (if necessary when coupled to a carrier) is capable of raising an immune response which recognises the BASB057 polypeptide. Such an immunogenic fragment may include, for example, the BASB057 polypeptide lacking an N-terminal leader sequence, and/or a transmembrane domain and/or a C-terminal anchor domain. In a preferred aspect the immunogenic fragment of BASB057 according to the invention comprises substantially all of the extracellular domain of a polypeptide which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, most preferably at least 97-99% identity, to that of SEQ ID NO:4 over the entire length of SEQ ID NO:4.

The present invention further provides for:

(a) an isolated polypeptide which comprises an amino acid sequence which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, most preferably at least 97-99% or exact identity, to that of SEQ ID NO:6.

(b) a polypeptide encoded by an isolated polynucleotide comprising a polynucleotide sequence which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, even more preferably at least 97-99% or exact identity to SEQ ID NO:5 over the entire length of SEQ ID NO:5.

(c) a polypeptide encoded by an isolated polynucleotide comprising a polynucleotide sequence encoding a polypeptide which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, even more preferably at least 97-99% or exact identity, to the amino acid sequence of SEQ ID NO:6

The BASB060 polypeptide provided in SEQ ID NO:6 is the BASB060 polypeptide from *Neisseria meningitidis* strain ATCC13090.

The invention also provides an immunogenic fragment of a BASB060 polypeptide, that is, a contiguous portion of the BASB060 polypeptide which has the same or substantially the same immunogenic activity as the polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO:6. That is to say, the fragment (if necessary when coupled to a carrier) is capable of raising an immune response which recognises the BASB060 polypeptide. Such an immunogenic fragment may include, for example, the BASB060 polypeptide lacking an N-terminal leader sequence, and/or a transmembrane domain and/or a C-terminal anchor domain. In a preferred aspect the immunogenic fragment of BASB060 according to the invention comprises substantially all of the extracellular domain of a polypeptide which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, most preferably at least 97-99% identity, to that of SEQ ID NO:6 over the entire length of SEQ ID NO:6.

The present invention further provides for:

(a) an isolated polypeptide which comprises an amino acid sequence which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, most preferably at least 97-99% or exact identity, to that of SEQ ID NO:8.

(b) a polypeptide encoded by an isolated polynucleotide comprising a polynucleotide sequence which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, even more preferably at least 97-99% or exact identity to SEQ ID NO:7 over the entire length of SEQ ID NO:7.

(c) a polypeptide encoded by an isolated polynucleotide comprising a polynucleotide sequence encoding a polypeptide which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, even more preferably at least 97-99% or exact identity, to the amino acid sequence of SEQ ID NO:8

The BASB061 polypeptide provided in SEQ ID NO:8 is the BASB061 polypeptide from *Neisseria meningitidis* strain ATCC13090.

The invention also provides an immunogenic fragment of a BASB061 polypeptide, that is, a contiguous portion of the BASB061 polypeptide which has the same or substantially the same immunogenic activity as the polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO:8. That is to say, the fragment (if necessary when coupled to a carrier) is capable of raising an immune response which recognises the BASB061 polypeptide. Such an immunogenic fragment may include, for example, the BASB061 polypeptide lacking an N-terminal leader sequence, and/or a transmembrane domain and/or a C-terminal anchor domain. In a preferred aspect the immunogenic fragment of BASB061 according to the invention comprises substantially all of the extracellular domain of a polypeptide which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, most preferably at least 97-99% identity, to that of SEQ ID NO:8 over the entire length of SEQ ID NO:8.

The present invention further provides for:

(a) an isolated polypeptide which comprises an amino acid sequence which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, most preferably at least 97-99% or exact identity, to that of SEQ ID NO:10.

(b) a polypeptide encoded by an isolated polynucleotide comprising a polynucleotide sequence which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, even more preferably at least 97-99% or exact identity to SEQ ID NO:9 over the entire length of SEQ ID NO:9.

(c) a polypeptide encoded by an isolated polynucleotide comprising a polynucleotide sequence encoding a polypeptide which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, even more preferably at least 97-99% or exact identity, to the amino acid sequence of SEQ ID NO:10

The BASB063 polypeptide provided in SEQ ID NO:10 is the BASB063 polypeptide from *Neisseria meningitidis* strain ATCC13090.

The invention also provides an immunogenic fragment of a BASB063 polypeptide, that is, a contiguous portion of the BASB063 polypeptide which has the same or substantially the same immunogenic activity as the polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO:10. That is to say, the fragment (if necessary when coupled to a carrier) is capable of raising an immune response which recognises the BASB063 polypeptide. Such an immunogenic fragment may include, for example, the BASB063 polypeptide lacking an N-terminal leader sequence, and/or a transmembrane domain and/or a C-terminal anchor domain. In a preferred aspect the immunogenic fragment of BASB063 according to the invention comprises substantially all of the extracellular domain of a polypeptide which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, most preferably at least 97-99% identity, to that of SEQ ID NO:10 over the entire length of SEQ ID NO:10.

The present invention further provides for:

(a) an isolated polypeptide which comprises an amino acid sequence which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, most preferably at least 97-99% or exact identity, to that of SEQ ID NO:12.

(b) a polypeptide encoded by an isolated polynucleotide comprising a polynucleotide sequence which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, even more preferably at least 97-99% or exact identity to SEQ ID NO:11 over the entire length of SEQ ID NO:11.

(c) a polypeptide encoded by an isolated polynucleotide comprising a polynucleotide sequence encoding a polypeptide which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, even more preferably at least 97-99% or exact identity, to the amino acid sequence of SEQ ID NO:12

The BASB065 polypeptide provided in SEQ ID NO:12 is the BASB065 polypeptide from *Neisseria meningitidis* strain ATCC13090.

The invention also provides an immunogenic fragment of a BASB065 polypeptide, that is, a contiguous portion of the BASB065 polypeptide which has the same or substantially the same immunogenic activity as the polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO:12. That is to say, the fragment (if necessary when coupled to a carrier) is capable of raising an immune response which recognises the BASB065 polypeptide. Such an immunogenic fragment may include, for example, the BASB065 polypeptide lacking an N-terminal leader sequence, and/or a transmembrane domain and/or a C-terminal anchor domain. In a preferred aspect the immunogenic fragment of BASB065 according to the invention comprises substantially all of the extracellular domain of a polypeptide which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, most preferably at least 97-99% identity, to that of SEQ ID NO:12 over the entire length of SEQ ID NO:12.

The present invention further provides for:

(a) an isolated polypeptide which comprises an amino acid sequence which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, most preferably at least 97-99% or exact identity, to that of SEQ ID NO:14.

(b) a polypeptide encoded by an isolated polynucleotide comprising a polynucleotide sequence which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, even more preferably at least 97-99% or exact identity to SEQ ID NO:13 over the entire length of SEQ ID NO:13.

(c) a polypeptide encoded by an isolated polynucleotide comprising a polynucleotide sequence encoding a polypeptide which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, even more preferably at least 97-99% or exact identity, to the amino acid sequence of SEQ ID NO:14

The BASB066 polypeptide provided in SEQ ID NO:14 is the BASB066 polypeptide from *Neisseria meningitidis* strain ATCC13090.

The invention also provides an immunogenic fragment of a BASB066 polypeptide, that is, a contiguous portion of the BASB066 polypeptide which has the same or substantially the same immunogenic activity as the polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO:14. That is to say, the fragment (if necessary when coupled to a carrier) is capable of raising an immune response which recognises the BASB066 polypeptide. Such an immunogenic fragment may include, for example, the BASB066 polypeptide lacking an N-terminal leader sequence, and/or a transmembrane domain and/or a C-terminal anchor domain. In a preferred aspect the immunogenic fragment of BASB066 according to the invention comprises substantially all of the extracellular domain of a polypeptide which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, most preferably at least 97-99% identity, to that of SEQ ID NO:14 over the entire length of SEQ ID NO:14.

The present invention further provides for:

(a) an isolated polypeptide which comprises an amino acid sequence which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, most preferably at least 97-99% or exact identity, to that of SEQ ID NO:16.

(b) a polypeptide encoded by an isolated polynucleotide comprising a polynucleotide sequence which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, even more preferably at least 97-99% or exact identity to SEQ ID NO:15 over the entire length of SEQ ID NO:15.

(c) a polypeptide encoded by an isolated polynucleotide comprising a polynucleotide sequence encoding a polypeptide which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, even more preferably at least 97-99% or exact identity, to the amino acid sequence of SEQ ID NO:16

The BASB071 polypeptide provided in SEQ ID NO:16 is the BASB071 polypeptide from *Neisseria meningitidis* strain ATCC13090.

The invention also provides an immunogenic fragment of a BASB071 polypeptide, that is, a contiguous portion of the BASB071 polypeptide which has the same or substantially the same immunogenic activity as the polypeptide comprising the amino acid sequence of SEQ ID NO:16. That is to say, the fragment (if necessary when coupled to a carrier) is capable of raising an immune response which recognises the BASB071 polypeptide. Such an immunogenic fragment may include, for example, the BASB071 polypeptide lacking an N-terminal leader sequence, and/or a transmembrane domain and/or a C-terminal anchor domain. In a preferred aspect the immunogenic fragment of BASB071 according to the invention comprises substantially all of the extracellular domain of a polypeptide which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, most preferably at least 97-99% identity, to that of SEQ ID NO:16 over the entire length of SEQ ID NO:16.

A fragment is a polypeptide having an amino acid sequence that is entirely the same as part but not all of any amino acid sequence of any polypeptide of the invention. As with

BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 and BASB071 polypeptides, fragments may be "free-standing," or comprised within a larger polypeptide of which they form a part or region, most preferably as a single continuous region in a single larger polypeptide.

Preferred fragments include, for example, truncation polypeptides having a portion of an amino acid sequence of SEQ ID NO:2,4,6,8,10,12,14,16 or of variants thereof, such as a continuous series of residues that includes an amino- and/or carboxyl-terminal amino acid sequence. Degradation forms of the polypeptides of the invention produced by or in a host cell, are also preferred. Further preferred are fragments characterized by structural or functional attributes such as fragments that comprise alpha-helix and alpha-helix forming regions, beta-sheet and beta-sheet-forming regions, turn and turn-forming regions, coil and coil-forming regions, hydrophilic regions, hydrophobic regions, alpha amphipathic regions, beta amphipathic regions, flexible regions, surface-forming regions, substrate binding region, and high antigenic index regions.

Further preferred fragments include an isolated polypeptide comprising an amino acid sequence having at least 15, 20, 30, 40, 50 or 100 contiguous amino acids from the amino acid sequence of SEQ ID NO:2,4,6,8,10,12,14,16 or an isolated polypeptide comprising an amino acid sequence having at least 15, 20, 30, 40, 50 or 100 contiguous amino acids truncated or deleted from the amino acid sequence of SEQ ID NO:2,4,6,8,10,12,14,16.

Fragments of the polypeptides of the invention may be employed for producing the corresponding full-length polypeptide by peptide synthesis; therefore, these fragments may be employed as intermediates for producing the full-length polypeptides of the invention.

Particularly preferred are variants in which several, 5-10, 1-5, 1-3, 1-2 or 1 amino acids are substituted, deleted, or added in any combination.

The polypeptides, or immunogenic fragments, of the invention may be in the form of the "mature" protein or may be a part of a larger protein such as a precursor or a fusion protein. It is often advantageous to include an additional amino acid sequence which contains secretory or leader sequences, pro-sequences, sequences which aid in purification such as multiple histidine residues, or an additional sequence for stability during recombinant production. Furthermore, addition of exogenous polypeptide or lipid tail or polynucleotide sequences to increase the immunogenic potential of the final molecule is also considered.

In one aspect, the invention relates to genetically engineered soluble fusion proteins comprising a polypeptide of the present invention, or a fragment thereof, and various portions of the constant regions of heavy or light chains of immunoglobulins of various subclasses (IgG, IgM, IgA, IgE). Preferred as an immunoglobulin is the constant part of the heavy chain of human IgG, particularly IgG1, where fusion takes place at the hinge region. In a particular embodiment, the Fc part can be removed simply by incorporation of a cleavage sequence which can be cleaved with blood clotting factor Xa.

Furthermore, this invention relates to processes for the preparation of these fusion proteins by genetic engineering, and to the use thereof for drug screening, diagnosis and therapy. A further aspect of the invention also relates to polynucleotides encoding such fusion proteins. Examples of fusion protein technology can be found in International Patent Application Nos. WO94/29458 and WO94/22914.

The proteins may be chemically conjugated, or expressed as recombinant fusion proteins allowing increased levels to be produced in an expression system as compared to non-fused protein. The fusion partner may assist in providing T helper epitopes (immunological fusion partner), preferably T helper epitopes recognised by humans, or assist in expressing the protein (expression enhancer) at higher yields than the native recombinant protein. Preferably the fusion partner will be both an immunological fusion partner and expression enhancing partner.

Fusion partners include protein D from *Haemophilus influenzae* and the non-structural protein from influenzae virus, NS1 (hemagglutinin). Another fusion partner is the protein known as LytA. Preferably the C terminal portion of the molecule is used. LytA is derived from *Streptococcus pneumoniae* which synthesize an N-acetyl-L-alanine amidase, amidase LytA, (coded by the lytA gene {Gene, 43 (1986) page 265-272}) an autolysin that specifically degrades certain bonds in the peptidoglycan backbone. The C-terminal domain of the LytA protein is responsible for the affinity to the choline or to some choline analogues such as DEAE. This property has been exploited for the development of *E.coli* C-LytA expressing plasmids useful for expression of fusion proteins. Purification of hybrid proteins containing the C-LytA fragment at its amino terminus has been described {Biotechnology: 10, (1992) page 795-798}. It is possible to use the repeat portion of the LytA molecule found in the C terminal end starting at residue 178, for example residues 188 - 305.

The present invention also includes variants of the aforementioned polypeptides, that is polypeptides that vary from the referents by conservative amino acid substitutions, whereby a residue is substituted by another with like characteristics. Typical such substitutions are among Ala, Val, Leu and Ile; among Ser and Thr; among the acidic residues Asp and Glu; among Asn and Gln; and among the basic residues Lys and Arg; or aromatic residues Phe and Tyr.

Polypeptides of the present invention can be prepared in any suitable manner. Such polypeptides include isolated naturally occurring polypeptides, recombinantly produced polypeptides, synthetically produced polypeptides, or polypeptides produced by a combination of these methods. Means for preparing such polypeptides are well understood in the art.

It is most preferred that a polypeptide of the invention is derived from *Neisseria meningitidis*, however, it may preferably be obtained from other organisms of the same taxonomic genus.

A polypeptide of the invention may also be obtained, for example, from organisms of the same taxonomic family or order.

Polynucleotides

It is an object of the invention to provide polynucleotides that encode BASB051 polypeptides, particularly polynucleotides that encode the polypeptide herein designated BASB051.

In a particularly preferred embodiment of the invention the polynucleotide comprises a region encoding BASB051 polypeptides comprising a sequence set out in SEQ ID NO:1 which includes a full length gene, or a variant thereof.

The BASB051 polynucleotide provided in SEQ ID NO:1 is the BASB051 polynucleotide from *Neisseria meningitidis* strains ATCC13090.

As a further aspect of the invention there are provided isolated nucleic acid molecules encoding and/or expressing BASB051 polypeptides and polynucleotides, particularly *Neisseria meningitidis* BASB051 polypeptides and polynucleotides, including, for example, unprocessed RNAs, ribozyme RNAs, mRNAs, cDNAs, genomic DNAs, B- and Z-DNAs. Further embodiments of the invention include biologically, diagnostically, prophylactically, clinically or therapeutically useful polynucleotides and polypeptides, and variants thereof, and compositions comprising the same.

Another aspect of the invention relates to isolated polynucleotides, including at least one full length gene, that encodes a BASB051 polypeptide having a deduced amino acid sequence of SEQ ID NO:2 and polynucleotides closely related thereto and variants thereof.

In another particularly preferred embodiment of the invention there is a BASB051 polypeptide from *Neisseria meningitidis* comprising or consisting of an amino acid sequence of SEQ ID NO:2 or a variant thereof.

Using the information provided herein, such as a polynucleotide sequence set out in SEQ ID NO:1 a polynucleotide of the invention encoding BASB051 polypeptide may be obtained using standard cloning and screening methods, such as those for cloning and sequencing chromosomal DNA fragments from bacteria using *Neisseria meningitidis* cells as starting material, followed by obtaining a full length clone. For example, to obtain a polynucleotide sequence of the invention, such as a polynucleotide sequence given in SEQ ID NO:1 typically a library of clones of chromosomal DNA of *Neisseria meningitidis* in *E.coli* or some other suitable host is probed with a radiolabeled oligonucleotide, preferably a 17-mer or longer, derived from a partial sequence. Clones carrying DNA identical to that of the probe can then be distinguished using stringent hybridization conditions. By sequencing the individual clones thus identified by hybridization with sequencing primers designed from the original polypeptide or polynucleotide sequence it is then possible to extend the polynucleotide sequence in both directions to determine a full length gene sequence. Conveniently, such sequencing is performed, for example, using denatured double stranded DNA prepared from a plasmid clone. Suitable techniques are described by Maniatis, T., Fritsch, E.F. and Sambrook et al., *MOLECULAR CLONING, A LABORATORY MANUAL*, 2nd Ed.; Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York (1989). (see in particular Screening By Hybridization 1.90 and Sequencing Denatured Double-Stranded DNA Templates 13.70). Direct genomic DNA sequencing may also be performed to obtain a full length gene sequence. Illustrative of the invention, each polynucleotide set out in SEQ ID NO:1 was discovered in a DNA library derived from *Neisseria meningitidis*.

Moreover, the DNA sequence set out in SEQ ID NO:1 contains an open reading frame encoding a protein having about the number of amino acid residues set forth in SEQ ID NO:2 with a deduced molecular weight that can be calculated using amino acid residue molecular weight values well known to those skilled in the art.

The polynucleotide of SEQ ID NO:1, between the start codon at nucleotide number 1 and the stop codon which begins at nucleotide number 802 of SEQ ID NO:1, encodes the polypeptide of SEQ ID NO:2.

In a further aspect, the present invention provides for an isolated polynucleotide comprising or consisting of:

(a) a polynucleotide sequence which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, even more preferably at least 97-99% or exact identity to SEQ ID NO:1 over the entire length of SEQ ID NO:1; or

(b) a polynucleotide sequence encoding a polypeptide which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, even more preferably at least 97-99% or 100% exact, to the amino acid sequence of SEQ ID NO:2 over the entire length of SEQ ID NO:2.

A polynucleotide encoding a polypeptide of the present invention, including homologs and orthologs from species other than *Neisseria meningitidis*, may be obtained by a process which comprises the steps of screening an appropriate library under stringent hybridization conditions (for example, using a temperature in the range of 45 – 65°C and an SDS concentration from 0.1 – 1%) with a labeled or detectable probe consisting of or comprising the sequence of SEQ ID NO: 1 or a fragment thereof; and isolating a full-length gene and/or genomic clones containing said polynucleotide sequence.

The invention provides a polynucleotide sequence identical over its entire length to a coding sequence (open reading frame) in SEQ ID NO: 1. Also provided by the invention is a coding sequence for a mature polypeptide or a fragment thereof, by itself as well as a coding sequence for a mature polypeptide or a fragment in reading frame with another coding sequence, such as a sequence encoding a leader or secretory sequence, a pre-, or pro- or prepro-protein sequence. The polynucleotide of the invention may also contain at least one non-coding sequence, including for example, but not limited to at least one non-coding 5' and 3' sequence, such as the transcribed but non-translated sequences, termination signals (such as

rho-dependent and rho-independent termination signals), ribosome binding sites, Kozak sequences, sequences that stabilize mRNA, introns, and polyadenylation signals. The polynucleotide sequence may also comprise additional coding sequence encoding additional amino acids. For example, a marker sequence that facilitates purification of the fused polypeptide can be encoded. In certain embodiments of the invention, the marker sequence is a hexa-histidine peptide, as provided in the pQE vector (Qiagen, Inc.) and described in Gentz *et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA 86:* 821-824 (1989), or an HA peptide tag (Wilson *et al., Cell 37:* 767 (1984), both of which may be useful in purifying polypeptide sequence fused to them. Polynucleotides of the invention also include, but are not limited to, polynucleotides comprising a structural gene and its naturally associated sequences that control gene expression.

The nucleotide sequence encoding BASB051 polypeptide of SEQ ID NO:2 may be identical to the polypeptide encoding sequence contained in nucleotides 1 to 801 of SEQ ID NO:1. Alternatively it may be a sequence, which as a result of the redundancy (degeneracy) of the genetic code, also encodes the polypeptide of SEQ ID NO:2. The term "polynucleotide encoding a polypeptide" as used herein encompasses polynucleotides that include a sequence encoding a polypeptide of the invention, particularly a bacterial polypeptide and more particularly a polypeptide of the *Neisseria meningitidis* BASB051 having an amino acid sequence set out in SEQ ID NO:2. The term also encompasses polynucleotides that include a single continuous region or discontinuous regions encoding the polypeptide (for example, polynucleotides interrupted by integrated phage, an integrated insertion sequence, an integrated vector sequence, an integrated transposon sequence, or due to RNA editing or genomic DNA reorganization) together with additional regions, that also may contain coding and/or non-coding sequences.

The invention further relates to variants of the polynucleotides described herein that encode variants of a polypeptide having a deduced amino acid sequence of SEQ ID NO:2. Fragments of polynucleotides of the invention may be used, for example, to synthesize full-length polynucleotides of the invention.

Further particularly preferred embodiments are polynucleotides encoding BASB051 variants, that have the amino acid sequence of BASB051 polypeptide of SEQ ID NO:2 in which several, a few, 5 to 10, 1 to 5, 1 to 3, 2, 1 or no amino acid residues are substituted, modified, deleted and/or added, in any combination. Especially preferred among these are silent substitutions, additions and deletions, that do not alter the properties and activities of BASB051 polypeptide.

Further preferred embodiments of the invention are polynucleotides that are at least 85% identical over their entire length to a polynucleotide encoding BASB051 polypeptide having an amino acid sequence set out in SEQ ID NO:2 and polynucleotides that are complementary to such polynucleotides. In this regard, polynucleotides at least 90% identical over their entire length to the same are particularly preferred, and among these particularly preferred polynucleotides, those with at least 95% are especially preferred. Furthermore, those with at least 97% are highly preferred among those with at least 95%, and among these those with at least 98% and at least 99% are particularly highly preferred, with at least 99% being the more preferred.

Preferred embodiments are polynucleotides encoding polypeptides that retain substantially the same biological function or activity as the mature polypeptide encoded by a DNA of SEQ ID NO:1.

In accordance with certain preferred embodiments of this invention there are provided polynucleotides that hybridize, particularly under stringent conditions, to BASB051 polynucleotide sequences, such as those polynucleotides in SEQ ID NO:1.

The invention further relates to polynucleotides that hybridize to the polynucleotide sequences provided herein. In this regard, the invention especially relates to polynucleotides that hybridize under stringent conditions to the polynucleotides described herein. As herein used, the terms "stringent conditions" and "stringent hybridization conditions" mean

hybridization occurring only if there is at least 95% and preferably at least 97% identity between the sequences. A specific example of stringent hybridization conditions is overnight incubation at 42°C in a solution comprising: 50% formamide, 5x SSC (150mM NaCl, 15mM trisodium citrate), 50 mM sodium phosphate (pH7.6), 5x Denhardt's solution, 10% dextran sulfate, and 20 micrograms/ml of denatured, sheared salmon sperm DNA, followed by washing the hybridization support in 0.1x SSC at about 65°C. Hybridization and wash conditions are well known and exemplified in Sambrook, *et al.*, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Second Edition, Cold Spring Harbor, N.Y., (1989), particularly Chapter 11 therein. Solution hybridization may also be used with the polynucleotide sequences provided by the invention.

The invention also provides a polynucleotide consisting of or comprising a polynucleotide sequence obtained by screening an appropriate library containing the complete gene for a polynucleotide sequence set forth in SEQ ID NO:1 under stringent hybridization conditions with a probe having the sequence of said polynucleotide sequence set forth in SEQ ID NO:1 or a fragment thereof; and isolating said polynucleotide sequence. Fragments useful for obtaining such a polynucleotide include, for example, probes and primers fully described elsewhere herein.

As discussed elsewhere herein regarding polynucleotide assays of the invention, for instance, the polynucleotides of the invention, may be used as a hybridization probe for RNA, cDNA and genomic DNA to isolate full-length cDNAs and genomic clones encoding BASB051 and to isolate cDNA and genomic clones of other genes that have a high identity, particularly high sequence identity, to the BASB051 gene. Such probes generally will comprise at least 15 nucleotide residues or base pairs. Preferably, such probes will have at least 30 nucleotide residues or base pairs and may have at least 50 nucleotide residues or base pairs. Particularly preferred probes will have at least 20 nucleotide residues or base pairs and will have less than 30 nucleotide residues or base pairs.

A coding region of a BASB051 gene may be isolated by screening using a DNA sequence provided in SEQ ID NO:1 to synthesize an oligonucleotide probe. A labeled oligonucleotide having a sequence complementary to that of a gene of the invention is then used to screen a library of cDNA, genomic DNA or mRNA to determine which members of the library the probe hybridizes to.

It is an object of the invention to provide polynucleotides that encode BASB057 polypeptides, particularly polynucleotides that encode the polypeptide herein designated BASB057.

In a particularly preferred embodiment of the invention the polynucleotide comprises a region encoding BASB057 polypeptides comprising a sequence set out in SEQ ID NO:3 which includes a full length gene, or a variant thereof.

The BASB057 polynucleotide provided in SEQ ID NO:3 is the BASB057 polynucleotide from *Neisseria meningitidis* strains ATCC13090.

As a further aspect of the invention there are provided isolated nucleic acid molecules encoding and/or expressing BASB057 polypeptides and polynucleotides, particularly *Neisseria meningitidis* BASB057 polypeptides and polynucleotides, including, for example, unprocessed RNAs, ribozyme RNAs, mRNAs, cDNAs, genomic DNAs, B- and Z-DNAs. Further embodiments of the invention include biologically, diagnostically, prophylactically, clinically or therapeutically useful polynucleotides and polypeptides, and variants thereof, and compositions comprising the same.

Another aspect of the invention relates to isolated polynucleotides, including at least one full length gene, that encodes a BASB057 polypeptide having a deduced amino acid sequence of SEQ ID NO:4 and polynucleotides closely related thereto and variants thereof.

In another particularly preferred embodiment of the invention there is a BASB057 polypeptide from *Neisseria meningitidis* comprising or consisting of an amino acid sequence of SEQ ID NO:4 or a variant thereof.

Using the information provided herein, such as a polynucleotide sequence set out in SEQ ID NO:3 a polynucleotide of the invention encoding BASB057 polypeptide may be obtained using standard cloning and screening methods, such as those for cloning and sequencing

chromosomal DNA fragments from bacteria using *Neisseria meningitidis* cells as starting material, followed by obtaining a full length clone. For example, to obtain a polynucleotide sequence of the invention, such as a polynucleotide sequence given in SEQ ID NO:3 typically a library of clones of chromosomal DNA of *Neisseria meningitidis* in *E.coli* or some other suitable host is probed with a radiolabeled oligonucleotide, preferably a 17-mer or longer, derived from a partial sequence. Clones carrying DNA identical to that of the probe can then be distinguished using stringent hybridization conditions. By sequencing the individual clones thus identified by hybridization with sequencing primers designed from the original polypeptide or polynucleotide sequence it is then possible to extend the polynucleotide sequence in both directions to determine a full length gene sequence. Conveniently, such sequencing is performed, for example, using denatured double stranded DNA prepared from a plasmid clone. Suitable techniques are described by Maniatis, T., Fritsch, E.F. and Sambrook et al., *MOLECULAR CLONING, A LABORATORY MANUAL*, 2nd Ed.; Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York (1989). (see in particular Screening By Hybridization 1.90 and Sequencing Denatured Double-Stranded DNA Templates 13.70). Direct genomic DNA sequencing may also be performed to obtain a full length gene sequence. Illustrative of the invention, each polynucleotide set out in SEQ ID NO:3 was discovered in a DNA library derived from *Neisseria meningitidis*.

Moreover, the DNA sequence set out in SEQ ID NO:3 contains an open reading frame encoding a protein having about the number of amino acid residues set forth in SEQ ID NO:4 with a deduced molecular weight that can be calculated using amino acid residue molecular weight values well known to those skilled in the art.

The polynucleotide of SEQ ID NO:3, between the start codon at nucleotide number 1 and the stop codon which begins at nucleotide number 1402 of SEQ ID NO:3, encodes the polypeptide of SEQ ID NO:4.

In a further aspect, the present invention provides for an isolated polynucleotide comprising or consisting of:

(a) a polynucleotide sequence which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, even more preferably at least 97-99% or exact identity to SEQ ID NO:3 over the entire length of SEQ ID NO:3; or

(b) a polynucleotide sequence encoding a polypeptide which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, even more preferably at least 97-99% or 100% exact, to the amino acid sequence of SEQ ID NO:4 over the entire length of SEQ ID NO:4.

A polynucleotide encoding a polypeptide of the present invention, including homologs and orthologs from species other than *Neisseria meningitidis*, may be obtained by a process which comprises the steps of screening an appropriate library under stringent hybridization conditions (for example, using a temperature in the range of 45 – 65°C and an SDS concentration from 0.1 – 1%) with a labeled or detectable probe consisting of or comprising the sequence of SEQ ID NO:3 or a fragment thereof; and isolating a full-length gene and/or genomic clones containing said polynucleotide sequence.

The invention provides a polynucleotide sequence identical over its entire length to a coding sequence (open reading frame) in SEQ ID NO:3. Also provided by the invention is a coding sequence for a mature polypeptide or a fragment thereof, by itself as well as a coding sequence for a mature polypeptide or a fragment in reading frame with another coding sequence, such as a sequence encoding a leader or secretory sequence, a pre-, or pro- or prepro-protein sequence. The polynucleotide of the invention may also contain at least one non-coding sequence, including for example, but not limited to at least one non-coding 5' and 3' sequence, such as the transcribed but non-translated sequences, termination signals (such as rho-dependent and rho-independent termination signals), ribosome binding sites, Kozak sequences, sequences that stabilize mRNA, introns, and polyadenylation signals. The polynucleotide sequence may also comprise additional coding sequence encoding additional amino acids. For example, a marker sequence that facilitates purification of the fused polypeptide can be encoded. In certain embodiments of the invention, the marker sequence is a hexa-histidine peptide, as provided in the pQE vector (Qiagen, Inc.) and described in Gentz

et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA 86: 821-824 (1989), or an HA peptide tag (Wilson *et al.*, *Cell 37:* 767 (1984), both of which may be useful in purifying polypeptide sequence fused to them. Polynucleotides of the invention also include, but are not limited to, polynucleotides comprising a structural gene and its naturally associated sequences that control gene expression.

The nucleotide sequence encoding BASB057 polypeptide of SEQ ID NO:4 may be identical to the polypeptide encoding sequence contained in nucleotides 1 to 1401 of SEQ ID NO:3. Alternatively it may be a sequence, which as a result of the redundancy (degeneracy) of the genetic code, also encodes the polypeptide of SEQ ID NO:4. The term "polynucleotide encoding a polypeptide" as used herein encompasses polynucleotides that include a sequence encoding a polypeptide of the invention, particularly a bacterial polypeptide and more particularly a polypeptide of the *Neisseria meningitidis* BASB057 having an amino acid sequence set out in SEQ ID NO:4. The term also encompasses polynucleotides that include a single continuous region or discontinuous regions encoding the polypeptide (for example, polynucleotides interrupted by integrated phage, an integrated insertion sequence, an integrated vector sequence, an integrated transposon sequence, or due to RNA editing or genomic DNA reorganization) together with additional regions, that also may contain coding and/or non-coding sequences.

The invention further relates to variants of the polynucleotides described herein that encode variants of a polypeptide having a deduced amino acid sequence of SEQ ID NO:4. Fragments of polynucleotides of the invention may be used, for example, to synthesize full-length polynucleotides of the invention.

Further particularly preferred embodiments are polynucleotides encoding BASB057 variants, that have the amino acid sequence of BASB057 polypeptide of SEQ ID NO:4 in which several, a few, 5 to 10, 1 to 5, 1 to 3, 2, 1 or no amino acid residues are substituted, modified, deleted and/or added, in any combination. Especially preferred among these are silent

substitutions, additions and deletions, that do not alter the properties and activities of BASB057 polypeptide.

Further preferred embodiments of the invention are polynucleotides that are at least 85% identical over their entire length to a polynucleotide encoding BASB057 polypeptide having an amino acid sequence set out in SEQ ID NO:4 and polynucleotides that are complementary to such polynucleotides. In this regard, polynucleotides at least 90% identical over their entire length to the same are particularly preferred, and among these particularly preferred polynucleotides, those with at least 95% are especially preferred. Furthermore, those with at least 97% are highly preferred among those with at least 95%, and among these those with at least 98% and at least 99% are particularly highly preferred, with at least 99% being the more preferred.

Preferred embodiments are polynucleotides encoding polypeptides that retain substantially the same biological function or activity as the mature polypeptide encoded by a DNA of SEQ ID NO:3.

In accordance with certain preferred embodiments of this invention there are provided polynucleotides that hybridize, particularly under stringent conditions, to BASB057 polynucleotide sequences, such as those polynucleotides in SEQ ID NO:3.

The invention further relates to polynucleotides that hybridize to the polynucleotide sequences provided herein. In this regard, the invention especially relates to polynucleotides that hybridize under stringent conditions to the polynucleotides described herein. As herein used, the terms "stringent conditions" and "stringent hybridization conditions" mean hybridization occurring only if there is at least 95% and preferably at least 97% identity between the sequences. A specific example of stringent hybridization conditions is overnight incubation at 42°C in a solution comprising: 50% formamide, 5x SSC (150mM NaCl, 15mM trisodium citrate), 50 mM sodium phosphate (pH7.6), 5x Denhardt's solution, 10% dextran sulfate, and 20 micrograms/ml of denatured, sheared salmon sperm DNA,

followed by washing the hybridization support in 0.1x SSC at about 65°C. Hybridization and wash conditions are well known and exemplified in Sambrook, *et al.*, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Second Edition, Cold Spring Harbor, N.Y., (1989), particularly Chapter 11 therein. Solution hybridization may also be used with the polynucleotide sequences provided by the invention.

The invention also provides a polynucleotide consisting of or comprising a polynucleotide sequence obtained by screening an appropriate library containing the complete gene for a polynucleotide sequence set forth in SEQ ID NO:3 under stringent hybridization conditions with a probe having the sequence of said polynucleotide sequence set forth in SEQ ID NO:3 or a fragment thereof; and isolating said polynucleotide sequence. Fragments useful for obtaining such a polynucleotide include, for example, probes and primers fully described elsewhere herein.

As discussed elsewhere herein regarding polynucleotide assays of the invention, for instance, the polynucleotides of the invention, may be used as a hybridization probe for RNA, cDNA and genomic DNA to isolate full-length cDNAs and genomic clones encoding BASB057 and to isolate cDNA and genomic clones of other genes that have a high identity, particularly high sequence identity, to the BASB057 gene. Such probes generally will comprise at least 15 nucleotide residues or base pairs. Preferably, such probes will have at least 30 nucleotide residues or base pairs and may have at least 50 nucleotide residues or base pairs. Particularly preferred probes will have at least 20 nucleotide residues or base pairs and will have less than 30 nucleotide residues or base pairs.

A coding region of a BASB057 gene may be isolated by screening using a DNA sequence provided in SEQ ID NO:3 to synthesize an oligonucleotide probe. A labeled oligonucleotide having a sequence complementary to that of a gene of the invention is then used to screen a library of cDNA, genomic DNA or mRNA to determine which members of the library the probe hybridizes to.

It is an object of the invention to provide polynucleotides that encode BASB060 polypeptides, particularly polynucleotides that encode the polypeptide herein designated BASB060.

In a particularly preferred embodiment of the invention the polynucleotide comprises a region encoding BASB060 polypeptides comprising a sequence set out in SEQ ID NO:5 which includes a full length gene, or a variant thereof.

The BASB060 polynucleotide provided in SEQ ID NO:5 is the BASB060 polynucleotide from *Neisseria meningitidis* strains ATCC13090.

As a further aspect of the invention there are provided isolated nucleic acid molecules encoding and/or expressing BASB060 polypeptides and polynucleotides, particularly *Neisseria meningitidis* BASB060 polypeptides and polynucleotides, including, for example, unprocessed RNAs, ribozyme RNAs, mRNAs, cDNAs, genomic DNAs, B- and Z-DNAs. Further embodiments of the invention include biologically, diagnostically, prophylactically, clinically or therapeutically useful polynucleotides and polypeptides, and variants thereof, and compositions comprising the same.

Another aspect of the invention relates to isolated polynucleotides, including at least one full length gene, that encodes a BASB060 polypeptide having a deduced amino acid sequence of SEQ ID NO:6 and polynucleotides closely related thereto and variants thereof.

In another particularly preferred embodiment of the invention there is a BASB060 polypeptide from *Neisseria meningitidis* comprising or consisting of an amino acid sequence of SEQ ID NO:6 or a variant thereof.

Using the information provided herein, such as a polynucleotide sequence set out in SEQ ID NO:5 a polynucleotide of the invention encoding BASB060 polypeptide may be obtained using standard cloning and screening methods, such as those for cloning and sequencing

chromosomal DNA fragments from bacteria using *Neisseria meningitidis* cells as starting material, followed by obtaining a full length clone. For example, to obtain a polynucleotide sequence of the invention, such as a polynucleotide sequence given in SEQ ID NO:5 typically a library of clones of chromosomal DNA of *Neisseria meningitidis* in *E.coli* or some other suitable host is probed with a radiolabeled oligonucleotide, preferably a 17-mer or longer, derived from a partial sequence. Clones carrying DNA identical to that of the probe can then be distinguished using stringent hybridization conditions. By sequencing the individual clones thus identified by hybridization with sequencing primers designed from the original polypeptide or polynucleotide sequence it is then possible to extend the polynucleotide sequence in both directions to determine a full length gene sequence. Conveniently, such sequencing is performed, for example, using denatured double stranded DNA prepared from a plasmid clone. Suitable techniques are described by Maniatis, T., Fritsch, E.F. and Sambrook et al., *MOLECULAR CLONING, A LABORATORY MANUAL*, 2nd Ed.; Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York (1989). (see in particular Screening By Hybridization 1.90 and Sequencing Denatured Double-Stranded DNA Templates 13.70). Direct genomic DNA sequencing may also be performed to obtain a full length gene sequence. Illustrative of the invention, each polynucleotide set out in SEQ ID NO:5 was discovered in a DNA library derived from *Neisseria meningitidis*.

Moreover, the DNA sequence set out in SEQ ID NO:5 contains an open reading frame encoding a protein having about the number of amino acid residues set forth in SEQ ID NO:6 with a deduced molecular weight that can be calculated using amino acid residue molecular weight values well known to those skilled in the art.

The polynucleotide of SEQ ID NO:5, between the start codon at nucleotide number 1 and the stop codon which begins at nucleotide number 418 of SEQ ID NO:5, encodes the polypeptide of SEQ ID NO:6.

In a further aspect, the present invention provides for an isolated polynucleotide comprising or consisting of:

(a) a polynucleotide sequence which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, even more preferably at least 97-99% or exact identity to SEQ ID NO:5 over the entire length of SEQ ID NO:5; or

(b) a polynucleotide sequence encoding a polypeptide which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, even more preferably at least 97-99% or 100% exact, to the amino acid sequence of SEQ ID NO:6 over the entire length of SEQ ID NO:6.

A polynucleotide encoding a polypeptide of the present invention, including homologs and orthologs from species other than *Neisseria meningitidis*, may be obtained by a process which comprises the steps of screening an appropriate library under stringent hybridization conditions (for example, using a temperature in the range of 45 – 65°C and an SDS concentration from 0.1 – 1%) with a labeled or detectable probe consisting of or comprising the sequence of SEQ ID NO:5 or a fragment thereof; and isolating a full-length gene and/or genomic clones containing said polynucleotide sequence.

The invention provides a polynucleotide sequence identical over its entire length to a coding sequence (open reading frame) in SEQ ID NO:5. Also provided by the invention is a coding sequence for a mature polypeptide or a fragment thereof, by itself as well as a coding sequence for a mature polypeptide or a fragment in reading frame with another coding sequence, such as a sequence encoding a leader or secretory sequence, a pre-, or pro- or prepro-protein sequence. The polynucleotide of the invention may also contain at least one non-coding sequence, including for example, but not limited to at least one non-coding 5' and 3' sequence, such as the transcribed but non-translated sequences, termination signals (such as rho-dependent and rho-independent termination signals), ribosome binding sites, Kozak sequences, sequences that stabilize mRNA, introns, and polyadenylation signals. The polynucleotide sequence may also comprise additional coding sequence encoding additional amino acids. For example, a marker sequence that facilitates purification of the fused polypeptide can be encoded. In certain embodiments of the invention, the marker sequence is a hexa-histidine peptide, as provided in the pQE vector (Qiagen, Inc.) and described in Gentz

et al., *Proc. Natl. Acad. Sci., USA 86:* 821-824 (1989), or an HA peptide tag (Wilson *et al.*, *Cell 37:* 767 (1984), both of which may be useful in purifying polypeptide sequence fused to them. Polynucleotides of the invention also include, but are not limited to, polynucleotides comprising a structural gene and its naturally associated sequences that control gene expression.

The nucleotide sequence encoding BASB060 polypeptide of SEQ ID NO:6 may be identical to the polypeptide encoding sequence contained in nucleotides 1 to 417 of SEQ ID NO:5. Alternatively it may be a sequence, which as a result of the redundancy (degeneracy) of the genetic code, also encodes the polypeptide of SEQ ID NO:6. The term "polynucleotide encoding a polypeptide" as used herein encompasses polynucleotides that include a sequence encoding a polypeptide of the invention, particularly a bacterial polypeptide and more particularly a polypeptide of the *Neisseria meningitidis* BASB060 having an amino acid sequence set out in SEQ ID NO:6. The term also encompasses polynucleotides that include a single continuous region or discontinuous regions encoding the polypeptide (for example, polynucleotides interrupted by integrated phage, an integrated insertion sequence, an integrated vector sequence, an integrated transposon sequence, or due to RNA editing or genomic DNA reorganization) together with additional regions, that also may contain coding and/or non-coding sequences.

The invention further relates to variants of the polynucleotides described herein that encode variants of a polypeptide having a deduced amino acid sequence of SEQ ID NO:6. Fragments of polynucleotides of the invention may be used, for example, to synthesize full-length polynucleotides of the invention.

Further particularly preferred embodiments are polynucleotides encoding BASB060 variants, that have the amino acid sequence of BASB060 polypeptide of SEQ ID NO:6 in which several, a few, 5 to 10, 1 to 5, 1 to 3, 2, 1 or no amino acid residues are substituted, modified, deleted and/or added, in any combination. Especially preferred among these are silent

substitutions, additions and deletions that do not alter the properties and activities of BASB060 polypeptide.

Further preferred embodiments of the invention are polynucleotides that are at least 85% identical over their entire length to a polynucleotide encoding BASB060 polypeptide having an amino acid sequence set out in SEQ ID NO:6 and polynucleotides that are complementary to such polynucleotides. In this regard, polynucleotides at least 90% identical over their entire length to the same are particularly preferred, and among these particularly preferred polynucleotides, those with at least 95% are especially preferred. Furthermore, those with at least 97% are highly preferred among those with at least 95%, and among these those with at least 98% and at least 99% are particularly highly preferred, with at least 99% being the more preferred.

Preferred embodiments are polynucleotides encoding polypeptides that retain substantially the same biological function or activity as the mature polypeptide encoded by a DNA of SEQ ID NO:5.

In accordance with certain preferred embodiments of this invention there are provided polynucleotides that hybridize, particularly under stringent conditions, to BASB060 polynucleotide sequences, such as those polynucleotides in SEQ ID NO:5.

The invention further relates to polynucleotides that hybridize to the polynucleotide sequences provided herein. In this regard, the invention especially relates to polynucleotides that hybridize under stringent conditions to the polynucleotides described herein. As herein used, the terms "stringent conditions" and "stringent hybridization conditions" mean hybridization occurring only if there is at least 95% and preferably at least 97% identity between the sequences. A specific example of stringent hybridization conditions is overnight incubation at 42°C in a solution comprising: 50% formamide, 5x SSC (150mM NaCl, 15mM trisodium citrate), 50 mM sodium phosphate (pH7.6), 5x Denhardt's solution, 10% dextran sulfate, and 20 micrograms/ml of denatured, sheared salmon sperm DNA,

followed by washing the hybridization support in 0.1x SSC at about 65°C. Hybridization and wash conditions are well known and exemplified in Sambrook, *et al.*, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Second Edition, Cold Spring Harbor, N.Y., (1989), particularly Chapter 11 therein. Solution hybridization may also be used with the polynucleotide sequences provided by the invention.

The invention also provides a polynucleotide consisting of or comprising a polynucleotide sequence obtained by screening an appropriate library containing the complete gene for a polynucleotide sequence set forth in SEQ ID NO:5 under stringent hybridization conditions with a probe having the sequence of said polynucleotide sequence set forth in SEQ ID NO:5 or a fragment thereof; and isolating said polynucleotide sequence. Fragments useful for obtaining such a polynucleotide include, for example, probes and primers fully described elsewhere herein.

As discussed elsewhere herein regarding polynucleotide assays of the invention, for instance, the polynucleotides of the invention, may be used as a hybridization probe for RNA, cDNA and genomic DNA to isolate full-length cDNAs and genomic clones encoding BASB060 and to isolate cDNA and genomic clones of other genes that have a high identity, particularly high sequence identity, to the BASB060 gene. Such probes generally will comprise at least 15 nucleotide residues or base pairs. Preferably, such probes will have at least 30 nucleotide residues or base pairs and may have at least 50 nucleotide residues or base pairs. Particularly preferred probes will have at least 20 nucleotide residues or base pairs and will have less than 30 nucleotide residues or base pairs.

A coding region of a BASB060 gene may be isolated by screening using a DNA sequence provided in SEQ ID NO:5 to synthesize an oligonucleotide probe. A labeled oligonucleotide having a sequence complementary to that of a gene of the invention is then used to screen a library of cDNA, genomic DNA or mRNA to determine which members of the library the probe hybridizes to.

It is an object of the invention to provide polynucleotides that encode BASB061 polypeptides, particularly polynucleotides that encode the polypeptide herein designated BASB061.

In a particularly preferred embodiment of the invention the polynucleotide comprises a region encoding BASB061 polypeptides comprising a sequence set out in SEQ ID NO:7 which includes a full length gene, or a variant thereof.

The BASB061 polynucleotide provided in SEQ ID NO:7 is the BASB061 polynucleotide from *Neisseria meningitidis* strains ATCC13090.

As a further aspect of the invention there are provided isolated nucleic acid molecules encoding and/or expressing BASB061 polypeptides and polynucleotides, particularly *Neisseria meningitidis* BASB061 polypeptides and polynucleotides, including, for example, unprocessed RNAs, ribozyme RNAs, mRNAs, cDNAs, genomic DNAs, B- and Z-DNAs. Further embodiments of the invention include biologically, diagnostically, prophylactically, clinically or therapeutically useful polynucleotides and polypeptides, and variants thereof, and compositions comprising the same.

Another aspect of the invention relates to isolated polynucleotides, including at least one full length gene, that encodes a BASB061 polypeptide having a deduced amino acid sequence of SEQ ID NO:8 and polynucleotides closely related thereto and variants thereof.

In another particularly preferred embodiment of the invention there is a BASB061 polypeptide from *Neisseria meningitidis* comprising or consisting of an amino acid sequence of SEQ ID NO:8 or a variant thereof.

Using the information provided herein, such as a polynucleotide sequence set out in SEQ ID NO:7 a polynucleotide of the invention encoding BASB061 polypeptide may be obtained using standard cloning and screening methods, such as those for cloning and sequencing

chromosomal DNA fragments from bacteria using *Neisseria meningitidis* cells as starting material, followed by obtaining a full length clone. For example, to obtain a polynucleotide sequence of the invention, such as a polynucleotide sequence given in SEQ ID NO:7 typically a library of clones of chromosomal DNA of *Neisseria meningitidis* in *E.coli* or some other suitable host is probed with a radiolabeled oligonucleotide, preferably a 17-mer or longer, derived from a partial sequence. Clones carrying DNA identical to that of the probe can then be distinguished using stringent hybridization conditions. By sequencing the individual clones thus identified by hybridization with sequencing primers designed from the original polypeptide or polynucleotide sequence it is then possible to extend the polynucleotide sequence in both directions to determine a full length gene sequence. Conveniently, such sequencing is performed, for example, using denatured double stranded DNA prepared from a plasmid clone. Suitable techniques are described by Maniatis, T., Fritsch, E.F. and Sambrook et al., *MOLECULAR CLONING, A LABORATORY MANUAL*, 2nd Ed.; Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York (1989). (see in particular Screening By Hybridization 1.90 and Sequencing Denatured Double-Stranded DNA Templates 13.70). Direct genomic DNA sequencing may also be performed to obtain a full length gene sequence. Illustrative of the invention, each polynucleotide set out in SEQ ID NO:7 was discovered in a DNA library derived from *Neisseria meningitidis*.

Moreover, the DNA sequence set out in SEQ ID NO:7 contains an open reading frame encoding a protein having about the number of amino acid residues set forth in SEQ ID NO:8 with a deduced molecular weight that can be calculated using amino acid residue molecular weight values well known to those skilled in the art.

The polynucleotide of SEQ ID NO:7, between the start codon at nucleotide number 1 and the stop codon which begins at nucleotide number 514 of SEQ ID NO:7, encodes the polypeptide of SEQ ID NO:8.

In a further aspect, the present invention provides for an isolated polynucleotide comprising or consisting of:

(a) a polynucleotide sequence which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, even more preferably at least 97-99% or exact identity to SEQ ID NO:7 over the entire length of SEQ ID NO:7; or

(b) a polynucleotide sequence encoding a polypeptide which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, even more preferably at least 97-99% or 100% exact, to the amino acid sequence of SEQ ID NO:8 over the entire length of SEQ ID NO:8.

A polynucleotide encoding a polypeptide of the present invention, including homologs and orthologs from species other than *Neisseria meningitidis*, may be obtained by a process which comprises the steps of screening an appropriate library under stringent hybridization conditions (for example, using a temperature in the range of 45 – 65°C and an SDS concentration from 0.1 – 1%) with a labeled or detectable probe consisting of or comprising the sequence of SEQ ID NO:7 or a fragment thereof; and isolating a full-length gene and/or genomic clones containing said polynucleotide sequence.

The invention provides a polynucleotide sequence identical over its entire length to a coding sequence (open reading frame) in SEQ ID NO:7. Also provided by the invention is a coding sequence for a mature polypeptide or a fragment thereof, by itself as well as a coding sequence for a mature polypeptide or a fragment in reading frame with another coding sequence, such as a sequence encoding a leader or secretory sequence, a pre-, or pro- or prepro-protein sequence. The polynucleotide of the invention may also contain at least one non-coding sequence, including for example, but not limited to at least one non-coding 5' and 3' sequence, such as the transcribed but non-translated sequences, termination signals (such as rho-dependent and rho-independent termination signals), ribosome binding sites, Kozak sequences, sequences that stabilize mRNA, introns, and polyadenylation signals. The polynucleotide sequence may also comprise additional coding sequence encoding additional amino acids. For example, a marker sequence that facilitates purification of the fused polypeptide can be encoded. In certain embodiments of the invention, the marker sequence is a hexa-histidine peptide, as provided in the pQE vector (Qiagen, Inc.) and described in Gentz

et al., *Proc. Natl. Acad. Sci., USA 86:* 821-824 (1989), or an HA peptide tag (Wilson *et al.*, *Cell 37:* 767 (1984), both of which may be useful in purifying polypeptide sequence fused to them. Polynucleotides of the invention also include, but are not limited to, polynucleotides comprising a structural gene and its naturally associated sequences that control gene expression.

The nucleotide sequence encoding BASB061 polypeptide of SEQ ID NO:8 may be identical to the polypeptide encoding sequence contained in nucleotides 1 to 513 of SEQ ID NO:7. Alternatively it may be a sequence, which as a result of the redundancy (degeneracy) of the genetic code, also encodes the polypeptide of SEQ ID NO:8. The term "polynucleotide encoding a polypeptide" as used herein encompasses polynucleotides that include a sequence encoding a polypeptide of the invention, particularly a bacterial polypeptide and more particularly a polypeptide of the *Neisseria meningitidis* BASB061 having an amino acid sequence set out in SEQ ID NO:8. The term also encompasses polynucleotides that include a single continuous region or discontinuous regions encoding the polypeptide (for example, polynucleotides interrupted by integrated phage, an integrated insertion sequence, an integrated vector sequence, an integrated transposon sequence, or due to RNA editing or genomic DNA reorganization) together with additional regions, that also may contain coding and/or non-coding sequences.

The invention further relates to variants of the polynucleotides described herein that encode variants of a polypeptide having a deduced amino acid sequence of SEQ ID NO:8. Fragments of polynucleotides of the invention may be used, for example, to synthesize full-length polynucleotides of the invention.

Further particularly preferred embodiments are polynucleotides encoding BASB061 variants, that have the amino acid sequence of BASB061 polypeptide of SEQ ID NO:8 in which several, a few, 5 to 10, 1 to 5, 1 to 3, 2, 1 or no amino acid residues are substituted, modified, deleted and/or added, in any combination. Especially preferred among these are silent

substitutions, additions and deletions that do not alter the properties and activities of BASB061 polypeptide.

Further preferred embodiments of the invention are polynucleotides that are at least 85% identical over their entire length to a polynucleotide encoding BASB061 polypeptide having an amino acid sequence set out in SEQ ID NO:8 and polynucleotides that are complementary to such polynucleotides. In this regard, polynucleotides at least 90% identical over their entire length to the same are particularly preferred, and among these particularly preferred polynucleotides, those with at least 95% are especially preferred. Furthermore, those with at least 97% are highly preferred among those with at least 95%, and among these those with at least 98% and at least 99% are particularly highly preferred, with at least 99% being the more preferred.

Preferred embodiments are polynucleotides encoding polypeptides that retain substantially the same biological function or activity as the mature polypeptide encoded by a DNA of SEQ ID NO:7.

In accordance with certain preferred embodiments of this invention there are provided polynucleotides that hybridize, particularly under stringent conditions, to BASB061 polynucleotide sequences, such as those polynucleotides in SEQ ID NO:7.

The invention further relates to polynucleotides that hybridize to the polynucleotide sequences provided herein. In this regard, the invention especially relates to polynucleotides that hybridize under stringent conditions to the polynucleotides described herein. As herein used, the terms "stringent conditions" and "stringent hybridization conditions" mean hybridization occurring only if there is at least 95% and preferably at least 97% identity between the sequences. A specific example of stringent hybridization conditions is overnight incubation at 42°C in a solution comprising: 50% formamide, 5x SSC (150mM NaCl, 15mM trisodium citrate), 50 mM sodium phosphate (pH7.6), 5x Denhardt's solution, 10% dextran sulfate, and 20 micrograms/ml of denatured, sheared salmon sperm DNA,

followed by washing the hybridization support in 0.1x SSC at about 65°C. Hybridization and wash conditions are well known and exemplified in Sambrook, *et al.*, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Second Edition, Cold Spring Harbor, N.Y., (1989), particularly Chapter 11 therein. Solution hybridization may also be used with the polynucleotide sequences provided by the invention.

The invention also provides a polynucleotide consisting of or comprising a polynucleotide sequence obtained by screening an appropriate library containing the complete gene for a polynucleotide sequence set forth in SEQ ID NO:7 under stringent hybridization conditions with a probe having the sequence of said polynucleotide sequence set forth in SEQ ID NO:7 or a fragment thereof; and isolating said polynucleotide sequence. Fragments useful for obtaining such a polynucleotide include, for example, probes and primers fully described elsewhere herein.

As discussed elsewhere herein regarding polynucleotide assays of the invention, for instance, the polynucleotides of the invention, may be used as a hybridization probe for RNA, cDNA and genomic DNA to isolate full-length cDNAs and genomic clones encoding BASB061 and to isolate cDNA and genomic clones of other genes that have a high identity, particularly high sequence identity, to the BASB061 gene. Such probes generally will comprise at least 15 nucleotide residues or base pairs. Preferably, such probes will have at least 30 nucleotide residues or base pairs and may have at least 50 nucleotide residues or base pairs. Particularly preferred probes will have at least 20 nucleotide residues or base pairs and will have less than 30 nucleotide residues or base pairs.

A coding region of a BASB061 gene may be isolated by screening using a DNA sequence provided in SEQ ID NO:7 to synthesize an oligonucleotide probe. A labeled oligonucleotide having a sequence complementary to that of a gene of the invention is then used to screen a library of cDNA, genomic DNA or mRNA to determine which members of the library the probe hybridizes to.

It is an object of the invention to provide polynucleotides that encode BASB063 polypeptides, particularly polynucleotides that encode the polypeptide herein designated BASB063.

In a particularly preferred embodiment of the invention the polynucleotide comprises a region encoding BASB063 polypeptides comprising a sequence set out in SEQ ID NO:9 which includes a full length gene, or a variant thereof.

The BASB063 polynucleotide provided in SEQ ID NO:9 is the BASB063 polynucleotide from *Neisseria meningitidis* strains ATCC13090.

As a further aspect of the invention there are provided isolated nucleic acid molecules encoding and/or expressing BASB063 polypeptides and polynucleotides, particularly *Neisseria meningitidis* BASB063 polypeptides and polynucleotides, including, for example, unprocessed RNAs, ribozyme RNAs, mRNAs, cDNAs, genomic DNAs, B- and Z-DNAs. Further embodiments of the invention include biologically, diagnostically, prophylactically, clinically or therapeutically useful polynucleotides and polypeptides, and variants thereof, and compositions comprising the same.

Another aspect of the invention relates to isolated polynucleotides, including at least one full length gene, that encodes a BASB063 polypeptide having a deduced amino acid sequence of SEQ ID NO:10 and polynucleotides closely related thereto and variants thereof.

In another particularly preferred embodiment of the invention there is a BASB063 polypeptide from *Neisseria meningitidis* comprising or consisting of an amino acid sequence of SEQ ID NO:10 or a variant thereof.

Using the information provided herein, such as a polynucleotide sequence set out in SEQ ID NO:9 a polynucleotide of the invention encoding BASB063 polypeptide may be obtained using standard cloning and screening methods, such as those for cloning and sequencing

chromosomal DNA fragments from bacteria using *Neisseria meningitidis* cells as starting material, followed by obtaining a full length clone. For example, to obtain a polynucleotide sequence of the invention, such as a polynucleotide sequence given in SEQ ID NO:9 typically a library of clones of chromosomal DNA of *Neisseria meningitidis* in *E.coli* or some other suitable host is probed with a radiolabeled oligonucleotide, preferably a 17-mer or longer, derived from a partial sequence. Clones carrying DNA identical to that of the probe can then be distinguished using stringent hybridization conditions. By sequencing the individual clones thus identified by hybridization with sequencing primers designed from the original polypeptide or polynucleotide sequence it is then possible to extend the polynucleotide sequence in both directions to determine a full length gene sequence. Conveniently, such sequencing is performed, for example, using denatured double stranded DNA prepared from a plasmid clone. Suitable techniques are described by Maniatis, T., Fritsch, E.F. and Sambrook et al., *MOLECULAR CLONING, A LABORATORY MANUAL*, 2nd Ed.; Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York (1989). (see in particular Screening By Hybridization 1.90 and Sequencing Denatured Double-Stranded DNA Templates 13.70). Direct genomic DNA sequencing may also be performed to obtain a full length gene sequence. Illustrative of the invention, each polynucleotide set out in SEQ ID NO:9 was discovered in a DNA library derived from *Neisseria meningitidis*.

Moreover, the DNA sequence set out in SEQ ID NO:9 contains an open reading frame encoding a protein having about the number of amino acid residues set forth in SEQ ID NO:10 with a deduced molecular weight that can be calculated using amino acid residue molecular weight values well known to those skilled in the art.

The polynucleotide of SEQ ID NO:9, between the start codon at nucleotide number 1 and the stop codon which begins at nucleotide number 814 of SEQ ID NO:9, encodes the polypeptide of SEQ ID NO:10.

In a further aspect, the present invention provides for an isolated polynucleotide comprising or consisting of:

(a) a polynucleotide sequence which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, even more preferably at least 97-99% or exact identity to SEQ ID NO:9 over the entire length of SEQ ID NO:9; or

(b) a polynucleotide sequence encoding a polypeptide which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, even more preferably at least 97-99% or 100% exact, to the amino acid sequence of SEQ ID NO:10 over the entire length of SEQ ID NO:10.

A polynucleotide encoding a polypeptide of the present invention, including homologs and orthologs from species other than *Neisseria meningitidis*, may be obtained by a process which comprises the steps of screening an appropriate library under stringent hybridization conditions (for example, using a temperature in the range of 45 – 65°C and an SDS concentration from 0.1 – 1%) with a labeled or detectable probe consisting of or comprising the sequence of SEQ ID NO:9 or a fragment thereof; and isolating a full-length gene and/or genomic clones containing said polynucleotide sequence.

The invention provides a polynucleotide sequence identical over its entire length to a coding sequence (open reading frame) in SEQ ID NO:9. Also provided by the invention is a coding sequence for a mature polypeptide or a fragment thereof, by itself as well as a coding sequence for a mature polypeptide or a fragment in reading frame with another coding sequence, such as a sequence encoding a leader or secretory sequence, a pre-, or pro- or prepro-protein sequence. The polynucleotide of the invention may also contain at least one non-coding sequence, including for example, but not limited to at least one non-coding 5' and 3' sequence, such as the transcribed but non-translated sequences, termination signals (such as rho-dependent and rho-independent termination signals), ribosome binding sites, Kozak sequences, sequences that stabilize mRNA, introns, and polyadenylation signals. The polynucleotide sequence may also comprise additional coding sequence encoding additional amino acids. For example, a marker sequence that facilitates purification of the fused polypeptide can be encoded. In certain embodiments of the invention, the marker sequence is a hexa-histidine peptide, as provided in the pQE vector (Qiagen, Inc.) and described in Gentz

et al., *Proc. Natl. Acad. Sci., USA 86:* 821-824 (1989), or an HA peptide tag (Wilson *et al.*, *Cell 37:* 767 (1984), both of which may be useful in purifying polypeptide sequence fused to them. Polynucleotides of the invention also include, but are not limited to, polynucleotides comprising a structural gene and its naturally associated sequences that control gene expression.

The nucleotide sequence encoding BASB063 polypeptide of SEQ ID NO:10 may be identical to the polypeptide encoding sequence contained in nucleotides 1 to 813 of SEQ ID NO:9. Alternatively it may be a sequence, which as a result of the redundancy (degeneracy) of the genetic code, also encodes the polypeptide of SEQ ID NO:10. The term "polynucleotide encoding a polypeptide" as used herein encompasses polynucleotides that include a sequence encoding a polypeptide of the invention, particularly a bacterial polypeptide and more particularly a polypeptide of the *Neisseria meningitidis* BASB063 having an amino acid sequence set out in SEQ ID NO:10. The term also encompasses polynucleotides that include a single continuous region or discontinuous regions encoding the polypeptide (for example, polynucleotides interrupted by integrated phage, an integrated insertion sequence, an integrated vector sequence, an integrated transposon sequence, or due to RNA editing or genomic DNA reorganization) together with additional regions, that also may contain coding and/or non-coding sequences.

The invention further relates to variants of the polynucleotides described herein that encode variants of a polypeptide having a deduced amino acid sequence of SEQ ID NO:10. Fragments of polynucleotides of the invention may be used, for example, to synthesize full-length polynucleotides of the invention.

Further particularly preferred embodiments are polynucleotides encoding BASB063 variants, that have the amino acid sequence of BASB063 polypeptide of SEQ ID NO:10 in which several, a few, 5 to 10, 1 to 5, 1 to 3, 2, 1 or no amino acid residues are substituted, modified, deleted and/or added, in any combination. Especially preferred among these are silent

substitutions, additions and deletions that do not alter the properties and activities of BASB063 polypeptide.

Further preferred embodiments of the invention are polynucleotides that are at least 85% identical over their entire length to a polynucleotide encoding BASB063 polypeptide having an amino acid sequence set out in SEQ ID NO:10 and polynucleotides that are complementary to such polynucleotides. In this regard, polynucleotides at least 90% identical over their entire length to the same are particularly preferred, and among these particularly preferred polynucleotides, those with at least 95% are especially preferred. Furthermore, those with at least 97% are highly preferred among those with at least 95%, and among these those with at least 98% and at least 99% are particularly highly preferred, with at least 99% being the more preferred.

Preferred embodiments are polynucleotides encoding polypeptides that retain substantially the same biological function or activity as the mature polypeptide encoded by a DNA of SEQ ID NO:9.

In accordance with certain preferred embodiments of this invention there are provided polynucleotides that hybridize, particularly under stringent conditions, to BASB063 polynucleotide sequences, such as those polynucleotides in SEQ ID NO:9.

The invention further relates to polynucleotides that hybridize to the polynucleotide sequences provided herein. In this regard, the invention especially relates to polynucleotides that hybridize under stringent conditions to the polynucleotides described herein. As herein used, the terms "stringent conditions" and "stringent hybridization conditions" mean hybridization occurring only if there is at least 95% and preferably at least 97% identity between the sequences. A specific example of stringent hybridization conditions is overnight incubation at 42°C in a solution comprising: 50% formamide, 5x SSC (150mM NaCl, 15mM trisodium citrate), 50 mM sodium phosphate (pH7.6), 5x Denhardt's solution, 10% dextran sulfate, and 20 micrograms/ml of denatured, sheared salmon sperm DNA,

followed by washing the hybridization support in 0.1x SSC at about 65°C. Hybridization and wash conditions are well known and exemplified in Sambrook, *et al.*, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Second Edition, Cold Spring Harbor, N.Y., (1989), particularly Chapter 11 therein. Solution hybridization may also be used with the polynucleotide sequences provided by the invention.

The invention also provides a polynucleotide consisting of or comprising a polynucleotide sequence obtained by screening an appropriate library containing the complete gene for a polynucleotide sequence set forth in SEQ ID NO:9 under stringent hybridization conditions with a probe having the sequence of said polynucleotide sequence set forth in SEQ ID NO:9 or a fragment thereof; and isolating said polynucleotide sequence. Fragments useful for obtaining such a polynucleotide include, for example, probes and primers fully described elsewhere herein.

As discussed elsewhere herein regarding polynucleotide assays of the invention, for instance, the polynucleotides of the invention, may be used as a hybridization probe for RNA, cDNA and genomic DNA to isolate full-length cDNAs and genomic clones encoding BASB063 and to isolate cDNA and genomic clones of other genes that have a high identity, particularly high sequence identity, to the BASB063 gene. Such probes generally will comprise at least 15 nucleotide residues or base pairs. Preferably, such probes will have at least 30 nucleotide residues or base pairs and may have at least 50 nucleotide residues or base pairs. Particularly preferred probes will have at least 20 nucleotide residues or base pairs and will have less than 30 nucleotide residues or base pairs.

A coding region of a BASB063 gene may be isolated by screening using a DNA sequence provided in SEQ ID NO:9 to synthesize an oligonucleotide probe. A labeled oligonucleotide having a sequence complementary to that of a gene of the invention is then used to screen a library of cDNA, genomic DNA or mRNA to determine which members of the library the probe hybridizes to.

It is an object of the invention to provide polynucleotides that encode BASB065 polypeptides, particularly polynucleotides that encode the polypeptide herein designated BASB065.

In a particularly preferred embodiment of the invention the polynucleotide comprises a region encoding BASB065 polypeptides comprising a sequence set out in SEQ ID NO:11 which includes a full length gene, or a variant thereof.

The BASB065 polynucleotide provided in SEQ ID NO:11 is the BASB065 polynucleotide from *Neisseria meningitidis* strains ATCC13090.

As a further aspect of the invention there are provided isolated nucleic acid molecules encoding and/or expressing BASB065 polypeptides and polynucleotides, particularly *Neisseria meningitidis* BASB065 polypeptides and polynucleotides, including, for example, unprocessed RNAs, ribozyme RNAs, mRNAs, cDNAs, genomic DNAs, B- and Z-DNAs. Further embodiments of the invention include biologically, diagnostically, prophylactically, clinically or therapeutically useful polynucleotides and polypeptides, and variants thereof, and compositions comprising the same.

Another aspect of the invention relates to isolated polynucleotides, including at least one full length gene, that encodes a BASB065 polypeptide having a deduced amino acid sequence of SEQ ID NO:12 and polynucleotides closely related thereto and variants thereof.

In another particularly preferred embodiment of the invention there is a BASB065 polypeptide from *Neisseria meningitidis* comprising or consisting of an amino acid sequence of SEQ ID NO:12 or a variant thereof.

Using the information provided herein, such as a polynucleotide sequence set out in SEQ ID NO:11 a polynucleotide of the invention encoding BASB065 polypeptide may be obtained using standard cloning and screening methods, such as those for cloning and sequencing

chromosomal DNA fragments from bacteria using *Neisseria meningitidis* cells as starting material, followed by obtaining a full length clone. For example, to obtain a polynucleotide sequence of the invention, such as a polynucleotide sequence given in SEQ ID NO:11 typically a library of clones of chromosomal DNA of *Neisseria meningitidis* in *E.coli* or some other suitable host is probed with a radiolabeled oligonucleotide, preferably a 17-mer or longer, derived from a partial sequence. Clones carrying DNA identical to that of the probe can then be distinguished using stringent hybridization conditions. By sequencing the individual clones thus identified by hybridization with sequencing primers designed from the original polypeptide or polynucleotide sequence it is then possible to extend the polynucleotide sequence in both directions to determine a full length gene sequence. Conveniently, such sequencing is performed, for example, using denatured double stranded DNA prepared from a plasmid clone. Suitable techniques are described by Maniatis, T., Fritsch, E.F. and Sambrook et al., *MOLECULAR CLONING, A LABORATORY MANUAL*, 2nd Ed.; Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York (1989). (see in particular Screening By Hybridization 1.90 and Sequencing Denatured Double-Stranded DNA Templates 13.70). Direct genomic DNA sequencing may also be performed to obtain a full length gene sequence. Illustrative of the invention, each polynucleotide set out in SEQ ID NO:11 was discovered in a DNA library derived from *Neisseria meningitidis*.

Moreover, the DNA sequence set out in SEQ ID NO:11 contains an open reading frame encoding a protein having about the number of amino acid residues set forth in SEQ ID NO:12 with a deduced molecular weight that can be calculated using amino acid residue molecular weight values well known to those skilled in the art.

The polynucleotide of SEQ ID NO:11, between the start codon at nucleotide number 1 and the stop codon which begins at nucleotide number 715 of SEQ ID NO:11, encodes the polypeptide of SEQ ID NO:12.

In a further aspect, the present invention provides for an isolated polynucleotide comprising or consisting of:

(a) a polynucleotide sequence which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, even more preferably at least 97-99% or exact identity to SEQ ID NO:11 over the entire length of SEQ ID NO:11; or

(b) a polynucleotide sequence encoding a polypeptide which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, even more preferably at least 97-99% or 100% exact, to the amino acid sequence of SEQ ID NO:12 over the entire length of SEQ ID NO:12.

A polynucleotide encoding a polypeptide of the present invention, including homologs and orthologs from species other than *Neisseria meningitidis*, may be obtained by a process which comprises the steps of screening an appropriate library under stringent hybridization conditions (for example, using a temperature in the range of 45 – 65°C and an SDS concentration from 0.1 – 1%) with a labeled or detectable probe consisting of or comprising the sequence of SEQ ID NO:11 or a fragment thereof; and isolating a full-length gene and/or genomic clones containing said polynucleotide sequence.

The invention provides a polynucleotide sequence identical over its entire length to a coding sequence (open reading frame) in SEQ ID NO:11. Also provided by the invention is a coding sequence for a mature polypeptide or a fragment thereof, by itself as well as a coding sequence for a mature polypeptide or a fragment in reading frame with another coding sequence, such as a sequence encoding a leader or secretory sequence, a pre-, or pro- or prepro-protein sequence. The polynucleotide of the invention may also contain at least one non-coding sequence, including for example, but not limited to at least one non-coding 5' and 3' sequence, such as the transcribed but non-translated sequences, termination signals (such as rho-dependent and rho-independent termination signals), ribosome binding sites, Kozak sequences, sequences that stabilize mRNA, introns, and polyadenylation signals. The polynucleotide sequence may also comprise additional coding sequence encoding additional amino acids. For example, a marker sequence that facilitates purification of the fused polypeptide can be encoded. In certain embodiments of the invention, the marker sequence is a hexa-histidine peptide, as provided in the pQE vector (Qiagen, Inc.) and described in Gentz

et al., *Proc. Natl. Acad. Sci., USA 86:* 821-824 (1989), or an HA peptide tag (Wilson *et al.*, *Cell 37:* 767 (1984), both of which may be useful in purifying polypeptide sequence fused to them. Polynucleotides of the invention also include, but are not limited to, polynucleotides comprising a structural gene and its naturally associated sequences that control gene expression.

The nucleotide sequence encoding BASB065 polypeptide of SEQ ID NO:12 may be identical to the polypeptide encoding sequence contained in nucleotides 1 to 714 of SEQ ID NO:11. Alternatively it may be a sequence, which as a result of the redundancy (degeneracy) of the genetic code, also encodes the polypeptide of SEQ ID NO:12. The term "polynucleotide encoding a polypeptide" as used herein encompasses polynucleotides that include a sequence encoding a polypeptide of the invention, particularly a bacterial polypeptide and more particularly a polypeptide of the *Neisseria meningitidis* BASB065 having an amino acid sequence set out in SEQ ID NO:12. The term also encompasses polynucleotides that include a single continuous region or discontinuous regions encoding the polypeptide (for example, polynucleotides interrupted by integrated phage, an integrated insertion sequence, an integrated vector sequence, an integrated transposon sequence, or due to RNA editing or genomic DNA reorganization) together with additional regions, that also may contain coding and/or non-coding sequences.

The invention further relates to variants of the polynucleotides described herein that encode variants of a polypeptide having a deduced amino acid sequence of SEQ ID NO:12. Fragments of polynucleotides of the invention may be used, for example, to synthesize full-length polynucleotides of the invention.

Further particularly preferred embodiments are polynucleotides encoding BASB065 variants, that have the amino acid sequence of BASB065 polypeptide of SEQ ID NO:12 in which several, a few, 5 to 10, 1 to 5, 1 to 3, 2, 1 or no amino acid residues are substituted, modified, deleted and/or added, in any combination. Especially preferred among these are silent

substitutions, additions and deletions, that do not alter the properties and activities of BASB065 polypeptide.

Further preferred embodiments of the invention are polynucleotides that are at least 85% identical over their entire length to a polynucleotide encoding BASB065 polypeptide having an amino acid sequence set out in SEQ ID NO:12 and polynucleotides that are complementary to such polynucleotides. In this regard, polynucleotides at least 90% identical over their entire length to the same are particularly preferred, and among these particularly preferred polynucleotides, those with at least 95% are especially preferred. Furthermore, those with at least 97% are highly preferred among those with at least 95%, and among these those with at least 98% and at least 99% are particularly highly preferred, with at least 99% being the more preferred.

Preferred embodiments are polynucleotides encoding polypeptides that retain substantially the same biological function or activity as the mature polypeptide encoded by a DNA of SEQ ID NO:11.

In accordance with certain preferred embodiments of this invention there are provided polynucleotides that hybridize, particularly under stringent conditions, to BASB065 polynucleotide sequences, such as those polynucleotides in SEQ ID NO:11.

The invention further relates to polynucleotides that hybridize to the polynucleotide sequences provided herein. In this regard, the invention especially relates to polynucleotides that hybridize under stringent conditions to the polynucleotides described herein. As herein used, the terms "stringent conditions" and "stringent hybridization conditions" mean hybridization occurring only if there is at least 95% and preferably at least 97% identity between the sequences. A specific example of stringent hybridization conditions is overnight incubation at 42°C in a solution comprising: 50% formamide, 5x SSC (150mM NaCl, 15mM trisodium citrate), 50 mM sodium phosphate (pH7.6), 5x Denhardt's solution, 10% dextran sulfate, and 20 micrograms/ml of denatured, sheared salmon sperm DNA,

followed by washing the hybridization support in 0.1x SSC at about 65°C. Hybridization and wash conditions are well known and exemplified in Sambrook, *et al.*, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Second Edition, Cold Spring Harbor, N.Y., (1989), particularly Chapter 11 therein. Solution hybridization may also be used with the polynucleotide sequences provided by the invention.

The invention also provides a polynucleotide consisting of or comprising a polynucleotide sequence obtained by screening an appropriate library containing the complete gene for a polynucleotide sequence set forth in SEQ ID NO:11 under stringent hybridization conditions with a probe having the sequence of said polynucleotide sequence set forth in SEQ ID NO:11 or a fragment thereof; and isolating said polynucleotide sequence. Fragments useful for obtaining such a polynucleotide include, for example, probes and primers fully described elsewhere herein.

As discussed elsewhere herein regarding polynucleotide assays of the invention, for instance, the polynucleotides of the invention, may be used as a hybridization probe for RNA, cDNA and genomic DNA to isolate full-length cDNAs and genomic clones encoding BASB065 and to isolate cDNA and genomic clones of other genes that have a high identity, particularly high sequence identity, to the BASB065 gene. Such probes generally will comprise at least 15 nucleotide residues or base pairs. Preferably, such probes will have at least 30 nucleotide residues or base pairs and may have at least 50 nucleotide residues or base pairs. Particularly preferred probes will have at least 20 nucleotide residues or base pairs and will have less than 30 nucleotide residues or base pairs.

A coding region of a BASB065 gene may be isolated by screening using a DNA sequence provided in SEQ ID NO:11 to synthesize an oligonucleotide probe. A labeled oligonucleotide having a sequence complementary to that of a gene of the invention is then used to screen a library of cDNA, genomic DNA or mRNA to determine which members of the library the probe hybridizes to.

It is an object of the invention to provide polynucleotides that encode BASB066 polypeptides, particularly polynucleotides that encode the polypeptide herein designated BASB066.

In a particularly preferred embodiment of the invention the polynucleotide comprises a region encoding BASB066 polypeptides comprising a sequence set out in SEQ ID NO:13 which includes a full length gene, or a variant thereof.

The BASB066 polynucleotide provided in SEQ ID NO:13 is the BASB066 polynucleotide from *Neisseria meningitidis* strains ATCC13090.

As a further aspect of the invention there are provided isolated nucleic acid molecules encoding and/or expressing BASB066 polypeptides and polynucleotides, particularly *Neisseria meningitidis* BASB066 polypeptides and polynucleotides, including, for example, unprocessed RNAs, ribozyme RNAs, mRNAs, cDNAs, genomic DNAs, B- and Z-DNAs. Further embodiments of the invention include biologically, diagnostically, prophylactically, clinically or therapeutically useful polynucleotides and polypeptides, and variants thereof, and compositions comprising the same.

Another aspect of the invention relates to isolated polynucleotides, including at least one full length gene, that encodes a BASB066 polypeptide having a deduced amino acid sequence of SEQ ID NO:14 and polynucleotides closely related thereto and variants thereof.

In another particularly preferred embodiment of the invention there is a BASB066 polypeptide from *Neisseria meningitidis* comprising or consisting of an amino acid sequence of SEQ ID NO:14 or a variant thereof.

Using the information provided herein, such as a polynucleotide sequence set out in SEQ ID NO:13 a polynucleotide of the invention encoding BASB066 polypeptide may be obtained using standard cloning and screening methods, such as those for cloning and sequencing

chromosomal DNA fragments from bacteria using *Neisseria meningitidis* cells as starting material, followed by obtaining a full length clone. For example, to obtain a polynucleotide sequence of the invention, such as a polynucleotide sequence given in SEQ ID NO:13 typically a library of clones of chromosomal DNA of *Neisseria meningitidis* in *E.coli* or some other suitable host is probed with a radiolabeled oligonucleotide, preferably a 17-mer or longer, derived from a partial sequence. Clones carrying DNA identical to that of the probe can then be distinguished using stringent hybridization conditions. By sequencing the individual clones thus identified by hybridization with sequencing primers designed from the original polypeptide or polynucleotide sequence it is then possible to extend the polynucleotide sequence in both directions to determine a full length gene sequence. Conveniently, such sequencing is performed, for example, using denatured double stranded DNA prepared from a plasmid clone. Suitable techniques are described by Maniatis, T., Fritsch, E.F. and Sambrook et al., *MOLECULAR CLONING, A LABORATORY MANUAL*, 2nd Ed.; Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York (1989). (see in particular Screening By Hybridization 1.90 and Sequencing Denatured Double-Stranded DNA Templates 13.70). Direct genomic DNA sequencing may also be performed to obtain a full length gene sequence. Illustrative of the invention, each polynucleotide set out in SEQ ID NO:13 was discovered in a DNA library derived from *Neisseria meningitidis*.

Moreover, the DNA sequence set out in SEQ ID NO:13 contains an open reading frame encoding a protein having about the number of amino acid residues set forth in SEQ ID NO:14 with a deduced molecular weight that can be calculated using amino acid residue molecular weight values well known to those skilled in the art.

The polynucleotide of SEQ ID NO:13, between the start codon at nucleotide number 1 and the stop codon which begins at nucleotide number 1174 of SEQ ID NO:13, encodes the polypeptide of SEQ ID NO:14.

In a further aspect, the present invention provides for an isolated polynucleotide comprising or consisting of:

(a) a polynucleotide sequence which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, even more preferably at least 97-99% or exact identity to SEQ ID NO:13 over the entire length of SEQ ID NO:13; or

(b) a polynucleotide sequence encoding a polypeptide which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, even more preferably at least 97-99% or 100% exact, to the amino acid sequence of SEQ ID NO:14 over the entire length of SEQ ID NO:14.

A polynucleotide encoding a polypeptide of the present invention, including homologs and orthologs from species other than *Neisseria meningitidis*, may be obtained by a process which comprises the steps of screening an appropriate library under stringent hybridization conditions (for example, using a temperature in the range of 45 – 65°C and an SDS concentration from 0.1 – 1%) with a labeled or detectable probe consisting of or comprising the sequence of SEQ ID NO:13 or a fragment thereof; and isolating a full-length gene and/or genomic clones containing said polynucleotide sequence.

The invention provides a polynucleotide sequence identical over its entire length to a coding sequence (open reading frame) in SEQ ID NO:13. Also provided by the invention is a coding sequence for a mature polypeptide or a fragment thereof, by itself as well as a coding sequence for a mature polypeptide or a fragment in reading frame with another coding sequence, such as a sequence encoding a leader or secretory sequence, a pre-, or pro- or prepro-protein sequence. The polynucleotide of the invention may also contain at least one non-coding sequence, including for example, but not limited to at least one non-coding 5' and 3' sequence, such as the transcribed but non-translated sequences, termination signals (such as rho-dependent and rho-independent termination signals), ribosome binding sites, Kozak sequences, sequences that stabilize mRNA, introns, and polyadenylation signals. The polynucleotide sequence may also comprise additional coding sequence encoding additional amino acids. For example, a marker sequence that facilitates purification of the fused polypeptide can be encoded. In certain embodiments of the invention, the marker sequence is a hexa-histidine peptide, as provided in the pQE vector (Qiagen, Inc.) and described in Gentz

et al., *Proc. Natl. Acad. Sci., USA 86:* 821-824 (1989), or an HA peptide tag (Wilson *et al.*, *Cell 37:* 767 (1984), both of which may be useful in purifying polypeptide sequence fused to them. Polynucleotides of the invention also include, but are not limited to, polynucleotides comprising a structural gene and its naturally associated sequences that control gene expression.

The nucleotide sequence encoding BASB066 polypeptide of SEQ ID NO:14 may be identical to the polypeptide encoding sequence contained in nucleotides 1 to 1173 of SEQ ID NO:13. Alternatively it may be a sequence, which as a result of the redundancy (degeneracy) of the genetic code, also encodes the polypeptide of SEQ ID NO:14. The term "polynucleotide encoding a polypeptide" as used herein encompasses polynucleotides that include a sequence encoding a polypeptide of the invention, particularly a bacterial polypeptide and more particularly a polypeptide of the *Neisseria meningitidis* BASB066 having an amino acid sequence set out in SEQ ID NO:14. The term also encompasses polynucleotides that include a single continuous region or discontinuous regions encoding the polypeptide (for example, polynucleotides interrupted by integrated phage, an integrated insertion sequence, an integrated vector sequence, an integrated transposon sequence, or due to RNA editing or genomic DNA reorganization) together with additional regions, that also may contain coding and/or non-coding sequences.

The invention further relates to variants of the polynucleotides described herein that encode variants of a polypeptide having a deduced amino acid sequence of SEQ ID NO:14. Fragments of polynucleotides of the invention may be used, for example, to synthesize full-length polynucleotides of the invention.

Further particularly preferred embodiments are polynucleotides encoding BASB066 variants, that have the amino acid sequence of BASB066 polypeptide of SEQ ID NO:14 in which several, a few, 5 to 10, 1 to 5, 1 to 3, 2, 1 or no amino acid residues are substituted, modified, deleted and/or added, in any combination. Especially preferred among these are silent

substitutions, additions and deletions, that do not alter the properties and activities of BASB066 polypeptide.

Further preferred embodiments of the invention are polynucleotides that are at least 85% identical over their entire length to a polynucleotide encoding BASB066 polypeptide having an amino acid sequence set out in SEQ ID NO:14 and polynucleotides that are complementary to such polynucleotides. In this regard, polynucleotides at least 90% identical over their entire length to the same are particularly preferred, and among these particularly preferred polynucleotides, those with at least 95% are especially preferred. Furthermore, those with at least 97% are highly preferred among those with at least 95%, and among these those with at least 98% and at least 99% are particularly highly preferred, with at least 99% being the more preferred.

Preferred embodiments are polynucleotides encoding polypeptides that retain substantially the same biological function or activity as the mature polypeptide encoded by a DNA of SEQ ID NO:13.

In accordance with certain preferred embodiments of this invention there are provided polynucleotides that hybridize, particularly under stringent conditions, to BASB066 polynucleotide sequences, such as those polynucleotides in SEQ ID NO:13.

The invention further relates to polynucleotides that hybridize to the polynucleotide sequences provided herein. In this regard, the invention especially relates to polynucleotides that hybridize under stringent conditions to the polynucleotides described herein. As herein used, the terms "stringent conditions" and "stringent hybridization conditions" mean hybridization occurring only if there is at least 95% and preferably at least 97% identity between the sequences. A specific example of stringent hybridization conditions is overnight incubation at 42°C in a solution comprising: 50% formamide, 5x SSC (150mM NaCl, 15mM trisodium citrate), 50 mM sodium phosphate (pH7.6), 5x Denhardt's solution, 10% dextran sulfate, and 20 micrograms/ml of denatured, sheared salmon sperm DNA,

followed by washing the hybridization support in 0.1x SSC at about 65°C. Hybridization and wash conditions are well known and exemplified in Sambrook, *et al.*, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Second Edition, Cold Spring Harbor, N.Y., (1989), particularly Chapter 11 therein. Solution hybridization may also be used with the polynucleotide sequences provided by the invention.

The invention also provides a polynucleotide consisting of or comprising a polynucleotide sequence obtained by screening an appropriate library containing the complete gene for a polynucleotide sequence set forth in SEQ ID NO:13 under stringent hybridization conditions with a probe having the sequence of said polynucleotide sequence set forth in SEQ ID NO:13 or a fragment thereof; and isolating said polynucleotide sequence. Fragments useful for obtaining such a polynucleotide include, for example, probes and primers fully described elsewhere herein.

As discussed elsewhere herein regarding polynucleotide assays of the invention, for instance, the polynucleotides of the invention, may be used as a hybridization probe for RNA, cDNA and genomic DNA to isolate full-length cDNAs and genomic clones encoding BASB066 and to isolate cDNA and genomic clones of other genes that have a high identity, particularly high sequence identity, to the BASB066 gene. Such probes generally will comprise at least 15 nucleotide residues or base pairs. Preferably, such probes will have at least 30 nucleotide residues or base pairs and may have at least 50 nucleotide residues or base pairs. Particularly preferred probes will have at least 20 nucleotide residues or base pairs and will have less than 30 nucleotide residues or base pairs.

A coding region of a BASB066 gene may be isolated by screening using a DNA sequence provided in SEQ ID NO:13 to synthesize an oligonucleotide probe. A labeled oligonucleotide having a sequence complementary to that of a gene of the invention is then used to screen a library of cDNA, genomic DNA or mRNA to determine which members of the library the probe hybridizes to.

It is an object of the invention to provide polynucleotides that encode BASB071 polypeptides, particularly polynucleotides that encode the polypeptide herein designated BASB071.

In a particularly preferred embodiment of the invention the polynucleotide comprises a region encoding BASB071 polypeptides comprising a sequence set out in SEQ ID NO:15 which includes a full length gene, or a variant thereof.

The BASB071 polynucleotide provided in SEQ ID NO:15 is the BASB071 polynucleotide from *Neisseria meningitidis* strains ATCC13090.

As a further aspect of the invention there are provided isolated nucleic acid molecules encoding and/or expressing BASB071 polypeptides and polynucleotides, particularly *Neisseria meningitidis* BASB071 polypeptides and polynucleotides, including, for example, unprocessed RNAs, ribozyme RNAs, mRNAs, cDNAs, genomic DNAs, B- and Z-DNAs. Further embodiments of the invention include biologically, diagnostically, prophylactically, clinically or therapeutically useful polynucleotides and polypeptides, and variants thereof, and compositions comprising the same.

Another aspect of the invention relates to isolated polynucleotides, including at least one full length gene, that encodes a BASB071 polypeptide having a deduced amino acid sequence of SEQ ID NO:16 and polynucleotides closely related thereto and variants thereof.

In another particularly preferred embodiment of the invention there is a BASB071 polypeptide from *Neisseria meningitidis* comprising or consisting of an amino acid sequence of SEQ ID NO:16 or a variant thereof.

Using the information provided herein, such as a polynucleotide sequence set out in SEQ ID NO:15 a polynucleotide of the invention encoding BASB071 polypeptide may be obtained using standard cloning and screening methods, such as those for cloning and sequencing

chromosomal DNA fragments from bacteria using *Neisseria meningitidis* cells as starting material, followed by obtaining a full length clone. For example, to obtain a polynucleotide sequence of the invention, such as a polynucleotide sequence given in SEQ ID NO:15 typically a library of clones of chromosomal DNA of *Neisseria meningitidis* in *E.coli* or some other suitable host is probed with a radiolabeled oligonucleotide, preferably a 17-mer or longer, derived from a partial sequence. Clones carrying DNA identical to that of the probe can then be distinguished using stringent hybridization conditions. By sequencing the individual clones thus identified by hybridization with sequencing primers designed from the original polypeptide or polynucleotide sequence it is then possible to extend the polynucleotide sequence in both directions to determine a full length gene sequence. Conveniently, such sequencing is performed, for example, using denatured double stranded DNA prepared from a plasmid clone. Suitable techniques are described by Maniatis, T., Fritsch, E.F. and Sambrook et al., *MOLECULAR CLONING, A LABORATORY MANUAL*, 2nd Ed.; Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York (1989). (see in particular Screening By Hybridization 1.90 and Sequencing Denatured Double-Stranded DNA Templates 13.70). Direct genomic DNA sequencing may also be performed to obtain a full length gene sequence. Illustrative of the invention, each polynucleotide set out in SEQ ID NO:15 was discovered in a DNA library derived from *Neisseria meningitidis*.

Moreover, the DNA sequence set out in SEQ ID NO:15 contains an open reading frame encoding a protein having about the number of amino acid residues set forth in SEQ ID NO:16 with a deduced molecular weight that can be calculated using amino acid residue molecular weight values well known to those skilled in the art.

The polynucleotide of SEQ ID NO:15, between the start codon at nucleotide number 1 and the stop codon which begins at nucleotide number 805 of SEQ ID NO:15, encodes the polypeptide of SEQ ID NO:16.

In a further aspect, the present invention provides for an isolated polynucleotide comprising or consisting of:

(a) a polynucleotide sequence which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, even more preferably at least 97-99% or exact identity to SEQ ID NO:15 over the entire length of SEQ ID NO:15; or

(b) a polynucleotide sequence encoding a polypeptide which has at least 85% identity, more preferably at least 90% identity, yet more preferably at least 95% identity, even more preferably at least 97-99% or 100% exact, to the amino acid sequence of SEQ ID NO:16 over the entire length of SEQ ID NO:16.

A polynucleotide encoding a polypeptide of the present invention, including homologs and orthologs from species other than *Neisseria meningitidis*, may be obtained by a process which comprises the steps of screening an appropriate library under stringent hybridization conditions (for example, using a temperature in the range of 45 – 65°C and an SDS concentration from 0.1 – 1%) with a labeled or detectable probe consisting of or comprising the sequence of SEQ ID NO:15 or a fragment thereof; and isolating a full-length gene and/or genomic clones containing said polynucleotide sequence.

The invention provides a polynucleotide sequence identical over its entire length to a coding sequence (open reading frame) in SEQ ID NO:15. Also provided by the invention is a coding sequence for a mature polypeptide or a fragment thereof, by itself as well as a coding sequence for a mature polypeptide or a fragment in reading frame with another coding sequence, such as a sequence encoding a leader or secretory sequence, a pre-, or pro- or prepro-protein sequence. The polynucleotide of the invention may also contain at least one non-coding sequence, including for example, but not limited to at least one non-coding 5' and 3' sequence, such as the transcribed but non-translated sequences, termination signals (such as rho-dependent and rho-independent termination signals), ribosome binding sites, Kozak sequences, sequences that stabilize mRNA, introns, and polyadenylation signals. The polynucleotide sequence may also comprise additional coding sequence encoding additional amino acids. For example, a marker sequence that facilitates purification of the fused polypeptide can be encoded. In certain embodiments of the invention, the marker sequence is a hexa-histidine peptide, as provided in the pQE vector (Qiagen, Inc.) and described in Gentz

et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA 86: 821-824 (1989), or an HA peptide tag (Wilson *et al., Cell 37:* 767 (1984), both of which may be useful in purifying polypeptide sequence fused to them. Polynucleotides of the invention also include, but are not limited to, polynucleotides comprising a structural gene and its naturally associated sequences that control gene expression.

The nucleotide sequence encoding BASB071 polypeptide of SEQ ID NO:16 may be identical to the polypeptide encoding sequence contained in nucleotides 1 to 804 of SEQ ID NO:15. Alternatively it may be a sequence, which as a result of the redundancy (degeneracy) of the genetic code, also encodes the polypeptide of SEQ ID NO:16. The term "polynucleotide encoding a polypeptide" as used herein encompasses polynucleotides that include a sequence encoding a polypeptide of the invention, particularly a bacterial polypeptide and more particularly a polypeptide of the *Neisseria meningitidis* BASB071 having an amino acid sequence set out in SEQ ID NO:16. The term also encompasses polynucleotides that include a single continuous region or discontinuous regions encoding the polypeptide (for example, polynucleotides interrupted by integrated phage, an integrated insertion sequence, an integrated vector sequence, an integrated transposon sequence, or due to RNA editing or genomic DNA reorganization) together with additional regions, that also may contain coding and/or non-coding sequences.

The invention further relates to variants of the polynucleotides described herein that encode variants of a polypeptide having a deduced amino acid sequence of SEQ ID NO:16. Fragments of polynucleotides of the invention may be used, for example, to synthesize full-length polynucleotides of the invention.

Further particularly preferred embodiments are polynucleotides encoding BASB071 variants, that have the amino acid sequence of BASB071 polypeptide of SEQ ID NO:16 in which several, a few, 5 to 10, 1 to 5, 1 to 3, 2, 1 or no amino acid residues are substituted, modified, deleted and/or added, in any combination. Especially preferred among these are silent

substitutions, additions and deletions, that do not alter the properties and activities of BASB071 polypeptide.

Further preferred embodiments of the invention are polynucleotides that are at least 85% identical over their entire length to a polynucleotide encoding BASB071 polypeptide having an amino acid sequence set out in SEQ ID NO:16 and polynucleotides that are complementary to such polynucleotides. In this regard, polynucleotides at least 90% identical over their entire length to the same are particularly preferred, and among these particularly preferred polynucleotides, those with at least 95% are especially preferred. Furthermore, those with at least 97% are highly preferred among those with at least 95%, and among these those with at least 98% and at least 99% are particularly highly preferred, with at least 99% being the more preferred.

Preferred embodiments are polynucleotides encoding polypeptides that retain substantially the same biological function or activity as the mature polypeptide encoded by a DNA of SEQ ID NO:15.

In accordance with certain preferred embodiments of this invention there are provided polynucleotides that hybridize, particularly under stringent conditions, to BASB071 polynucleotide sequences, such as those polynucleotides in SEQ ID NO:15.

The invention further relates to polynucleotides that hybridize to the polynucleotide sequences provided herein. In this regard, the invention especially relates to polynucleotides that hybridize under stringent conditions to the polynucleotides described herein. As herein used, the terms "stringent conditions" and "stringent hybridization conditions" mean hybridization occurring only if there is at least 95% and preferably at least 97% identity between the sequences. A specific example of stringent hybridization conditions is overnight incubation at 42°C in a solution comprising: 50% formamide, 5x SSC (150mM NaCl, 15mM trisodium citrate), 50 mM sodium phosphate (pH7.6), 5x Denhardt's solution, 10% dextran sulfate, and 20 micrograms/ml of denatured, sheared salmon sperm DNA,

followed by washing the hybridization support in 0.1x SSC at about 65°C. Hybridization and wash conditions are well known and exemplified in Sambrook, *et al.*, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Second Edition, Cold Spring Harbor, N.Y., (1989), particularly Chapter 11 therein. Solution hybridization may also be used with the polynucleotide sequences provided by the invention.

The invention also provides a polynucleotide consisting of or comprising a polynucleotide sequence obtained by screening an appropriate library containing the complete gene for a polynucleotide sequence set forth in SEQ ID NO:15 under stringent hybridization conditions with a probe having the sequence of said polynucleotide sequence set forth in SEQ ID NO:15 or a fragment thereof; and isolating said polynucleotide sequence. Fragments useful for obtaining such a polynucleotide include, for example, probes and primers fully described elsewhere herein.

As discussed elsewhere herein regarding polynucleotide assays of the invention, for instance, the polynucleotides of the invention, may be used as a hybridization probe for RNA, cDNA and genomic DNA to isolate full-length cDNAs and genomic clones encoding BASB071 and to isolate cDNA and genomic clones of other genes that have a high identity, particularly high sequence identity, to the BASB071 gene. Such probes generally will comprise at least 15 nucleotide residues or base pairs. Preferably, such probes will have at least 30 nucleotide residues or base pairs and may have at least 50 nucleotide residues or base pairs. Particularly preferred probes will have at least 20 nucleotide residues or base pairs and will have less than 30 nucleotide residues or base pairs.

A coding region of a BASB071 gene may be isolated by screening using a DNA sequence provided in SEQ ID NO:15 to synthesize an oligonucleotide probe. A labeled oligonucleotide having a sequence complementary to that of a gene of the invention is then used to screen a library of cDNA, genomic DNA or mRNA to determine which members of the library the probe hybridizes to.

There are several methods available and well known to those skilled in the art to obtain full-length DNAs, or extend short DNAs, for example those based on the method of Rapid Amplification of cDNA ends (RACE) (see, for example, Frohman, *et al.*, *PNAS USA 85:* 8998-9002, 1988). Recent modifications of the technique, exemplified by the Marathon™ technology (Clontech Laboratories Inc.) for example, have significantly simplified the search for longer cDNAs. In the Marathon™ technology, cDNAs have been prepared from mRNA extracted from a chosen tissue and an 'adaptor' sequence ligated onto each end. Nucleic acid amplification (PCR) is then carried out to amplify the "missing" 5' end of the DNA using a combination of gene specific and adaptor specific oligonucleotide primers. The PCR reaction is then repeated using "nested" primers, that is, primers designed to anneal within the amplified product (typically an adaptor specific primer that anneals further 3' in the adaptor sequence and a gene specific primer that anneals further 5' in the selected gene sequence). The products of this reaction can then be analyzed by DNA sequencing and a full-length DNA constructed either by joining the product directly to the existing DNA to give a complete sequence, or carrying out a separate full-length PCR using the new sequence information for the design of the 5' primer.

The polynucleotides and polypeptides of the invention may be employed, for example, as research reagents and materials for discovery of treatments of and diagnostics for diseases, particularly human diseases, as further discussed herein relating to polynucleotide assays.

The polynucleotides of the invention that are oligonucleotides derived from a sequence of SEQ ID NOS:1 – 16 may be used in the processes herein as described, but preferably for PCR, to determine whether or not the polynucleotides identified herein in whole or in part are transcribed in bacteria in infected tissue. It is recognized that such sequences will also have utility in diagnosis of the stage of infection and type of infection the pathogen has attained.

The invention also provides polynucleotides that encode a polypeptide that is the mature protein plus additional amino or carboxyl-terminal amino acids, or amino acids interior to the mature polypeptide (when the mature form has more than one polypeptide chain, for instance). Such sequences may play a role in processing of a protein from precursor to a mature form, may allow protein transport, may lengthen or shorten protein half-life or may facilitate manipulation of a protein for assay or production, among other things. As generally is the case *in vivo*, the additional amino acids may be processed away from the mature protein by cellular enzymes.

For each and every polynucleotide of the invention there is provided a polynucleotide complementary to it. It is preferred that these complementary polynucleotides are fully complementary to each polynucleotide with which they are complementary.

A precursor protein, having a mature form of the polypeptide fused to one or more prosequences may be an inactive form of the polypeptide. When prosequences are removed such inactive precursors generally are activated. Some or all of the prosequences may be removed before activation. Generally, such precursors are called proproteins.

In addition to the standard A, G, C, T/U representations for nucleotides, the term "N" may also be used in describing certain polynucleotides of the invention. "N" means that any of the four DNA or RNA nucleotides may appear at such a designated position in the DNA or RNA sequence, except it is preferred that N is not a nucleic acid that when taken in combination with adjacent nucleotide positions, when read in the correct reading frame, would have the effect of generating a premature termination codon in such reading frame.

In sum, a polynucleotide of the invention may encode a mature protein, a mature protein plus a leader sequence (which may be referred to as a preprotein), a precursor of a mature protein having one or more prosequences that are not the leader sequences of a preprotein, or a preproprotein, which is a precursor to a proprotein, having a leader sequence and one or more

prosequences, which generally are removed during processing steps that produce active and mature forms of the polypeptide.

In accordance with an aspect of the invention, there is provided the use of a polynucleotide of the invention for therapeutic or prophylactic purposes, in particular genetic immunization.

The use of a polynucleotide of the invention in genetic immunization will preferably employ a suitable delivery method such as direct injection of plasmid DNA into muscles (Wolff *et al., Hum Mol Genet* (1992) 1: 363, Manthorpe *et al., Hum. Gene Ther.* (1983) 4: 419), delivery of DNA complexed with specific protein carriers (Wu *et al., J Biol Chem.* (1989) 264: 16985), coprecipitation of DNA with calcium phosphate (Benvenisty & Reshef, *PNAS USA*, (1986) 83: 9551), encapsulation of DNA in various forms of liposomes (Kaneda *et al., Science* (1989) 243: 375), particle bombardment (Tang *et al., Nature* (1992) 356:152, Eisenbraun *et al., DNA Cell Biol* (1993) 12: 791) and *in vivo* infection using cloned retroviral vectors (Seeger *et al., PNAS USA* (1984) 81: 5849).

Vectors, Host Cells, Expression Systems

The invention also relates to vectors that comprise a polynucleotide or polynucleotides of the invention, host cells that are genetically engineered with vectors of the invention and the production of polypeptides of the invention by recombinant techniques. Cell-free translation systems can also be employed to produce such proteins using RNAs derived from the DNA constructs of the invention.

Recombinant polypeptides of the present invention may be prepared by processes well known in those skilled in the art from genetically engineered host cells comprising expression systems. Accordingly, in a further aspect, the present invention relates to expression systems that comprise a polynucleotide or polynucleotides of the present invention, to host cells which

are genetically engineered with such expression systems, and to the production of polypeptides of the invention by recombinant techniques.

For recombinant production of the polypeptides of the invention, host cells can be genetically engineered to incorporate expression systems or portions thereof or polynucleotides of the invention. Introduction of a polynucleotide into the host cell can be effected by methods described in many standard laboratory manuals, such as Davis, *et al.*, *BASIC METHODS IN MOLECULAR BIOLOGY*, (1986) and Sambrook, *et al.*, *MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL*, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989), such as, calcium phosphate transfection, DEAE-dextran mediated transfection, transvection, microinjection, cationic lipid-mediated transfection, electroporation, transduction, scrape loading, ballistic introduction and infection.

Representative examples of appropriate hosts include bacterial cells, such as cells of streptococci, staphylococci, enterococci, *E. coli*, streptomyces, cyanobacteria, *Bacillus subtilis*, *Moraxella catarrhalis, Haemophilus influenzae* and *Neisseria meningitidis*; fungal cells, such as cells of a yeast, *Kluveromyces*, *Saccharomyces*, a basidiomycete, *Candida albicans* and *Aspergillus*; insect cells such as cells of *Drosophila* S2 and *Spodoptera* Sf9; animal cells such as CHO, COS, HeLa, C127, 3T3, BHK, 293, CV-1 and Bowes melanoma cells; and plant cells, such as cells of a gymnosperm or angiosperm.

A great variety of expression systems can be used to produce the polypeptides of the invention. Such vectors include, among others, chromosomal-, episomal- and virus-derived vectors, for example, vectors derived from bacterial plasmids, from bacteriophage, from transposons, from yeast episomes, from insertion elements, from yeast chromosomal elements, from viruses such as baculoviruses, papova viruses, such as SV40, vaccinia viruses, adenoviruses, fowl pox viruses, pseudorabies viruses, picornaviruses, retroviruses, and alphaviruses and vectors derived from combinations thereof, such as those derived from plasmid and bacteriophage genetic elements, such as cosmids and phagemids. The expression system constructs may contain control regions that regulate as well as engender

expression. Generally, any system or vector suitable to maintain, propagate or express polynucleotides and/or to express a polypeptide in a host may be used for expression in this regard. The appropriate DNA sequence may be inserted into the expression system by any of a variety of well-known and routine techniques, such as, for example, those set forth in Sambrook *et al.*, *MOLECULAR CLONING, A LABORATORY MANUAL*, (*supra*).

In recombinant expression systems in eukaryotes, for secretion of a translated protein into the lumen of the endoplasmic reticulum, into the periplasmic space or into the extracellular environment, appropriate secretion signals may be incorporated into the expressed polypeptide. These signals may be endogenous to the polypeptide or they may be heterologous signals.

Polypeptides of the present invention can be recovered and purified from recombinant cell cultures by well-known methods including ammonium sulfate or ethanol precipitation, acid extraction, anion or cation exchange chromatography, phosphocellulose chromatography, hydrophobic interaction chromatography, affinity chromatography, hydroxylapatite chromatography and lectin chromatography. Most preferably, ion metal affinity chromatography (IMAC) is employed for purification. Well known techniques for refolding proteins may be employed to regenerate active conformation when the polypeptide is denatured during intracellular synthesis, isolation and or purification.

The expression system may also be a recombinant live microorganism, such as a virus or bacterium. The gene of interest can be inserted into the genome of a live recombinant virus or bacterium. Inoculation and *in vivo* infection with this live vector will lead to *in vivo* expression of the antigen and induction of immune responses. Viruses and bacteria used for this purpose are for instance: poxviruses (e.g; vaccinia, fowlpox, canarypox), alphaviruses (Sindbis virus, Semliki Forest Virus, Venezuelian Equine Encephalitis Virus), adenoviruses, adeno-associated virus, picornaviruses (poliovirus, rhinovirus), herpesviruses (varicella zoster virus, etc), Listeria, Salmonella , Shigella, Neisseria, BCG.

These viruses and bacteria can be virulent, or attenuated in various ways in order to obtain live vaccines. Such live vaccines also form part of the invention.

Diagnostic, Prognostic, Serotyping and Mutation Assays

This invention is also related to the use of BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 polynucleotides and polypeptides of the invention for use as diagnostic reagents. Detection of BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 polynucleotides and/or polypeptides in a eukaryote, particularly a mammal, and especially a human, will provide a diagnostic method for diagnosis of disease, staging of disease or response of an infectious organism to drugs. Eukaryotes, particularly mammals, and especially humans, particularly those infected or suspected to be infected with an organism comprising the BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 gene or protein, may be detected at the nucleic acid or amino acid level by a variety of well known techniques as well as by methods provided herein.

Polypeptides and polynucleotides for prognosis, diagnosis or other analysis may be obtained from a putatively infected and/or infected individual's bodily materials. Polynucleotides from any of these sources, particularly DNA or RNA, may be used directly for detection or may be amplified enzymatically by using PCR or any other amplification technique prior to analysis. RNA, particularly mRNA, cDNA and genomic DNA may also be used in the same ways. Using amplification, characterization of the species and strain of infectious or resident organism present in an individual, may be made by an analysis of the genotype of a selected polynucleotide of the organism. Deletions and insertions can be detected by a change in size of the amplified product in comparison to a genotype of a reference sequence selected from a related organism, preferably a different species of the same genus or a different strain of the same species. Point mutations can be identified by hybridizing amplified DNA to labeled BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 polynucleotide sequences. Perfectly or significantly matched sequences can be distinguished

from imperfectly or more significantly mismatched duplexes by DNase or RNase digestion, for DNA or RNA respectively, or by detecting differences in melting temperatures or renaturation kinetics. Polynucleotide sequence differences may also be detected by alterations in the electrophoretic mobility of polynucleotide fragments in gels as compared to a reference sequence. This may be carried out with or without denaturing agents. Polynucleotide differences may also be detected by direct DNA or RNA sequencing. See, for example, Myers *et al.*, *Science, 230:* 1242 (1985). Sequence changes at specific locations also may be revealed by nuclease protection assays, such as RNase, V1 and S1 protection assay or a chemical cleavage method. See, for example, Cotton *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 85:* 4397-4401 (1985).

In another embodiment, an array of oligonucleotides probes comprising a BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 nucleotide sequence or fragments thereof can be constructed to conduct efficient screening of, for example, genetic mutations, serotype, taxonomic classification or identification. Array technology methods are well known and have general applicability and can be used to address a variety of questions in molecular genetics including gene expression, genetic linkage, and genetic variability (see, for example, Chee *et al.*, *Science, 274: 610* (1996)).

Thus in another aspect, the present invention relates to a diagnostic kit which comprises:
(a) a polynucleotide of the present invention, preferably the nucleotide sequence of SEQ ID NO:1,3,5,7,9,11,13,15 or a fragment thereof ;
(b) a nucleotide sequence complementary to that of (a);
(c) a polypeptide of the present invention, preferably the polypeptide of SEQ ID NO:2,4,6,8,10,12,14,16 or a fragment thereof; or
(d) an antibody to a polypeptide of the present invention, preferably to the polypeptide of SEQ ID NO:2,4,6,8,10,12,14,16.

It will be appreciated that in any such kit, (a), (b), (c) or (d) may comprise a substantial component. Such a kit will be of use in diagnosing a disease or susceptibility to a disease, among others.

This invention also relates to the use of polynucleotides of the present invention as diagnostic reagents. Detection of a mutated form of a polynucleotide of the invention, preferable, SEQ ID NO:1,3,5,7,9,11,13,15 which is associated with a disease or pathogenicity will provide a diagnostic tool that can add to, or define, a diagnosis of a disease, a prognosis of a course of disease, a determination of a stage of disease, or a susceptibility to a disease, which results from under-expression, over-expression or altered expression of the polynucleotide. Organisms, particularly infectious organisms, carrying mutations in such polynucleotide may be detected at the polynucleotide level by a variety of techniques, such as those described elsewhere herein.

Cells from an organism carrying mutations or polymorphisms (allelic variations) in a polynucleotide and/or polypeptide of the invention may also be detected at the polynucleotide or polypeptide level by a variety of techniques, to allow for serotyping, for example. For example, RT-PCR can be used to detect mutations in the RNA. It is particularly preferred to use RT-PCR in conjunction with automated detection systems, such as, for example, GeneScan. RNA, cDNA or genomic DNA may also be used for the same purpose, PCR. As an example, PCR primers complementary to a polynucleotide encoding BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 polypeptide can be used to identify and analyze mutations.

The invention further provides primers with 1, 2, 3 or 4 nucleotides removed from the 5' and/or the 3' end. These primers may be used for, among other things, amplifying BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 DNA and/or RNA isolated from a sample derived from an individual, such as a bodily material. The primers may be used to amplify a polynucleotide isolated from an infected individual, such that the polynucleotide may then be subject to various techniques for elucidation of the

polynucleotide sequence. In this way, mutations in the polynucleotide sequence may be detected and used to diagnose and/or prognose the infection or its stage or course, or to serotype and/or classify the infectious agent.

The invention further provides a process for diagnosing disease, preferably bacterial infections, more preferably infections caused by *Neisseria meningitidis*, comprising determining from a sample derived from an individual, such as a bodily material, an increased level of expression of polynucleotide having a sequence of SEQ ID NO:1,3,5,7,9,11,13,15. Increased or decreased expression of a BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 polynucleotide can be measured using any on of the methods well known in the art for the quantitation of polynucleotides, such as, for example, amplification, PCR, RT-PCR, RNase protection, Northern blotting, spectrometry and other hybridization methods.

In addition, a diagnostic assay in accordance with the invention for detecting over-expression of BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 polypeptide compared to normal control tissue samples may be used to detect the presence of an infection, for example. Assay techniques that can be used to determine levels of a BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 polypeptide, in a sample derived from a host, such as a bodily material, are well-known to those of skill in the art. Such assay methods include radioimmunoassays, competitive-binding assays, Western Blot analysis, antibody sandwich assays, antibody detection and ELISA assays.

The polynucleotides of the invention may be used as components of polynucleotide arrays, preferably high density arrays or grids. These high density arrays are particularly useful for diagnostic and prognostic purposes. For example, a set of spots each comprising a different gene, and further comprising a polynucleotide or polynucleotides of the invention, may be used for probing, such as using hybridization or nucleic acid amplification, using a probe obtained or derived from a bodily sample, to determine the

presence of a particular polynucleotide sequence or related sequence in an individual. Such a presence may indicate the presence of a pathogen, particularly *Neisseria meningitidis*, and may be useful in diagnosing and/or prognosing disease or a course of disease. A grid comprising a number of variants of the polynucleotide sequence of SEQ ID NO:1,3,5,7,9,11,13,15 are preferred. Also preferred is a grid comprising a number of variants of a polynucleotide sequence encoding the polypeptide sequence of SEQ ID NO:2,4,6,8,10,12,14,16.

Antibodies

The polypeptides and polynucleotides of the invention or variants thereof, or cells expressing the same can be used as immunogens to produce antibodies immunospecific for such polypeptides or polynucleotides respectively.

In certain preferred embodiments of the invention there are provided antibodies against BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 polypeptides or polynucleotides.

Antibodies generated against the polypeptides or polynucleotides of the invention can be obtained by administering the polypeptides and/or polynucleotides of the invention, or epitope-bearing fragments of either or both, analogues of either or both, or cells expressing either or both, to an animal, preferably a nonhuman, using routine protocols. For preparation of monoclonal antibodies, any technique known in the art that provides antibodies produced by continuous cell line cultures can be used. Examples include various techniques, such as those in Kohler, G. and Milstein, C., *Nature 256:* 495-497 (1975); Kozbor *et al.*, *Immunology Today 4:* 72 (1983); Cole *et al.*, pg. 77-96 in *MONOCLONAL ANTIBODIES AND CANCER THERAPY*, Alan R. Liss, Inc. (1985).

Techniques for the production of single chain antibodies (U.S. Patent No. 4,946,778) can be adapted to produce single chain antibodies to polypeptides or polynucleotides of this

invention. Also, transgenic mice, or other organisms or animals, such as other mammals, may be used to express humanized antibodies immunospecific to the polypeptides or polynucleotides of the invention.

Alternatively, phage display technology may be utilized to select antibody genes with binding activities towards a polypeptide of the invention either from repertoires of PCR amplified v-genes of lymphocytes from humans screened for possessing anti- BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 or from naive libraries (McCafferty, *et al.*, (1990), Nature 348, 552-554; Marks, *et al.*, (1992) *Biotechnology 10*, 779-783). The affinity of these antibodies can also be improved by, for example, chain shuffling (Clackson *et al.*, (1991) *Nature 352:* 628).

The above-described antibodies may be employed to isolate or to identify clones expressing the polypeptides or polynucleotides of the invention to purify the polypeptides or polynucleotides by, for example, affinity chromatography.

Thus, among others, antibodies against BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 -polypeptide or BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 -polynucleotide may be employed to treat infections, particularly bacterial infections.

Polypeptide variants include antigenically, epitopically or immunologically equivalent variants form a particular aspect of this invention.

Preferably, the antibody or variant thereof is modified to make it less immunogenic in the individual. For example, if the individual is human the antibody may most preferably be "humanized," where the complimentarity determining region or regions of the hybridoma-derived antibody has been transplanted into a human monoclonal antibody, for example as described in Jones *et al.* (1986), *Nature* 321, 522-525 or Tempest *et al.*, (1991) *Biotechnology* 9, 266-273.

Antagonists and Agonists - Assays and Molecules

Polypeptides and polynucleotides of the invention may also be used to assess the binding of small molecule substrates and ligands in, for example, cells, cell-free preparations, chemical libraries, and natural product mixtures. These substrates and ligands may be natural substrates and ligands or may be structural or functional mimetics. See, *e.g.*, Coligan *et al.*, *Current Protocols in Immunology 1(2):* Chapter 5 (1991).

The screening methods may simply measure the binding of a candidate compound to the polypeptide or polynucleotide, or to cells or membranes bearing the polypeptide or polynucleotide, or a fusion protein of the polypeptide by means of a label directly or indirectly associated with the candidate compound. Alternatively, the screening method may involve competition with a labeled competitor. Further, these screening methods may test whether the candidate compound results in a signal generated by activation or inhibition of the polypeptide or polynucleotide, using detection systems appropriate to the cells comprising the polypeptide or polynucleotide. Inhibitors of activation are generally assayed in the presence of a known agonist and the effect on activation by the agonist by the presence of the candidate compound is observed. Constitutively active polypeptide and/or constitutively expressed polypeptides and polynucleotides may be employed in screening methods for inverse agonists or inhibitors, in the absence of an agonist or inhibitor, by testing whether the candidate compound results in inhibition of activation of the polypeptide or polynucleotide, as the case may be. Further, the screening methods may simply comprise the steps of mixing a candidate compound with a solution containing a polypeptide or polynucleotide of the present invention, to form a mixture, measuring BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 polypeptide and/or polynucleotide activity in the mixture, and comparing the BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 polypeptide and/or polynucleotide activity of the mixture to a standard. Fusion proteins, such as those made from Fc portion and BASB051, BASB057, BASB060, BASB061,

BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 polypeptide, as hereinbefore described, can also be used for high-throughput screening assays to identify antagonists of the polypeptide of the present invention, as well as of phylogenetically and and/or functionally related polypeptides (see D. Bennett *et al.*, J Mol Recognition, 8:52-58 (1995); and K. Johanson *et al.*, J Biol Chem, 270(16):9459-9471 (1995)).

The polynucleotides, polypeptides and antibodies that bind to and/or interact with a polypeptide of the present invention may also be used to configure screening methods for detecting the effect of added compounds on the production of mRNA and/or polypeptide in cells. For example, an ELISA assay may be constructed for measuring secreted or cell associated levels of polypeptide using monoclonal and polyclonal antibodies by standard methods known in the art. This can be used to discover agents which may inhibit or enhance the production of polypeptide (also called antagonist or agonist, respectively) from suitably manipulated cells or tissues.

The invention also provides a method of screening compounds to identify those which enhance (agonist) or block (antagonist) the action of BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 polypeptides or polynucleotides, particularly those compounds that are bacteristatic and/or bactericidal. The method of screening may involve high-throughput techniques. For example, to screen for agonists or antagonists, a synthetic reaction mix, a cellular compartment, such as a membrane, cell envelope or cell wall, or a preparation of any thereof, comprising BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 polypeptide and a labeled substrate or ligand of such polypeptide is incubated in the absence or the presence of a candidate molecule that may be a BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 agonist or antagonist. The ability of the candidate molecule to agonize or antagonize the BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 polypeptide is reflected in decreased binding of the labeled ligand or decreased production of product from such substrate. Molecules that bind gratuitously, *i.e.*, without inducing the effects of BASB051, BASB057, BASB060,

BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 polypeptide are most likely to be good antagonists. Molecules that bind well and, as the case may be, increase the rate of product production from substrate, increase signal transduction, or increase chemical channel activity are agonists. Detection of the rate or level of, as the case may be, production of product from substrate, signal transduction, or chemical channel activity may be enhanced by using a reporter system. Reporter systems that may be useful in this regard include but are not limited to colorimetric, labeled substrate converted into product, a reporter gene that is responsive to changes in BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 polynucleotide or polypeptide activity, and binding assays known in the art.

Another example of an assay for BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 agonists is a competitive assay that combines BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 and a potential agonist with BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 -binding molecules, recombinant BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 binding molecules, natural substrates or ligands, or substrate or ligand mimetics, under appropriate conditions for a competitive inhibition assay. BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 can be labeled, such as by radioactivity or a colorimetric compound, such that the number of BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 molecules bound to a binding molecule or converted to product can be determined accurately to assess the effectiveness of the potential antagonist.

Potential antagonists include, among others, small organic molecules, peptides, polypeptides and antibodies that bind to a polynucleotide and/or polypeptide of the invention and thereby inhibit or extinguish its activity or expression. Potential antagonists also may be small organic molecules, a peptide, a polypeptide such as a closely related protein or antibody that binds the same sites on a binding molecule, such as a binding molecule, without inducing BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071

-induced activities, thereby preventing the action or expression of BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 polypeptides and/or polynucleotides by excluding BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 polypeptides and/or polynucleotides from binding.

Potential antagonists include a small molecule that binds to and occupies the binding site of the polypeptide thereby preventing binding to cellular binding molecules, such that normal biological activity is prevented. Examples of small molecules include but are not limited to small organic molecules, peptides or peptide-like molecules. Other potential antagonists include antisense molecules (see Okano, *J. Neurochem. 56:* 560 (1991); *OLIGODEOXYNUCLEOTIDES AS ANTISENSE INHIBITORS OF GENE EXPRESSION*, CRC Press, Boca Raton, FL (1988), for a description of these molecules). Preferred potential antagonists include compounds related to and variants of BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071.

In a further aspect, the present invention relates to genetically engineered soluble fusion proteins comprising a polypeptide of the present invention, or a fragment thereof, and various portions of the constant regions of heavy or light chains of immunoglobulins of various subclasses (IgG, IgM, IgA, IgE). Preferred as an immunoglobulin is the constant part of the heavy chain of human IgG, particularly IgG1, where fusion takes place at the hinge region. In a particular embodiment, the Fc part can be removed simply by incorporation of a cleavage sequence which can be cleaved with blood clotting factor Xa. Furthermore, this invention relates to processes for the preparation of these fusion proteins by genetic engineering, and to the use thereof for drug screening, diagnosis and therapy. A further aspect of the invention also relates to polynucleotides encoding such fusion proteins. Examples of fusion protein technology can be found in International Patent Application Nos. WO94/29458 and WO94/22914.

Each of the polynucleotide sequences provided herein may be used in the discovery and development of antibacterial compounds. The encoded protein, upon expression, can be

used as a target for the screening of antibacterial drugs. Additionally, the polynucleotide sequences encoding the amino terminal regions of the encoded protein or Shine-Delgarno or other translation facilitating sequences of the respective mRNA can be used to construct antisense sequences to control the expression of the coding sequence of interest.

The invention also provides the use of the polypeptide, polynucleotide, agonist or antagonist of the invention to interfere with the initial physical interaction between a pathogen or pathogens and a eukaryotic, preferably mammalian, host responsible for sequelae of infection. In particular, the molecules of the invention may be used: in the prevention of adhesion of bacteria, in particular gram positive and/or gram negative bacteria, to eukaryotic, preferably mammalian, extracellular matrix proteins on in-dwelling devices or to extracellular matrix proteins in wounds; to block bacterial adhesion between eukaryotic, preferably mammalian, extracellular matrix proteins and bacterial BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 proteins that mediate tissue damage and/or; to block the normal progression of pathogenesis in infections initiated other than by the implantation of in-dwelling devices or by other surgical techniques.

In accordance with yet another aspect of the invention, there are provided BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 agonists and antagonists, preferably bacteristatic or bactericidal agonists and antagonists.

The antagonists and agonists of the invention may be employed, for instance, to prevent, inhibit and/or treat diseases.

In a further aspect, the present invention relates to mimotopes of the polypeptide of the invention. A mimotope is a peptide sequence, sufficiently similar to the native peptide (sequentially or structurally), which is capable of being recognised by antibodies which recognise the native peptide; or is capable of raising antibodies which recognise the native peptide when coupled to a suitable carrier.

Peptide mimotopes may be designed for a particular purpose by addition, deletion or substitution of elected amino acids. Thus, the peptides may be modified for the purposes of ease of conjugation to a protein carrier. For example, it may be desirable for some chemical conjugation methods to include a terminal cysteine. In addition it may be desirable for peptides conjugated to a protein carrier to include a hydrophobic terminus distal from the conjugated terminus of the peptide, such that the free unconjugated end of the peptide remains associated with the surface of the carrier protein. Thereby presenting the peptide in a conformation which most closely resembles that of the peptide as found in the context of the whole native molecule. For example, the peptides may be altered to have an N-terminal cysteine and a C-terminal hydrophobic amidated tail. Alternatively, the addition or substitution of a D-stereoisomer form of one or more of the amino acids may be performed to create a beneficial derivative, for example to enhance stability of the peptide.

Alternatively, peptide mimotopes may be identified using antibodies which are capable themselves of binding to the polypeptides of the present invention using techniques such as phage display technology (EP 0 552 267 B1). This technique, generates a large number of peptide sequences which mimic the structure of the native peptides and are, therefore, capable of binding to anti-native peptide antibodies, but may not necessarily themselves share significant sequence homology to the native polypeptide.

Vaccines

Another aspect of the invention relates to a method for inducing an immunological response in an individual, particularly a mammal, preferably humans, which comprises inoculating the individual with BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 polynucleotide and/or polypeptide, or a fragment or variant thereof, adequate to produce antibody and/ or T cell immune response to protect said individual from infection, particularly bacterial infection and most particularly

Neisseria meningitidis infection. Also provided are methods whereby such immunological response slows bacterial replication.

Yet another aspect of the invention relates to a method of inducing immunological response in an individual which comprises delivering to such individual a nucleic acid vector, sequence or ribozyme to direct expression of BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 polynucleotide and/or polypeptide, or a fragment or a variant thereof, for expressing BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 polynucleotide and/or polypeptide, or a fragment or a variant thereof *in vivo* in order to induce an immunological response, such as, to produce antibody and/ or T cell immune response, including, for example, cytokine-producing T cells or cytotoxic T cells, to protect said individual, preferably a human, from disease, whether that disease is already established within the individual or not. One example of administering the gene is by accelerating it into the desired cells as a coating on particles or otherwise. Such nucleic acid vector may comprise DNA, RNA, a ribozyme, a modified nucleic acid, a DNA/RNA hybrid, a DNA-protein complex or an RNA-protein complex.

A further aspect of the invention relates to an immunological composition that when introduced into an individual, preferably a human, capable of having induced within it an immunological response, induces an immunological response in such individual to a BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 polynucleotide and/or polypeptide encoded therefrom, wherein the composition comprises a recombinant BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 polynucleotide and/or polypeptide encoded therefrom and/or comprises DNA and/or RNA which encodes and expresses an antigen of said BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 polynucleotide, polypeptide encoded therefrom, or other polypeptide of the invention. The immunological response may be used therapeutically or prophylactically and may take the

form of antibody immunity and/or cellular immunity, such as cellular immunity arising from CTL or CD4+ T cells.

A BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 polypeptide or a fragment thereof may be fused with co-protein or chemical moiety which may or may not by itself produce antibodies, but which is capable of stabilizing the first protein and producing a fused or modified protein which will have antigenic and/or immunogenic properties, and preferably protective properties. Thus fused recombinant protein, preferably further comprises an antigenic co-protein, such as lipoprotein D from *Haemophilus influenzae*, Glutathione-S-transferase (GST) or beta-galactosidase, or any other relatively large co-protein which solubilizes the protein and facilitates production and purification thereof. Moreover, the co-protein may act as an adjuvant in the sense of providing a generalized stimulation of the immune system of the organism receiving the protein. The co-protein may be attached to either the amino- or carboxy-terminus of the first protein.

In a vaccine composition according to the invention, a BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 polypeptide and/or polynucleotide, or a fragment, or a mimotope, or a variant thereof may be present in a vector, such as the live recombinant vectors described above for example live bacterial vectors.

Also suitable are non-live vectors for the BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 polypeptide, for example bacterial outer-membrane vesicles or "blebs". OM blebs are derived from the outer membrane of the two-layer membrane of Gram-negative bacteria and have been documented in many Gram-negative bacteria (Zhou, L *et al.* 1998. *FEMS Microbiol. Lett.* 163:223-228) including *C. trachomatis* and *C. psittaci.* A non-exhaustive list of bacterial pathogens reported to produce blebs also includes: *Bordetella pertussis, Borrelia burgdorferi, Brucella melitensis, Brucella ovis, Escherichia coli, Haemophilus influenza, Legionella pneumophila,*

Neisseria gonorrhoeae, Neisseria meningitidis, Pseudomonas aeruginosa and Yersinia enterocolitica.

Blebs have the advantage of providing outer-membrane proteins in their native conformation and are thus particularly useful for vaccines. Blebs can also be improved for vaccine use by engineering the bacterium so as to modify the expression of one or more molecules at the outer membrane. Thus for example the expression of a desired immunogenic protein at the outer membrane, such as the BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 polypeptide, can be introduced or upregulated (e.g. by altering the promoter). Instead or in addition, the expression of outer-membrane molecules which are either not relevant (e.g. unprotective antigens or immunodominant but variable proteins) or detrimental (e.g. toxic molecules such as LPS, or potential inducers of an autoimmune response) can be downregulated. These approaches are discussed in more detail below.

The non-coding flanking regions of the BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 gene contains regulatory elements important in the expression of the gene. This regulation takes place both at the transcriptional and translational level. The sequence of these regions, either upstream or downstream of the open reading frame of the gene, can be obtained by DNA sequencing. This sequence information allows the determination of potential regulatory motifs such as the different promoter elements, terminator sequences, inducible sequence elements, repressors, elements responsible for phase variation, the shine-dalgarno sequence, regions with potential secondary structure involved in regulation, as well as other types of regulatory motifs or sequences.

This sequence information allows the modulation of the natural expression of the BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 gene. The upregulation of the gene expression may be accomplished by altering the promoter, the shine-dalgarno sequence, potential repressor or operator elements, or any

other elements involved. Likewise, downregulation of expression can be achieved by similar types of modification. Alternatively, by changing phase variation sequences, the expression of the gene can be put under phase variation control, or it may be uncoupled from this regulation. In another approach, the expression of the gene can be put under the control of one or more inducible elements allowing regulated expression. Examples of such regulation include, but are not limited to, induction by temperature shift, addition of inductor substrates like selected carbohydrates or their derivatives, trace elements, vitamins, co-factors, metal ions, etc.

Such modifications as described above can be introduced by several different means. The modification of sequences involved in gene expression can be carried out *in vivo* by random mutagenesis followed by selection for the desired phenotype. Another approach consists in isolating the region of interest and modifying it by random mutagenesis, or site-directed replacement, insertion or deletion mutagenesis. The modified region can then be reintroduced into the bacterial genome by homologous recombination, and the effect on gene expression can be assessed. In another approach, the sequence knowledge of the region of interest can be used to replace or delete all or part of the natural regulatory sequences. In this case, the regulatory region targeted is isolated and modified so as to contain the regulatory elements from another gene, a combination of regulatory elements from different genes, a synthetic regulatory region, or any other regulatory region, or to delete selected parts of the wild-type regulatory sequences. These modified sequences can then be reintroduced into the bacterium via homologous recombination into the genome. A non-exhaustive list of preferred promoters that could be used for up-regulation of gene expression includes the promoters porA, porB, lbpB, tbpB, p110, lst, hpuAB from *N. meningitidis* or *N. gonorroheae;* ompCD, copB, lbpB, ompE, UspA1; UspA2; TbpB from *M. Catarrhalis;* p1, p2, p4, p5, p6, lpD, tbpB, D15, Hia, Hmw1, Hmw2 from *H. influenzae.*

In one example, the expression of the gene can be modulated by exchanging its promoter with a stronger promoter (through isolating the upstream sequence of the gene, in vitro modification of this sequence, and reintroduction into the genome by homologous

recombination). Upregulated expression can be obtained in both the bacterium as well as in the outer membrane vesicles shed (or made) from the bacterium.

In other examples, the described approaches can be used to generate recombinant bacterial strains with improved characteristics for vaccine applications. These can be, but are not limited to, attenuated strains, strains with increased expression of selected antigens, strains with knock-outs (or decreased expression) of genes interfering with the immune response, strains with modulated expression of immunodominant proteins, strains with modulated shedding of outer-membrane vesicles.

Thus, also provided by the invention is a modified upstream region of the BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 gene, which modified upstream region contains a heterologous regulatory element which alters the expression level of the BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 protein located at the outer membrane. The upstream region according to this aspect of the invention includes the sequence upstream of the BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 gene. The upstream region starts immediately upstream of the BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 gene and continues usually to a position no more than about 1000 bp upstream of the gene from the ATG start codon. In the case of a gene located in a polycistronic sequence (operon) the upstream region can start immediately preceding the gene of interest, or preceding the first gene in the operon. Preferably, a modified upstream region according to this aspect of the invention contains a heterologous promotor at a position between 500 and 700 bp upstream of the ATG.

Thus, the invention provides a BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 and BASB071 polypeptide, in a modified bacterial bleb. The invention further provides modified host cells capable of producing the non-live membrane-based bleb vectors. The invention further provides nucleic acid vectors comprising the BASB051,

BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 and BASB071 gene having a modified upstream region containing a heterologous regulatory element.

Further provided by the invention are processes to prepare the host cells and bacterial blebs according to the invention.

Also provided by this invention are compositions, particularly vaccine compositions, and methods comprising the polypeptides and/or polynucleotides of the invention and immunostimulatory DNA sequences, such as those described in Sato, Y. *et al.* Science 273: 352 (1996).

Also, provided by this invention are methods using the described polynucleotide or particular fragments thereof, which have been shown to encode non-variable regions of bacterial cell surface proteins, in polynucleotide constructs used in such genetic immunization experiments in animal models of infection with *Neisseria meningitidis*. Such experiments will be particularly useful for identifying protein epitopes able to provoke a prophylactic or therapeutic immune response. It is believed that this approach will allow for the subsequent preparation of monoclonal antibodies of particular value, derived from the requisite organ of the animal successfully resisting or clearing infection, for the development of prophylactic agents or therapeutic treatments of bacterial infection, particularly *Neisseria meningitidis* infection, in mammals, particularly humans.

The invention also includes a vaccine formulation which comprises an immunogenic recombinant polypeptide and/or polynucleotide of the invention together with a suitable carrier, such as a pharmaceutically acceptable carrier. Since the polypeptides and polynucleotides may be broken down in the stomach, each is preferably administered parenterally, including, for example, administration that is subcutaneous, intramuscular, intravenous, or intradermal. Formulations suitable for parenteral administration include aqueous and non-aqueous sterile injection solutions which may contain anti-oxidants, buffers, bacteristatic compounds and solutes which render the formulation isotonic with the

bodily fluid, preferably the blood, of the individual; and aqueous and non-aqueous sterile suspensions which may include suspending agents or thickening agents. The formulations may be presented in unit-dose or multi-dose containers, for example, sealed ampoules and vials and may be stored in a freeze-dried condition requiring only the addition of the sterile liquid carrier immediately prior to use.

The vaccine formulation of the invention may also include adjuvant systems for enhancing the immunogenicity of the formulation. Preferably the adjuvant system raises preferentially a TH1 type of response.

An immune response may be broadly distinguished into two extreme catagories, being a humoral or cell mediated immune responses (traditionally characterised by antibody and cellular effector mechanisms of protection respectively). These categories of response have been termed TH1-type responses (cell-mediated response), and TH2-type immune responses (humoral response).

Extreme TH1-type immune responses may be characterised by the generation of antigen specific, haplotype restricted cytotoxic T lymphocytes, and natural killer cell responses. In mice TH1-type responses are often characterised by the generation of antibodies of the IgG2a subtype, whilst in the human these correspond to IgG1 type antibodies. TH2-type immune responses are characterised by the generation of a broad range of immunoglobulin isotypes including in mice IgG1, IgA, and IgM.

It can be considered that the driving force behind the development of these two types of immune responses are cytokines. High levels of TH1-type cytokines tend to favour the induction of cell mediated immune responses to the given antigen, whilst high levels of TH2-type cytokines tend to favour the induction of humoral immune responses to the antigen.

The distinction of TH1 and TH2-type immune responses is not absolute. In reality an individual will support an immune response which is described as being predominantly TH1 or predominantly TH2. However, it is often convenient to consider the families of cytokines in terms of that described in murine CD4 +ve T cell clones by Mosmann and Coffman (*Mosmann, T.R. and Coffman, R.L. (1989) TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. Annual Review of Immunology, 7, p145-173*). Traditionally, TH1-type responses are associated with the production of the INF-γ and IL-2 cytokines by T-lymphocytes. Other cytokines often directly associated with the induction of TH1-type immune responses are not produced by T-cells, such as IL-12. In contrast, TH2- type responses are associated with the secretion of IL-4, IL-5, IL-6 and IL-13.

It is known that certain vaccine adjuvants are particularly suited to the stimulation of either TH1 or TH2 - type cytokine responses. Traditionally the best indicators of the TH1:TH2 balance of the immune response after a vaccination or infection includes direct measurement of the production of TH1 or TH2 cytokines by T lymphocytes *in vitro* after restimulation with antigen, and/or the measurement of the IgG1:IgG2a ratio of antigen specific antibody responses.

Thus, a TH1-type adjuvant is one which preferentially stimulates isolated T-cell populations to produce high levels of TH1-type cytokines when re-stimulated with antigen *in vitro*, and promotes development of both CD8+ cytotoxic T lymphocytes and antigen specific immunoglobulin responses associated with TH1-type isotype.

Adjuvants which are capable of preferential stimulation of the TH1 cell response are described in International Patent Application No. WO 94/00153 and WO 95/17209.

3 De-O-acylated monophosphoryl lipid A (3D-MPL) is one such adjuvant. This is known from GB 2220211 (Ribi). Chemically it is a mixture of 3 De-O-acylated monophosphoryl lipid A with 4, 5 or 6 acylated chains and is manufactured by Ribi

Immunochem, Montana. A preferred form of 3 De-O-acylated monophosphoryl lipid A is disclosed in European Patent 0 689 454 B1 (SmithKline Beecham Biologicals SA).

Preferably, the particles of 3D-MPL are small enough to be sterile filtered through a 0.22micron membrane (European Patent number 0 689 454).
3D-MPL will be present in the range of 10μg - 100μg preferably 25-50μg per dose wherein the antigen will typically be present in a range 2-50μg per dose.

Another preferred adjuvant comprises QS21, an Hplc purified non-toxic fraction derived from the bark of Quillaja Saponaria Molina. Optionally this may be admixed with 3 De-O-acylated monophosphoryl lipid A (3D-MPL), optionally together with a carrier.

The method of production of QS21 is disclosed in US patent No. 5,057,540.

Non-reactogenic adjuvant formulations containing QS21 have been described previously (WO 96/33739). Such formulations comprising QS21 and cholesterol have been shown to be successful TH1 stimulating adjuvants when formulated together with an antigen.

Further adjuvants which are preferential stimulators of TH1 cell response include immunomodulatory oligonucleotides, for example unmethylated CpG sequences as disclosed in WO 96/02555.

Combinations of different TH1 stimulating adjuvants, such as those mentioned hereinabove, are also contemplated as providing an adjuvant which is a preferential stimulator of TH1 cell response. For example, QS21 can be formulated together with 3D-MPL. The ratio of QS21 : 3D-MPL will typically be in the order of 1 : 10 to 10 : 1; preferably 1:5 to 5 : 1 and often substantially 1 : 1. The preferred range for optimal synergy is 2.5 : 1 to 1 : 1 3D-MPL: QS21.

Preferably a carrier is also present in the vaccine composition according to the invention. The carrier may be an oil in water emulsion, or an aluminium salt, such as aluminium phosphate or aluminium hydroxide.

A preferred oil-in-water emulsion comprises a metabolisible oil, such as squalene, alpha tocopherol and Tween 80. In a particularly preferred aspect the antigens in the vaccine composition according to the invention are combined with QS21 and 3D-MPL in such an emulsion. Additionally the oil in water emulsion may contain span 85 and/or lecithin and/or tricaprylin.

Typically for human administration QS21 and 3D-MPL will be present in a vaccine in the range of 1μg - 200μg, such as 10-100μg, preferably 10μg - 50μg per dose. Typically the oil in water will comprise from 2 to 10% squalene, from 2 to 10% alpha tocopherol and from 0.3 to 3% tween 80. Preferably the ratio of squalene: alpha tocopherol is equal to or less than 1 as this provides a more stable emulsion. Span 85 may also be present at a level of 1%. In some cases it may be advantageous that the vaccines of the present invention will further contain a stabiliser.

Non-toxic oil in water emulsions preferably contain a non-toxic oil, e.g. squalane or squalene, an emulsifier, e.g. Tween 80, in an aqueous carrier. The aqueous carrier may be, for example, phosphate buffered saline.

A particularly potent adjuvant formulation involving QS21, 3D-MPL and tocopherol in an oil in water emulsion is described in WO 95/17210.

The present invention also provides a polyvalent vaccine composition comprising a vaccine formulation of the invention in combination with other antigens, in particular antigens useful for treating cancers, autoimmune diseases and related conditions. Such a polyvalent vaccine composition may include a TH-1 inducing adjuvant as hereinbefore described.

While the invention has been described with reference to certain BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 and BASB071 polypeptides and polynucleotides, it is to be understood that this covers fragments of the naturally occurring polypeptides and polynucleotides, and similar polypeptides and polynucleotides with additions, deletions or substitutions which do not substantially affect the immunogenic properties of the recombinant polypeptides or polynucleotides.

The antigen can also be delivered in the form of whole bacteria (dead or alive) or as subcellular fractions, these possibilities do include *N.meningitidis* itself.

Compositions, kits and administration

In a further aspect of the invention there are provided compositions comprising a BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 polynucleotide and/or a BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 or BASB071 polypeptide for administration to a cell or to a multicellular organism.

The invention also relates to compositions comprising a polynucleotide and/or a polypeptide discussed herein or their agonists or antagonists. The polypeptides and polynucleotides of the invention may be employed in combination with a non-sterile or sterile carrier or carriers for use with cells, tissues or organisms, such as a pharmaceutical carrier suitable for administration to an individual. Such compositions comprise, for instance, a media additive or a therapeutically effective amount of a polypeptide and/or polynucleotide of the invention and a pharmaceutically acceptable carrier or excipient. Such carriers may include, but are not limited to, saline, buffered saline, dextrose, water, glycerol, ethanol and combinations thereof. The formulation should suit the mode of administration. The invention further relates to diagnostic and pharmaceutical packs and kits comprising one or more containers filled with one or more of the ingredients of the aforementioned compositions of the invention.

Polypeptides, polynucleotides and other compounds of the invention may be employed alone or in conjunction with other compounds, such as therapeutic compounds.

The pharmaceutical compositions may be administered in any effective, convenient manner including, for instance, administration by topical, oral, anal, vaginal, intravenous, intraperitoneal, intramuscular, subcutaneous, intranasal or intradermal routes among others.

In therapy or as a prophylactic, the active agent may be administered to an individual as an injectable composition, for example as a sterile aqueous dispersion, preferably isotonic.

In a further aspect, the present invention provides for pharmaceutical compositions comprising a therapeutically effective amount of a polypeptide and/or polynucleotide, such as the soluble form of a polypeptide and/or polynucleotide of the present invention, agonist or antagonist peptide or small molecule compound, in combination with a pharmaceutically acceptable carrier or excipient. Such carriers include, but are not limited to, saline, buffered saline, dextrose, water, glycerol, ethanol, and combinations thereof. The invention further relates to pharmaceutical packs and kits comprising one or more containers filled with one or more of the ingredients of the aforementioned compositions of the invention. Polypeptides, polynucleotides and other compounds of the present invention may be employed alone or in conjunction with other compounds, such as therapeutic compounds.

The composition will be adapted to the route of administration, for instance by a systemic or an oral route. Preferred forms of systemic administration include injection, typically by intravenous injection. Other injection routes, such as subcutaneous, intramuscular, or intraperitoneal, can be used. Alternative means for systemic administration include transmucosal and transdermal administration using penetrants such as bile salts or fusidic acids or other detergents. In addition, if a polypeptide or other compounds of the present invention can be formulated in an enteric or an encapsulated formulation, oral administration may also be possible. Administration of these compounds may also be topical and/or localized, in the form of salves, pastes, gels, solutions, powders and the like.

For administration to mammals, and particularly humans, it is expected that the daily dosage level of the active agent will be from 0.01 mg/kg to 10 mg/kg, typically around 1 mg/kg. The physician in any event will determine the actual dosage which will be most suitable for an individual and will vary with the age, weight and response of the particular individual. The above dosages are exemplary of the average case. There can, of course, be individual instances where higher or lower dosage ranges are merited, and such are within the scope of this invention.

The dosage range required depends on the choice of peptide, the route of administration, the nature of the formulation, the nature of the subject's condition, and the judgment of the attending practitioner. Suitable dosages, however, are in the range of 0.1-100 μg/kg of subject.

A vaccine composition is conveniently in injectable form. Conventional adjuvants may be employed to enhance the immune response. A suitable unit dose for vaccination is 0.5-5 microgram/kg of antigen, and such dose is preferably administered 1-3 times and with an interval of 1-3 weeks. With the indicated dose range, no adverse toxicological effects will be observed with the compounds of the invention which would preclude their administration to suitable individuals.

Wide variations in the needed dosage, however, are to be expected in view of the variety of compounds available and the differing efficiencies of various routes of administration. For example, oral administration would be expected to require higher dosages than administration by intravenous injection. Variations in these dosage levels can be adjusted using standard empirical routines for optimization, as is well understood in the art.

Sequence Databases, Sequences in a Tangible Medium, and Algorithms

Polynucleotide and polypeptide sequences form a valuable information resource with which to determine their 2- and 3-dimensional structures as well as to identify further sequences of similar homology. These approaches are most easily facilitated by storing the sequence in a computer readable medium and then using the stored data in a known macromolecular structure program or to search a sequence database using well known searching tools, such as the GCG program package.

Also provided by the invention are methods for the analysis of character sequences or strings, particularly genetic sequences or encoded protein sequences. Preferred methods of sequence analysis include, for example, methods of sequence homology analysis, such as identity and similarity analysis, DNA, RNA and protein structure analysis, sequence assembly, cladistic analysis, sequence motif analysis, open reading frame determination, nucleic acid base calling, codon usage analysis, nucleic acid base trimming, and sequencing chromatogram peak analysis.

A computer based method is provided for performing homology identification. This method comprises the steps of: providing a first polynucleotide sequence comprising the sequence of a polynucleotide of the invention in a computer readable medium; and comparing said first polynucleotide sequence to at least one second polynucleotide or polypeptide sequence to identify homology.

A computer based method is also provided for performing homology identification, said method comprising the steps of: providing a first polypeptide sequence comprising the sequence of a polypeptide of the invention in a computer readable medium; and comparing said first polypeptide sequence to at least one second polynucleotide or polypeptide sequence to identify homology.

All publications and references, including but not limited to patents and patent applications, cited in this specification are herein incorporated by reference in their entirety as if each individual publication or reference were specifically and individually indicated to be

incorporated by reference herein as being fully set forth. Any patent application to which this application claims priority is also incorporated by reference herein in its entirety in the manner described above for publications and references.

DEFINITIONS

"Identity," as known in the art, is a relationship between two or more polypeptide sequences or two or more polynucleotide sequences, as the case may be, as determined by comparing the sequences. In the art, "identity" also means the degree of sequence relatedness between polypeptide or polynucleotide sequences, as the case may be, as determined by the match between strings of such sequences. "Identity" can be readily calculated by known methods, including but not limited to those described in (*Computational Molecular Biology*, Lesk, A.M., ed., Oxford University Press, New York, 1988; *Biocomputing: Informatics and Genome Projects*, Smith, D.W., ed., Academic Press, New York, 1993; *Computer Analysis of Sequence Data*, Part I, Griffin, A.M., and Griffin, H.G., eds., Humana Press, New Jersey, 1994; *Sequence Analysis in Molecular Biology*, von Heine, G., Academic Press, 1987; and *Sequence Analysis Primer*, Gribskov, M. and Devereux, J., eds., M Stockton Press, New York, 1991; and Carillo, H., and Lipman, D., SIAM *J. Applied Math., 48:* 1073 (1988). Methods to determine identity are designed to give the largest match between the sequences tested. Moreover, methods to determine identity are codified in publicly available computer programs. Computer program methods to determine identity between two sequences include, but are not limited to, the GAP program in the GCG program package (Devereux, J., et al., *Nucleic Acids Research 12(1):* 387 (1984)), BLASTP, BLASTN (Altschul, S.F. et al., *J. Mol. Biol. 215:* 403-410 (1990), and FASTA(Pearson and Lipman Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85; 2444-2448 (1988). The BLAST family of programs is publicly available from NCBI and other sources (*BLAST Manual*, Altschul, S., *et al.*, NCBI NLM NIH Bethesda, MD 20894; Altschul, S., *et al.*, *J. Mol. Biol. 215*: 403-410 (1990). The well known Smith Waterman algorithm may also be used to determine identity.

Parameters for polypeptide sequence comparison include the following:

Algorithm: Needleman and Wunsch, J. Mol Biol. 48: 443-453 (1970)
Comparison matrix: BLOSSUM62 from Henikoff and Henikoff,
Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 89:10915-10919 (1992)
Gap Penalty: 8
Gap Length Penalty: 2
A program useful with these parameters is publicly available as the "gap" program from Genetics Computer Group, Madison WI. The aforementioned parameters are the default parameters for peptide comparisons (along with no penalty for end gaps).

Parameters for polynucleotide comparison include the following:
Algorithm: Needleman and Wunsch, J. Mol Biol. 48: 443-453 (1970)
Comparison matrix: matches = +10, mismatch = 0
Gap Penalty: 50
Gap Length Penalty: 3
Available as: The "gap" program from Genetics Computer Group, Madison WI. These are the default parameters for nucleic acid comparisons.

A preferred meaning for "identity" for polynucleotides and polypeptides, as the case may be, are provided in (1) and (2) below.

(1) Polynucleotide embodiments further include an isolated polynucleotide comprising a polynucleotide sequence having at least a 50, 60, 70, 80, 85, 90, 95, 97 or 100% identity to the reference sequence of SEQ ID NO:1, wherein said polynucleotide sequence may be identical to the reference sequence of SEQ ID NO:1 or may include up to a certain integer number of nucleotide alterations as compared to the reference sequence, wherein said alterations are selected from the group consisting of at least one nucleotide deletion, substitution, including transition and transversion, or insertion, and wherein said alterations may occur at the 5' or 3' terminal positions of the reference nucleotide sequence or anywhere between those terminal positions, interspersed either individually among the nucleotides in the reference sequence or in one or more contiguous groups within the

reference sequence, and wherein said number of nucleotide alterations is determined by multiplying the total number of nucleotides in SEQ ID NO:1 by the integer defining the percent identity divided by 100 and then subtracting that product from said total number of nucleotides in SEQ ID NO:1, or:

$$n_n \leq x_n - (x_n \bullet y),$$

wherein n_n is the number of nucleotide alterations, x_n is the total number of nucleotides in SEQ ID NO:1, y is 0.50 for 50%, 0.60 for 60%, 0.70 for 70%, 0.80 for 80%, 0.85 for 85%, 0.90 for 90%, 0.95 for 95%, 0.97 for 97% or 1.00 for 100%, and $\bullet$ is the symbol for the multiplication operator, and wherein any non-integer product of x_n and y is rounded down to the nearest integer prior to subtracting it from x_n. Alterations of a polynucleotide sequence encoding the polypeptide of SEQ ID NO:2 may create nonsense, missense or frameshift mutations in this coding sequence and thereby alter the polypeptide encoded by the polynucleotide following such alterations.

By way of example, a polynucleotide sequence of the present invention may be identical to the reference sequence of SEQ ID NO:1, that is it may be 100% identical, or it may include up to a certain integer number of nucleic acid alterations as compared to the reference sequence such that the percent identity is less than 100% identity. Such alterations are selected from the group consisting of at least one nucleic acid deletion, substitution, including transition and transversion, or insertion, and wherein said alterations may occur at the 5' or 3' terminal positions of the reference polynucleotide sequence or anywhere between those terminal positions, interspersed either individually among the nucleic acids in the reference sequence or in one or more contiguous groups within the reference sequence. The number of nucleic acid alterations for a given percent identity is determined by multiplying the total number of nucleic acids in SEQ ID NO:1 by the integer defining the percent identity divided by 100 and then subtracting that product from said total number of nucleic acids in SEQ ID NO:1, or:

$$n_n \leq x_n - (x_n \bullet y),$$

wherein n_n is the number of nucleic acid alterations, x_n is the total number of nucleic acids in SEQ ID NO:1, **y** is, for instance 0.70 for 70%, 0.80 for 80%, 0.85 for 85% etc., • is the symbol for the multiplication operator, and wherein any non-integer product of x_n and **y** is rounded down to the nearest integer prior to subtracting it from x_n.

(2) Polypeptide embodiments further include an isolated polypeptide comprising a polypeptide having at least a 50, 60, 70, 80, 85, 90, 95, 97 or 100% identity to a polypeptide reference sequence of SEQ ID NO:2, wherein said polypeptide sequence may be identical to the reference sequence of SEQ ID NO:2 or may include up to a certain integer number of amino acid alterations as compared to the reference sequence, wherein said alterations are selected from the group consisting of at least one amino acid deletion, substitution, including conservative and non-conservative substitution, or insertion, and wherein said alterations may occur at the amino- or carboxy-terminal positions of the reference polypeptide sequence or anywhere between those terminal positions, interspersed either individually among the amino acids in the reference sequence or in one or more contiguous groups within the reference sequence, and wherein said number of amino acid alterations is determined by multiplying the total number of amino acids in SEQ ID NO:2 by the integer defining the percent identity divided by 100 and then subtracting that product from said total number of amino acids in SEQ ID NO:2, or:

$$n_a \leq x_a - (x_a \bullet y),$$

wherein n_a is the number of amino acid alterations, x_a is the total number of amino acids in SEQ ID NO:2, **y** is 0.50 for 50%, 0.60 for 60%, 0.70 for 70%, 0.80 for 80%, 0.85 for 85%, 0.90 for 90%, 0.95 for 95%, 0.97 for 97% or 1.00 for 100%, and • is the symbol for the multiplication operator, and wherein any non-integer product of x_a and **y** is rounded down to the nearest integer prior to subtracting it from x_a.

By way of example, a polypeptide sequence of the present invention may be identical to the reference sequence of SEQ ID NO:2, that is it may be 100% identical, or it may include up to a certain integer number of amino acid alterations as compared to the reference sequence such that the percent identity is less than 100% identity. Such alterations are selected from the group consisting of at least one amino acid deletion, substitution, including conservative and non-conservative substitution, or insertion, and wherein said alterations may occur at the amino- or carboxy-terminal positions of the reference polypeptide sequence or anywhere between those terminal positions, interspersed either individually among the amino acids in the reference sequence or in one or more contiguous groups within the reference sequence. The number of amino acid alterations for a given % identity is determined by multiplying the total number of amino acids in SEQ ID NO:2 by the integer defining the percent identity divided by 100 and then subtracting that product from said total number of amino acids in SEQ ID NO:2, or:

$$n_a \leq x_a - (x_a \bullet y),$$

wherein n_a is the number of amino acid alterations, x_a is the total number of amino acids in SEQ ID NO:2, y is, for instance 0.70 for 70%, 0.80 for 80%, 0.85 for 85% etc., and $\bullet$ is the symbol for the multiplication operator, and wherein any non-integer product of x_a and y is rounded down to the nearest integer prior to subtracting it from x_a.

"Individual(s)," when used herein with reference to an organism, means a multicellular eukaryote, including, but not limited to a metazoan, a mammal, an ovid, a bovid, a simian, a primate, and a human.

"Isolated" means altered "by the hand of man" from its natural state, *i.e.*, if it occurs in nature, it has been changed or removed from its original environment, or both. For example, a polynucleotide or a polypeptide naturally present in a living organism is not "isolated," but the same polynucleotide or polypeptide separated from the coexisting materials of its natural

state is "isolated", as the term is employed herein. Moreover, a polynucleotide or polypeptide that is introduced into an organism by transformation, genetic manipulation or by any other recombinant method is "isolated" even if it is still present in said organism, which organism may be living or non-living.

"Polynucleotide(s)" generally refers to any polyribonucleotide or polydeoxyribonucleotide, which may be unmodified RNA or DNA or modified RNA or DNA including single and double-stranded regions.

"Variant" refers to a polynucleotide or polypeptide that differs from a reference polynucleotide or polypeptide, but retains essential properties. A typical variant of a polynucleotide differs in nucleotide sequence from another, reference polynucleotide. Changes in the nucleotide sequence of the variant may or may not alter the amino acid sequence of a polypeptide encoded by the reference polynucleotide. Nucleotide changes may result in amino acid substitutions, additions, deletions, fusions and truncations in the polypeptide encoded by the reference sequence, as discussed below. A typical variant of a polypeptide differs in amino acid sequence from another, reference polypeptide. Generally, differences are limited so that the sequences of the reference polypeptide and the variant are closely similar overall and, in many regions, identical. A variant and reference polypeptide may differ in amino acid sequence by one or more substitutions, additions, deletions in any combination. A substituted or inserted amino acid residue may or may not be one encoded by the genetic code. A variant of a polynucleotide or polypeptide may be a naturally occurring such as an allelic variant, or it may be a variant that is not known to occur naturally. Non-naturally occurring variants of polynucleotides and polypeptides may be made by mutagenesis techniques or by direct synthesis.

"Disease(s)" means any disease caused by or related to infection by a bacteria, including , for example, upper respiratory tract infection, invasive bacterial diseases, such as bacteremia and meningitis.

EXAMPLES

The examples below are carried out using standard techniques, which are well known and routine to those of skill in the art, except where otherwise described in detail. The examples are illustrative, but do not limit the invention.

Example 1

The BASB051 gene in *N.meningitidis* strain ATCC 13090.

The BASB051 gene of *N. meningitidis* strain ATCC 13090 is shown in SEQ ID NO:1. The translation of the BASB051 polynucleotide sequence, shown in SEQ ID NO:2, shows significant similarity to *Neisseria gonorrhoeae* ComL lipoprotein. The BASB051 polypeptide contains a leader sequence characteristic of a lipoprotein signal sequence.

Example 2

The BASB057 gene in *N.meningitidis* strain ATCC 13090.

The BASB057 gene of *N. meningitidis* strain ATCC 13090 is shown in SEQ ID NO:3. The translation of the BASB057 polynucleotide sequence, shown in SEQ ID NO:4, shows significant similarity to *Neisseria gonorrhoeae* MtrE outer membrane lipoprotein. The BASB057 polypeptide conains a leader sequence characteristic of a lipoprotein signal sequence.

Example 3

The BASB060 gene in *N.meningitidis* strain ATCC 13090.

The BASB060 gene of *N. meningitidis* strain ATCC 13090 is shown in SEQ ID NO:5. The translation of the BASB060 polynucleotide sequence, shown in SEQ ID NO:6, shows no significant similarity to any known protein. However, the BASB060 polypeptide contains a leader sequence which is characteristic of a lipoprotein signal sequence and has the characteristics of an outer membrane lipoprotein.

Example 4

The BASB061 gene in *N.meningitidis* strain ATCC 13090.

The BASB061 gene of *N. meningitidis* strain ATCC 13090 is shown in SEQ ID NO:7. The translation of the BASB061 polynucleotide sequence, shown in SEQ ID NO:8, shows significant similarity to *Neisseria meningitidis* mlp gene product. The BASB061 polypeptide contains a leader sequence which is characteristic of a lipoprotein signal sequence and has the characteristics of an outer membrane lipoprotein.

Example 5

The BASB063 gene in *N.meningitidis* strain ATCC 13090.

The BASB063 gene of *N. meningitidis* strain ATCC 13090 is shown in SEQ ID NO:9. The translation of the BASB063 polynucleotide sequence, shown in SEQ ID NO:10, shows significant similarity to any known protein. However, the BASB063 polypeptide does contain a leader sequence which is characteristic of a lipoprotein signal sequence and has the characteristics of an outer membrane lipoprotein.

Example 6

The BASB065 gene in *N.meningitidis* strain ATCC 13090.

The BASB065 gene of *N. meningitidis* strain ATCC 13090 is shown in SEQ ID NO:11. The translation of the BASB065 polynucleotide sequence, shown in SEQ ID NO:12, shows significant similarity to any known protein. However, the BASB065 polypeptide does contain a leader sequence which is characteristic of a lipoprotein signal sequence and has the characteristics of an outer membrane lipoprotein.

Example 7

The BASB066 gene in *N.meningitidis* strain ATCC 13090.

The BASB066 gene of *N. meningitidis* strain ATCC 13090 is shown in SEQ ID NO:13. The translation of the BASB066 polynucleotide sequence, shown in SEQ ID NO:14, shows significant similarity to *Neisseria meningitidis* CtrA protein. The BASB066 polypeptide contains a leader sequence which has the characteristics of a lipoprotein signal sequence and has the characteristics of a protein located in the outer membrane.

Example 8

The BASB071 gene in *N.meningitidis* strain ATCC 13090.

The BASB071 gene of *N. meningitidis* strain ATCC 13090 is shown in SEQ ID NO:15. The translation of the BASB071 polynucleotide sequence, shown in SEQ ID NO:16, shows significant similarity to *Neisseria gonorrhoeae* HisJ protein. The BASB071 polypeptide is contains a leader sequence which has the characteristics of a lipoprotein signal sequence.

Polynucleotide and Polypeptide Sequences

SEQ ID NO:1

Neisseria meningitidis BASB051 polynucleotide sequence from strain ATCC 13090

```
ATGAAAAAAATTCTTTTAACGGTTTCATTAGGTTTGGCACTGAGTGCCTGTGCCACTCAA
GGTACGGTCGATAAAGATGCTCAGATTACCCAAGATTGGAGTGTGGAGAAGCTCTATGCC
GAAGCCCAGGACGAATTGAACAGCAGCAATTATACGCGGGCTGTCAAGTTATACGAAATC
TTGGAATCGCGCTTCCCCACCAGCCGCCATGCCCGGCAATCCCAACTGGATACCGCATAC
GCCTATTATAAAGACGATGAAAAAGACAAGGCTCTGGCGGCAATCGAACGCTTCCGCCGC
CTCCATCCGCAGCATCCGAATATGGATTACGCGCTGTATCTGCGCGGCTTGGTGCTGTTC
AACGAAGACCAGTCCTTCTTGAACAAACTGGCCTCGCAAGACTGGTCCGACCGCGACCCG
AAAGCCAACCGCGAAGTAACCCAGGCGTTTGCGGAACTCGTCCAACGCTTCCCCAACAGC
AAATACGCCGCCGATGCGACCGCACGCATGGTCAAACTGGTCGATGCACTGGGCGGCAAT
GAAATGTCGGTGGCGCGCTACTACATGAAACGCGGCGCATATATCGCCGCCGCCAACCGC
GCCCAAAAAATTATCGGCAGCTACCAAAATACACGCTATGTCGAAGAATCGCTCGCCATC
TTGGAACTTGCCTACCAAAAACTCGGCAAACCACAGCTTGCCGCCGATACGCGCCGCGTG
TTGGAAACCAACTTCCCGAAAAGCCCGTTTTTGACGCACGCTTGGCAGCCCGACGATATG
CCTTGGTGGCGTTACTGGCATTAA
```

SEQ ID NO:2

Neisseria meningitidis BASB051 polypeptide sequence deduced from the polynucleotide sequence of SEQ ID NO:1

```
MKKILLTVSLGLALSACATQGTVDKDAQITQDWSVEKLYAEAQDELNSSNYTRAVKLYEI
LESRFPTSRHARQSQLDTAYAYYKDDEKDKALAAIERFRRLHPQHPNMDYALYLRGLVLF
NEDQSFLNKLASQDWSDRDPKANREVTQAFAELVQRFPNSKYAADATARMVKLVDALGGN
EMSVARYYMKRGAYIAAANRAQKIIGSYQNTRYVEESLAILELAYQKLGKPQLAADTRRV
LETNFPKSPFLTHAWQPDDMPWWRYWH
```

SEQ ID NO:3

Neisseria meningitidis BASB057 polynucleotide sequence from strain ATCC 13090

```
ATGGATACTACATTGAAAACCACCTTGACTTCTGTTGCAGCAGCCTTCGCATTATCCGCC
TGCACCATGATTCCCCAATACGAGCAGCCCAAAGTCGAAGTTGCCGAAACGTTTAAAAAC
GATACCGCCGACAGCGGCATCCGTGCGGTCGATTTAGGTTGGCATGACTATTTTGCCGAC
CCGCGCCTGCAAAAGCTGATCGACATCGCACTCGAGCGCAATACCAGTTTGCGTACCGCC
GTATTGAACAGCGAAATCTACCGCAAACAATACATGATTGAGCGCAACAACCTCCTGCCC
ACGCTTGCCGCCAATGCGAACGGCTCGCGCCAAGGCAGCTTGAGCGGCGGCAATGTCAGC
AGCAGCTACAATGTCGGACTGGGTGCGGCATCTTACGAACTCGACCTGTTCGGACGCGTC
CGCAGCAGCAGCGAAGCAGCACTGCAAGGCTATTTTGCAAGTGTCGCCAACCGCGATGCG
GCACATTTGAGCCTGATTGCCACCGTTGCCAAAGCCTATTTCAACGAACGTTATGCCGAA
GAAGCGATGTCTTTGGCGCAGCGTGTTTTGAAAACGCGCGAGGAAACCTACAAGCTGTCC
GAATTACGTTACAAGGCAGGCGTGATTTCCGCCGTCGCCCTACGTCAGCAGGAAGCCCTG
ATCGAATCTGCCAAAGCCGATTATGCCCATGCCGCGCGCAGCCGCGAACAGGCGCGCAAT
GCCTTGGCAACCTTGATTAACCAACCGATACCCGAAGACCTGCCTGCCGGTTTGCCGCTG
GACAAGCAGTTTTTTGTTGAAAAACTGCCGGCCGGTTTGAGTTCCGAAGTATTGCTCGAC
CGTCCCGATATCCGTGCTGCCGAACACGCGCTCAAACAGGCAAACGCCAATATCGGTGCG
GCACGCGCCGCCTTTTTCCCATCCATCCGCCTGACCGGAACCGTCGGTACGGGTTCTGCC
```

GAATTGGGTGGGTTGTTCAAAAGCGGCACGGGCGTTTGGTCGTTCGCGCCGTCTATTACC
CTGCCGATTTTTACCTGGGGTACGAACAAAGCCAACCTTGATGTAGCCAAGCTGCGCCAA
CAGGCACAAATCGTTGCCTATGAAGCCGCCGTCCAATCCGCATTTCAAGACGTGGCAAAC
GCATTGGCGGCGCGCGAGCAGCTGGATAAAGCCTATGACGCTTTAAGCAAACAAAGCCGC
GCCTCTAAAGAGGCGTTGCGCTTGGTCGGCCTGCGTTACAAGCACGGCGTATCCGGCGCG
CTCGACTTGCTCGATGCGGAACGCAGCAGCTATGCGGCGGAGGGTGCGGCTTTGTCGGCA
CAACTGACCCGCGCCGAAAACCTTGCCGATTTGTACAAGGCACTCGGCGGCGGATTGAAA
CGGGATACCCAAACCGACAAATAA

SEQ ID NO:4

Neisseria meningitidis BASB057 polypeptide sequence deduced from the polynucleotide sequence of SEQ ID NO:3

MDTTLKTTLTSVAAAFALSACTMIPQYEQPKVEVAETFKNDTADSGIRAVDLGWHDYFAD
PRLQKLIDIALERNTSLRTAVLNSEIYRKQYMIERNNLLPTLAANANGSRQGSLSGGNVS
SSYNVGLGAASYELDLFGRVRSSSEAALQGYFASVANRDAAHLSLIATVAKAYFNERYAE
EAMSLAQRVLKTREETYKLSELRYKAGVISAVALRQQEALIESAKADYAHAARSREQARN
ALATLINQPIPEDLPAGLPLDKQFFVEKLPAGLSSEVLLDRPDIRAAEHALKQANANIGA
ARAAFFPSIRLTGTVGTGSAELGGLFKSGTGVWSFAPSITLPIFTWGTNKANLDVAKLRQ
QAQIVAYEAAVQSAFQDVANALAAREQLDKAYDALSKQSRASKEALRLVGLRYKHGVSGA
LDLLDAERSSYAAEGAALSAQLTRAENLADLYKALGGGLKRDTQTDK

SEQ ID NO:5

Neisseria meningitidis BASB060 polynucleotide sequence from strain ATCC 13090

ATGAAAAAACTTCTAATGATAACCCTCACCGGTATGCTTGCAGCTTGTGCAACAGGTGTC
AATGTCGGCCGGTTGATGGTTGAAATGCCGCAGGGAGAACGTTCTGTCGTTGTGCAGGTT
CCCGCGACAAATAACCCGCTTTCCGATACGGTAGCTGTCGGAATGATTAAAACATCCGGT
TCGCCTTCGGCATCAAATATGATTGAAATGCTCGGCGCGGACAATATCAACGTCGGCGTG
GTGGGAAGCAGCCAAATGCTTAATAAGGCGACCGCACTTTATTCCTTAAACCATGCAAAG
AAAGTCGGAAATAATGTCAGTGTTTATATGATGGGCGACAGCGAAAGTGACAAGGCCGAT
TTGGAAAACGCGGCAAATGCCAAAAATATCAAATTGCATTATTTCTTTAACCAAAAATAA

SEQ ID NO:6

Neisseria meningitidis BASB060 polypeptide sequence deduced from the polynucleotide sequence of SEQ ID NO:5

MKKLLMITLTGMLAACATGVNVGRLMVEMPQGERSVVVQVPATNNPLSDTVAVGMIKTSG
SPSASNMIEMLGADNINVGVVGSSQMLNKATALYSLNHAKKVGNNVSVYMMGDSESDKAD
LENAANAKNIKLHYFFNQK

SEQ ID NO:7

Neisseria meningitidis BASB061 polynucleotide sequence from strain ATCC 13090

ATGAAAATCAAACAAATCGTCAAACCGGGCTTGGCAGTATTGGCGGCGGGCGTTCTGTCT
GCCTGCGCAACCAAAAGCAACGTCAAAGCCGACGGAACGACCGACAATCCGGTTTTCCCG
AAACCCTATTCCGTAACGCTCGACAACAATCGCGGTACATTCCCGACCTATGACGAATTG

GACTTGATGCGTCCCGGTCTGACCAAAGACGACATCTACAAAATCCTGGGTCGTCCGCAT
TACGACGAAGGTATGTACGGCGTGCGCGAATGGGATTATCTGTTCCACTTCCACACCCCG
GGCGTAGGCATCGACCCTGAAAACACTTCCGGCGTAGAAGGCATTACCACCTGTCAATAC
AAAATTATTTTCGATAAAGACAAATTTGCCCGCAGCTTCTACTGGAACCCCGTCTTCCCG
AAAGATGCCGCCTGTCCGCCGCCCGCACCCAAAGCCGAGCCGCAAgTCATCATCCGCGAA
ATCGTGCCCGCCAAAcCCAAACGCATCCGCCAATAA

SEQ ID NO:8

Neisseria meningitidis BASB061 polypeptide sequence deduced from the polynucleotide sequence of SEQ ID NO:7

MKIKQIVKPGLAVLAAGVLSACATKSNVKADGTTDNPVFPKPYSVTLDNNRGTFPTYDEL
DLMRPGLTKDDIYKILGRPHYDEGMYGVREWDYLFHFHTPGVGIDPENTSGVEGITTCQY
KIIFDKDKFARSFYWNPVFPKDAACPPPAPKAEPQVIIREIVPAKPKRIRQ

SEQ ID NO:9

Neisseria meningitidis BASB063 polynucleotide sequence from strain ATCC 13090

ATGAGACCATATGCTACTACCATTTATCAACTTTTTATTTTGTTTATTGGGAGTGTTTTT
ACTATGACCTCATGTGAACCTGTGAATGAAAAGACAGATCAAAAAGCAGTAAGTGCGCAA
CAGGCTAAAGAACAAACCAGTTTCAACAATCCCGAGCCAATGACAGGATTTGAACATACG
GTTACATTTGATTTTCAGGGCACCAAAATGGTTATCCCCTATGGCTATCTTGCACGGTAT
ACGCAAGACAATGCCACAAAATGGCTTTCCGACACGCCCGGGCAGGATGCTTACTCCATT
AATTTGATAGAGATTAGCGTCTATTACAAAAAAACCGACCAAGGCTGGGTTCTTGAGCCA
TACAACCAGCAAAACAAAGCACACTTTATCCAATTTCTACGCGACGGTTTGGATAGCGTG
GACGATATTGTTATCCGAAAAGATGCGTGTAGTTTAAGTACGACTATGGGAGAAAGATTG
CTTACTTACGGGGTTAAAAAAATGCCATCTGCCTATCCTGAATACGAGGCTTATGAAGAT
AAAAGACATATTCCTGAAAATCCATATTTTCATGAATTTTACTATATTAAAAAAGGAGAA
AATCCGGCGATTATTACTCATCGGAATAATCGAATAAACCAAACTGAAGAAGATAGTTAT
AGCACTAGCGTAGGTTCCTGTATTAACGGTTTCACGGTACAGTATTACCCGTTTATTCGG
GAAAAGCAGCAGCTCACACAGCAGGAGTTGGTAGGTTATCACCAACAAGTAGAGCAATTG
GTACAGAGTTTTGTAAACAATTCAAATAAAAAATAA

SEQ ID NO:10

Neisseria meningitidis BASB063 polypeptide sequence deduced from the polynucleotide sequence of SEQ ID NO:9

MRPYATTIYQLFILFIGSVFTMTSCEPVNEKTDQKAVSAQQAKEQTSFNNPEPMTGFEHT
VTFDFQGTKMVIPYGYLARYTQDNATKWLSDTPGQDAYSINLIEISVYYKKTDQGWVLEP
YNQQNKAHFIQFLRDGLDSVDDIVIRKDACSLSTTMGERLLTYGVKKMPSAYPEYEAYED
KRHIPENPYPHEFYYIKKGENPAIITHRNNRINQTEEDSYSTSVGSCINGFTVQYYPFIR
EKQQLTQQELVGYHQQVEQLVQSFVNNSNKK

SEQ ID NO:11

Neisseria meningitidis BASB065 polynucleotide sequence from strain ATCC 13090

ATGAAGACCAAATTACCGCTTTTTATCATTTGGCTGTCCGTATCCGCCGCCTGTTCTTCC

CCTGTTTCCCGCAATATTCAGGATATGCGGCCCGAACCGCAGGCAGAGGCAGGTAGTTCG
GACGCTATTCCCTATCCCGTTCCCACTCTGCAAGACCGTTTGGATTATCTGGAAGGCACA
CTCGTCCGCCTGTCGAACGAAGTGGAAACCTTAAACGGCAAAGTCAAAGCACTGGAGCAT
GCGAAAACACACCCTTCCGGTAGGGCATACGTCCAAAAACTCGACGACCGCAAGTTGAAA
GAGCATTACCTCAATACCGAAGGCGGCAGCGCATCCGCACATACCGTCGAAACCGCACAA
AACCTCTACAATCAGGCACTCAAACACTATAAAAGCGGCAGGTTTTCTGCCGCAGCCGCC
CTGTTGAAAGGCGCGGACGGAGGCGACGGCGGCAGCATCGCGCAACGCAGTATGTACCTG
TTGCTGCAAAGCAGGGCGCGTATGGGCAACTGCGAATCCGTCATCGAAATCGGAGGGCGT
TACGCCAACCGTTTCAAAGACAGCCCAACCGCGCCCGAAGCCATGTTCAAAATCGGCGAA
TGCCAATACAGGTTGCAGCAGAAAGACATTGCAAGGGCAACTTGGCGCAGCCTGATACAG
GCTTACCCGAGCAGCCCGGCGGCAAAACGCGCCGCCGCAGCCGTACGCAAACGATAG

SEQ ID NO:12

Neisseria meningitidis BASB065 polypeptide sequence deduced from the polynucleotide sequence of SEQ ID NO:11

MKTKLPLFIIWLSVSAACSSPVSRNIQDMRPEPQAEAGSSDAIPYPVPTLQDRLDYLEGT
LVRLSNEVETLNGKVKALEHAKTHPSGRAYVQKLDDRKLKEHYLNTEGGSASAHTVETAQ
NLYNQALKHYKSGRFSAAAALLKGADGGDGGSIAQRSMYLLLQSRARMGNCESVIEIGGR
YANRFKDSPTAPEAMFKIGECQYRLQQKDIARATWRSLIQAYPSSPAAKRAAAAVRKR

SEQ ID NO:13

Neisseria meningitidis BASB066 polynucleotide sequence from strain ATCC 13090

GTGTTTAAAGTGAAATTTTATATTCGTCACGCAGTATTATTATTGTGTGGAAGTTTAATT
GTAGGATGCTCTGCGATTCCTTCATCAGGCCCCAGCGCAAAAAAAATTGTCTCTTTAGGG
CAACAATCTGAAGTTCAAATTCCTGAAGTGGAGCTGATTGATGTGAATCATACGGTTGCT
CAGTTATTATATAAGGCTCAGATAAATCAGTCATTCACTCAGTTTGGCGATGGTTATGCT
TCGGCTGGTACGCTAAATATTGGTGATGTATTGGATATTATGATTTGGGAAGCGCCGCCG
GCAGTATTGTTTGGTGGTGGCCTTTCTTCGATGGGCTCGGGTAGTGCGCATCAAACTAAG
TTGCCAGAGCAGTTGGTCACGGCACGTGGTACGGTTTCTGTGCCGTTTGTTGGCGATATT
TCGGTGGTCGGTAAAACGCCTGGTCAGGTTCAGGAAATTATTAAAGGCCGCCTGAAAAAA
ATGGCCAATCAGCCACAAGTGATGGTGCGTTTGGTGCAGAATAATGCGGCGAATGTGTCG
GTGATTCGTGCTGGGAATAGTGTGCGTATGCCGCTGACGGCAGCCGGTGAGCGTGTGTTG
GATGCGGTGGCTGCGGTAGGTGGTTCAACGGCAAATGTGCAGGATACGAATGTGCAGCTG
ACACGTGGCAATGTAGTACGAACTGTTGCCTTGGAAGATTTAGTTGCAAATCCGCGACAA
AATATTTTGCTGCGTCGCGGTGATGTGGTTACCATGATTACCAATCCCTATACCTTTACG
TCTATGGGTGCGGTGGGGAGAACACAAGAAATCGGTTTTTCAGCCAGAGGCTTATCGCTT
TCTGAAGCCATTGGCCGTATGGGCGGTTTGCAAGATCGCCGTTCTGATGCGCGTGGTGTG
TTTGTGTTCCGCTATACGCCATTGGTGGAATTGCCGGCAGAACGTCAGGATAAATGGATT
GCTCAAGGTTATGGCAGTGAGGCAGAGATTCCAACGGTATATCGTGTGAATATGGCTGAT
GCGCATTCGCTATTTTCTATGCAGCGCTTTCCTGTGAAGAATAAAGATGTATTGTATGTG
TCGAATGCGCCGTTGGCTGAAGTGCAGAAATTCTTGTCGTTTGTGTTCTCGCCGGTTACC
AGTGGCGCGAACAGTATTAATAATTTAACTAATTAA

SEQ ID NO:14

Neisseria meningitidis BASB066 polypeptide sequence deduced from the polynucleotide sequence of SEQ ID NO:13

MFKVKFYIRHAVLLLCGSLIVGCSAIPSSGPSAKKIVSLGQQSEVQIPEVELIDVNHTVA
QLLYKAQINQSFTQFGDGYASAGTLNIGDVLDIMIWEAPPAVLFGGGLSSMGSGSAHQTK
LPEQLVTARGTVSVPFVGDISVVGKTPGQVQEIIKGRLKKMANQPQVMVRLVQNNAANVS
VIRAGNSVRMPLTAAGERVLDAVAAVGGSTANVQDTNVQLTRGNVVRTVALEDLVANPRQ
NILLRRGDVVTMITNPYTFTSMGAVGRTQEIGFSARGLSLSEAIGRMGGLQDRRSDARGV
FVFRYTPLVELPAERQDKWIAQGYGSEAEIPTVYRVNMADAHSLFSMQRFPVKNKDVLYV
SNAPLAEVQKFLSFVFSPVTSGANSINNLTN

SEQ ID NO:15

Neisseria meningitidis BASB071 polynucleotide sequence from strain ATCC 13090

ATGAATATGAAAAAATGGATTGCCGCCGCCCCTTGCCTGTTCCGCGCTCGCGCTGTCTGCC
TGCGGCGGTCAGGGCAAAGATGCCGCCGCGCCCGCCGCAAACCCCGACAAAGTGTACCGC
GTGGCTTCCAACGCCGAGTTTGCCCCCTTTGAATCTTTAGACTCGAAAGGCAATGTTGAA
GGTTTCGATGTGGATTTGATGAACGCGATGGCGAAGGCGGGCAATTTTAAAATCGAATTC
AAACACCAGCCGTGGGACAGCCTTTTCCCCGCCTTGAACAACGGCGATGCGGACGTTGTG
ATGTCGGGCGTAACCATTACCGACGACCGCAAACAGTCTATGGACTTCAGCGACCCGTAT
TTTGAAATCACCCAAGTCGTCCTCGTTCCGAAAGGCAAAAAAATATCTTCTTCCGAAGAT
TTGAAAAACATGAACAAAGTCGGCGTGGTAACCGGCTACACGGGCGATTTCTCCGTATCC
AAACTCTTGGGCAACGACAACCCGAAAATCGCGCGCTTTGAAAACGTTCCCCTGATTATC
AAAGAACTGGAAAACGGCGGCTTGGATTCCGTGGTCAGCGACAGCGCAGTCATCGCCAAT
TATGTGAAAAACAATCCGACCAAAGGGATGGACTTCGTTACCCTGCCCGACTTCACCACC
GAACACTACGGCATCGCGGTACGCAAAGGCGACGAAGCAACCGTCAAAATGCTGAACGAT
GCGTTGAAAAAAGTACGCGAAAGCGGCGAATACGACAAAATCTACGCCAAATATTTTGCA
AAAGAAGACGGACAGGCCGCAAAATAA

SEQ ID NO:16

Neisseria meningitidis BASB071 polypeptide sequence deduced from the polynucleotide sequence of SEQ ID NO:15

MNMKKWIAAALACSALALSACGGQGKDAAAPAANPDKVYRVASNAEFAPFESLDSKGNVE
GFDVDLMNAMAKAGNFKIEFKHQPWDSLFPALNNGDADVVMSGVTITDDRKQSMDFSDPY
FEITQVVLVPKGKKISSSEDLKNMNKVGVVTGYTGDFSVSKLLGNDNPKIARFENVPLII
KELENGGLDSVVSDSAVIANYVKNNPTKGMDFVTLPDFTTEHYGIAVRKGDEATVKMLND
ALKKVRESGEYDKIYAKYFAKEDGQAAK

Deposited materials

A deposit containing a *Neisseria meningitidis* Serogroup B strain has been deposited with the American Type Culture Collection (herein "ATCC") on June 22, 1997 and assigned deposit number 13090. The deposit was described as *Neisseria meningitidis* (Albrecht and Ghon) and is a freeze-dried, 1.5-2.9 kb insert library constructed from *N. meningitidis* isolate. The deposit is described in Int. Bull. Bacteriol. Nomencl. Taxon. 8: 1-15 (1958).

The *Neisseria meningitidis* strain deposit is referred to herein as "the deposited strain" or as "the DNA of the deposited strain."

The deposited strain contains the full-length BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 and BASB071 genes. The sequence of the polynucleotides contained in the deposited strain, as well as the amino acid sequence of any polypeptide encoded thereby, are controlling in the event of any conflict with any description of sequences herein.

The deposit of the deposited strain has been made under the terms of the Budapest Treaty on the International Recognition of the Deposit of Micro-organisms for Purposes of Patent Procedure. The strain will be irrevocably and without restriction or condition released to the public upon the issuance of a patent. The deposited strain is provided merely as convenience to those of skill in the art and is not an admission that a deposit is required for enablement, such as that required under 35 U.S.C. §112.

Applicant's or agent's file reference	International application No.
KP/BM45348	

INDICATIONS RELATING TO DEPOSITED MICROORGANISM OR OTHER BIOLOGICAL MATERIAL

(PCT Rule 13*bis*)

A. The indications made below relate to the deposited microorganism or other biological material referred to in the description on page 110, line 2-22

B. IDENTIFICATION OF DEPOSIT — Further deposits are identified on an additional sheet ☐

Name of depositary institution

AMERICAN TYPE CULTURE COLLECTION

Address of depositary institution *(including postal code and country)*

10801 UNIVERSITY BLVD, MANASSAS, VIRGINIA 20110-2209, UNITED STATES OF AMERICA

Date of deposit	Accession Number
22 June 1997 (22.06.97)	13090

C. ADDITIONAL INDICATIONS *(leave blank if not applicable)* — This information is continued on an additional sheet ☐

In respect of those designations where a European Patent is sought, a sample of the deposited microorganism will be made available until the publication of the mention of the grant of the European Patent or until the date on which the application has been refused or withdrawn, only by issue of such a sample to an expert nominated by the person requesting the sample.

D. DESIGNATED STATES FOR WHICH INDICATIONS ARE MADE *(if the indications are not for all designated States)*

E. SEPARATE FURNISHING OF INDICATIONS *(leave blank if not applicable)*

The indications listed below will be submitted to the International Bureau later *(specify the general nature of the indications e.g., "Accession Number of Deposit")*

For receiving Office use only	For International Bureau use only
☐ This sheet was received with the international application	☐ This sheet was received by the International Bureau on:
Authorized officer	Authorized officer

Form PCT/RO/134 (July 1998)

CLAIMS

1. An isolated polypeptide comprising an amino acid sequence which has at least 85% identity to an amino acid sequence selected from the group consisting of: SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16.

2. An isolated polypeptide as claimed in claim 1 in which the amino acid sequence has at least 95% identity to the amino acid sequence selected from the group consisting of: SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16.

3. The polypeptide as claimed in claim 1 comprising the amino acid sequence selected from the group consisting of: SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16.

4. An isolated polypeptide of : SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14 or SEQ ID NO:16.

5. An immunogenic fragment of the polypeptide as claimed in any one of claims 1 to 4 in which the immunogenic activity of said immunogenic fragment is substantially the same as that of the polypeptide of SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14 or SEQ ID NO:16.

6. An isolated polynucleotide comprising a nucleotide sequence encoding a polypeptide that has at least 85% identity to an amino acid sequence of SEQ ID NO:2,4,6,8,10,12,14 or 16 over the entire length of SEQ ID NO:2,4,6,8,10,12,14 or 16 respectively; or a nucleotide sequence complementary to said isolated polynucleotide.

7. An isolated polynucleotide comprising a nucleotide sequence that has at least 85% identity to a nucleotide sequence encoding a polypeptide of SEQ ID NO:2,4,6,8,10,12,14 or 16 over the entire coding region; or a nucleotide sequence complementary to said isolated polynucleotide.

8. An isolated polynucleotide which comprises a nucleotide sequence which has at least 85% identity to that of SEQ ID NO:1,3,5,7,9,11,13 or 15 over the entire length of SEQ ID NO:1,3,5,7,9,11,13 or 15 respectively; or a nucleotide sequence complementary to said isolated polynucleotide.

9. The isolated polynucleotide as claimed in any one of claims 6 to 8 in which the identity is at least 95% to SEQ ID NO:1,3,5,7,9,11,13 or 15.

10. An isolated polynucleotide comprising a nucleotide sequence encoding the polypeptide of SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14 or SEQ ID NO:16.

11. An isolated polynucleotide comprising the polynucleotide of SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:13 or SEQ ID NO:15.

12. An isolated polynucleotide comprising a nucleotide sequence encoding the polypeptide of SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14 or SEQ ID NO:16 obtainable by screening an appropriate library under stringent hybridization conditions with a labeled probe having the sequence SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:13 or SEQ ID NO:15 or a fragment thereof.

13. An expression vector or a recombinant live microorganism comprising an isolated polynucleotide according to any one of claims 6 to 12.

14. A host cell comprising the expression vector of claim 13 or a subcellular fraction or a membrane of said host cell expressing an isolated polypeptide comprising an amino acid sequence that has at least 85% identity to the amino acid sequence selected from the group consisting of: SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16.

15. A process for producing a polypeptide comprising an amino acid sequence that has at least 85% identity to an amino acid sequence selected from the group consisting of: SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16 comprising culturing a host cell of claim 14 under conditions sufficient for the production of said polypeptide and recovering the polypeptide from the culture medium.

16. A process for expressing a polynucleotide of any one of claims 6 to 12 comprising transforming a host cell with the expression vector comprising at least one of said polynucleotides and culturing said host cell under conditions sufficient for expression of any one of said polynucleotides.

17. A vaccine composition comprising an effective amount of the polypeptide of any one of claims 1 to 5 and a pharmaceutically acceptable carrier.

18. A vaccine composition comprising an effective amount of the polynucleotide of any one of claims 6 to 12 and a pharmaceutically effective carrier.

19. The vaccine composition according to either one of claims 17 or 18 wherein said composition comprises at least one other *Neisseria meningitidis* antigen.

20. An antibody immunospecific for the polypeptide or immunological fragment as claimed in any one of claims 1 to 5.

21. A method of diagnosing a *Neisseria meningitidis* infection, comprising identifying a polypeptide as claimed in any one of claims 1 to 5, or an antibody that is immunospecific for said polypeptide, present within a biological sample from an animal suspected of having such an infection.

22. Use of a composition comprising an immunologically effective amount of a polypeptide as claimed in any one of claims 1 to 5 in the preparation of a medicament for use in generating an immune response in an animal.

23. Use of a composition comprising an immunologically effective amount of a polynucleotide as claimed in any one of claims 6 to 12 in the preparation of a medicament for use in generating an immune response in an animal.

24. A therapeutic composition useful in treating humans with *Neisseria meningitidis* disease comprising at least one antibody directed against the polypeptide of claims 1 to 5 and a suitable pharmaceutical carrier.

SEQUENCE LISTING

<110> SmithKline Beecham Biologicals S.A.

<120> Novel compounds

<130> BM45348

<160> 16

<170> FastSEQ for Windows Version 3.0

<210> 1
<211> 804
<212> DNA
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 1

```
atgaaaaaaa ttcttttaac ggtttcatta ggtttggcac tgagtgcctg tgccactcaa      60
ggtacggtcg ataaagatgc tcagattacc caagattgga gtgtggagaa gctctatgcc     120
gaagcccagg acgaattgaa cagcagcaat tatacgcggg ctgtcaagtt atacgaaatc     180
ttggaatcgc gctttccccac cagccgccat gcccggcaat cccaactgga taccgcatac     240
gcctattata aagacgatga aaaagacaag gctctggcgg caatcgaacg cttccgccgc     300
ctccatccgc agcatccgaa tatggattac gcgctgtatc tgcgcggctt ggtgctgttc     360
aacgaagacc agtccttctt gaacaaactg gcctcgcaag actggtccga ccgcgacccg     420
aaagccaacc gcgaagtaac ccaggcgttt gcggaactcg tccaacgctt ccccaacagc     480
aaatacgccg ccgatgcgac cgcacgcatg gtcaaactgg tcgatgcact gggcggcaat     540
gaaatgtcgg tggcgcgcta ctacatgaaa cgcggcgcat atatcgccgc cgccaaccgc     600
gcccaaaaaa ttatcggcag ctaccaaaat acacgctatg tcgaagaatc gctcgccatc     660
ttggaacttg cctaccaaaa actcggcaaa ccacagcttg ccgccgatac gcgccgcgtg     720
ttggaaacca acttcccgaa aagcccgttt ttgacgcacg cttggcagcc cgacgatatg     780
ccttggtggc gttactggca ttaa                                            804
```

<210> 2
<211> 267
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 2

```
Met Lys Lys Ile Leu Leu Thr Val Ser Leu Gly Leu Ala Leu Ser Ala
 1               5                  10                  15
Cys Ala Thr Gln Gly Thr Val Asp Lys Asp Ala Gln Ile Thr Gln Asp
            20                  25                  30
Trp Ser Val Glu Lys Leu Tyr Ala Glu Ala Gln Asp Glu Leu Asn Ser
```

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

<210> 3
<211> 1404
<212> DNA
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 3

```
atggatacta cattgaaaac caccttgact tctgttgcag cagccttcgc attatccgcc      60
tgcaccatga ttcccaata cgagcagccc aaagtcgaag ttgccgaaac gtttaaaaac      120
gataccgccg acagcggcat ccgtgcggtc gatttaggtt ggcatgacta ttttgccgac      180
ccgcgcctgc aaaagctgat cgacatcgca ctcgagcgca ataccagttt gcgtaccgcc      240
gtattgaaca gcgaaatcta ccgcaaacaa tacatgattg agcgcaacaa cctcctgccc      300
acgcttgccg ccaatgcgaa cggctcgcgc caaggcagct tgagcggcgg caatgtcagc      360
agcagctaca atgtcggact gggtgcggca tcttacgaac tcgacctgtt cggacgcgtc      420
cgcagcagca gcgaagcagc actgcaaggc tattttgcaa gtgtcgccaa ccgcgatgcg      480
gcacatttga gcctgattgc caccgttgcc aaagcctatt tcaacgaacg ttatgccgaa      540
gaagcgatgt ctttggcgca gcgtgttttg aaaacgcgcg aggaaaccta caagctgtcc      600
gaattacgtt acaaggcagg cgtgatttcc gccgtcgccc tacgtcagca ggaagccctg      660
```

```
atcgaatctg ccaaagccga ttatgcccat gccgcgcgca gccgcgaaca ggcgcgcaat     720
gccttggcaa ccttgattaa ccaaccgata cccgaagacc tgcctgccgg tttgccgctg     780
gacaagcagt tttttgttga aaaactgccg gccggtttga gttccgaagt attgctcgac     840
cgtcccgata tccgtgctgc cgaacacgcg ctcaaacagg caaacgccaa tatcggtgcg     900
gcacgcgccg ccttttccc atccatccgc ctgaccggaa ccgtcggtac gggttctgcc      960
gaattgggtg ggttgttcaa aagcggcacg ggcgtttggt cgttcgcgcc gtctattacc    1020
ctgccgattt ttacctgggg tacgaacaaa gccaaccttg atgtagccaa gctgcgccaa    1080
caggcacaaa tcgttgccta tgaagccgcc gtccaatccg catttcaaga cgtggcaaac    1140
gcattggcgg cgcgcgagca gctggataaa gcctatgacg ctttaagcaa acaaagccgc    1200
gcctctaaag aggcgttgcg cttggtcggc ctgcgttaca agcacggcgt atccggcgcg    1260
ctcgacttgc tcgatgcgga acgcagcagc tatgcggcgg agggtgcggc tttgtcggca    1320
caactgaccc gcgccgaaaa ccttgccgat ttgtacaagg cactcggcgg cggattgaaa    1380
cgggataccc aaaccgacaa ataa                                           1404
```

<210> 4
<211> 467
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 4

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

```
    210                 215                 220
Lys Ala Asp Tyr Ala His Ala Ala Arg Ser Arg Glu Gln Ala Arg Asn
225                 230                 235                 240
Ala Leu Ala Thr Leu Ile Asn Gln Pro Ile Pro Glu Asp Leu Pro Ala
                245                 250                 255
Gly Leu Pro Leu Asp Lys Gln Phe Phe Val Glu Lys Leu Pro Ala Gly
            260                 265                 270
Leu Ser Ser Glu Val Leu Leu Asp Arg Pro Asp Ile Arg Ala Ala Glu
        275                 280                 285
His Ala Leu Lys Gln Ala Asn Ala Asn Ile Gly Ala Ala Arg Ala Ala
    290                 295                 300
Phe Phe Pro Ser Ile Arg Leu Thr Gly Thr Val Gly Thr Gly Ser Ala
305                 310                 315                 320
Glu Leu Gly Gly Leu Phe Lys Ser Gly Thr Gly Val Trp Ser Phe Ala
                325                 330                 335
Pro Ser Ile Thr Leu Pro Ile Phe Thr Trp Gly Thr Asn Lys Ala Asn
            340                 345                 350
Leu Asp Val Ala Lys Leu Arg Gln Gln Ala Gln Ile Val Ala Tyr Glu
        355                 360                 365
Ala Ala Val Gln Ser Ala Phe Gln Asp Val Ala Asn Ala Leu Ala Ala
    370                 375                 380
Arg Glu Gln Leu Asp Lys Ala Tyr Asp Ala Leu Ser Lys Gln Ser Arg
385                 390                 395                 400
Ala Ser Lys Glu Ala Leu Arg Leu Val Gly Leu Arg Tyr Lys His Gly
                405                 410                 415
Val Ser Gly Ala Leu Asp Leu Leu Asp Ala Glu Arg Ser Ser Tyr Ala
            420                 425                 430
Ala Glu Gly Ala Ala Leu Ser Ala Gln Leu Thr Arg Ala Glu Asn Leu
        435                 440                 445
Ala Asp Leu Tyr Lys Ala Leu Gly Gly Gly Leu Lys Arg Asp Thr Gln
    450                 455                 460
Thr Asp Lys
465
```

<210> 5
<211> 420
<212> DNA
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 5

```
atgaaaaaac ttctaatgat aaccctcacc ggtatgcttg cagcttgtgc aacaggtgtc      60
aatgtcggcc ggttgatggt tgaaatgccg cagggagaac gttctgtcgt tgtgcaggtt     120
cccgcgacaa ataacccgct ttccgatacg gtagctgtcg gaatgattaa aacatccggt     180
tcgccttcgg catcaaatat gattgaaatg ctcggcgcgg acaatatcaa cgtcggcgtg     240
gtgggaagca gccaaatgct taataaggcg accgcacttt attccttaaa ccatgcaaag     300
aaagtcggaa ataatgtcag tgtttatatg atgggcgaca gcgaaagtga caaggccgat     360
ttggaaaacg cggcaaatgc caaaaatatc aaattgcatt atttctttaa ccaaaaataa     420
```

<210> 6
<211> 139
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 6

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

<210> 7
<211> 516
<212> DNA
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 7

```
atgaaaatca aacaaatcgt caaaccgggc ttggcagtat tggcggcggg cgtttctgtct      60
gcctgcgcaa ccaaaagcaa cgtcaaagcc gacggaacga ccgacaatcc ggtttttcccg     120
aaaccctatt ccgtaacgct cgacaacaat cgcggtacat tcccgaccta tgacgaattg     180
gacttgatgc gtcccggtct gaccaaagac gacatctaca aaatcctggg tcgtccgcat     240
tacgacgaag gtatgtacgg cgtgcgcgaa tgggattatc tgttccactt ccacaccccg     300
ggcgtaggca tcgaccctga aaacacttcc ggcgtagaag gcattaccac ctgtcaatac     360
aaaattattt tcgataaaga caaatttgcc cgcagcttct actggaaccc cgtcttcccg     420
aaagatgccg cctgtccgcc gcccgcaccc aaagccgagc cgcaagtcat catccgcgaa     480
atcgtgcccg ccaaacccaa acgcatccgc caataa                               516
```

<210> 8
<211> 171
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 8

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

<210> 9
<211> 816
<212> DNA
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 9

```
atgagaccat atgctactac catttatcaa ctttttattt tgtttattgg gagtgttttt     60
actatgacct catgtgaacc tgtgaatgaa aagacagatc aaaaagcagt aagtgcgcaa    120
caggctaaag aacaaaccag tttcaacaat cccgagccaa tgacaggatt tgaacatacg    180
gttacatttg attttcaggg caccaaaatg gttatcccct atggctatct tgcacggtat    240
acgcaagaca atgccacaaa atggctttcc gacacgcccg ggcaggatgc ttactccatt    300
aatttgatag agattagcgt ctattacaaa aaaaccgacc aaggctgggt tcttgagcca    360
tacaaccagc aaaacaaagc acactttatc caatttctac gcgacggttt ggatagcgtg    420
gacgatattg ttatccgaaa agatgcgtgt agtttaagta cgactatggg agaaagattg    480
cttacttacg gggttaaaaa aatgccatct gcctatcctg aatacgaggc ttatgaagat    540
aaaagacata ttcctgaaaa tccatatttt catgaatttt actatattaa aaaaggagaa    600
aatccggcga ttattactca tcggaataat cgaataaacc aaactgaaga agatagttat    660
agcactagcg taggttcctg tattaacggt ttcacggtac agtattaccc gtttattcgg    720
gaaaagcagc agctcacaca gcaggagttg gtaggttatc accaacaagt agagcaattg    780
gtacagagtt ttgtaaacaa ttcaaataaa aaataa                              816
```

<210> 10
<211> 271

<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 10

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

<210> 11
<211> 717
<212> DNA
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 11

```
atgaagacca aattaccgct ttttatcatt tggctgtccg tatccgccgc ctgttcttcc      60
cctgtttccc gcaatattca ggatatgcgg cccgaaccgc aggcagaggc aggtagttcg     120
```

gacgctattc cctatcccgt tcccactctg caagaccgtt tggattatct ggaaggcaca 180
ctcgtccgcc tgtcgaacga agtggaaacc ttaaacggca aagtcaaagc actggagcat 240
gcgaaaacac acccttccgg tagggcatac gtccaaaaac tcgacgaccg caagttgaaa 300
gagcattacc tcaataccga aggcggcagc gcatccgcac ataccgtcga aaccgcacaa 360
aacctctaca atcaggcact caaacactat aaaagcggca ggttttctgc cgcagccgcc 420
ctgttgaaag gcgcggacgg aggcgacggc ggcagcatcg cgcaacgcag tatgtacctg 480
ttgctgcaaa gcagggcgcg tatgggcaac tgcgaatccg tcatcgaaat cggagggcgt 540
tacgccaacc gtttcaaaga cagcccaacc gcgcccgaag ccatgtttcaa aatcggcgaa 600
tgccaataca ggttgcagca gaaagacatt gcaagggcaa cttggcgcag cctgatacag 660
gcttacccga gcagcccggc ggcaaaacgc gccgccgcag ccgtacgcaa acgatag 717

<210> 12
<211> 238
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 12

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

<210> 13
<211> 1176
<212> DNA
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 13

```
gtgtttaaag tgaaatttta tattcgtcac gcagtattat tattgtgtgg aagtttaatt      60
gtaggatgct ctgcgattcc ttcatcaggc cccagcgcaa aaaaaattgt ctctttaggg     120
caacaatctg aagttcaaat tcctgaagtg gagctgattg atgtgaatca tacggttgct     180
cagttattat ataaggctca gataaatcag tcattcactc agtttggcga tggttatgct     240
tcggctggta cgctaaatat tggtgatgta ttggatatta tgatttggga agcgccgccg     300
gcagtattgt ttggtggtgg cctttcttcg atgggctcgg gtagtgcgca tcaaactaag     360
ttgccagagc agttggtcac ggcacgtggt acggtttctg tgccgtttgt tggcgatatt     420
tcggtggtcg gtaaaacgcc tggtcaggtt caggaaatta ttaaaggccg cctgaaaaaa     480
atggccaatc agccacaagt gatggtgcgt ttggtgcaga ataatgcggc gaatgtgtcg     540
gtgattcgtg ctgggaatag tgtgcgtatg ccgctgacgg cagccggtga gcgtgtgttg     600
gatgcggtgg ctgcggtagg tggttcaacg gcaaatgtgc aggatacgaa tgtgcagctg     660
acacgtggca atgtagtacg aactgttgcc ttggaagatt tagtttgcaaa tccgcgacaa     720
aatattttgc tgcgtcgcgg tgatgtggtt accatgatta ccaatcccta tacctttacg     780
tctatgggtg cggtggggag aacacaagaa atcggttttt cagccagagg cttatcgctt     840
tctgaagcca ttggccgtat gggcggtttg caagatcgcc gttctgatgc gcgtggtgtg     900
tttgtgttcc gctatacgcc attggtggaa ttgccggcag aacgtcagga taaatggatt     960
gctcaaggtt atggcagtga ggcagagatt ccaacggtat atcgtgtgaa tatggctgat    1020
gcgcattcgc tattttctat gcagcgcttt cctgtgaaga ataaagatgt attgtatgtg    1080
tcgaatgcgc cgttggctga agtgcagaaa ttcttgtcgt ttgtgttctc gccggttacc    1140
agtggcgcga acagtattaa taatttaact aattaa                              1176
```

<210> 14
<211> 391
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 14

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

```
            100                 105                 110
Ser Gly Ser Ala His Gln Thr Lys Leu Pro Glu Gln Leu Val Thr Ala
        115                 120                 125
Arg Gly Thr Val Ser Val Pro Phe Val Gly Asp Ile Ser Val Val Gly
    130                 135                 140
Lys Thr Pro Gly Gln Val Gln Glu Ile Ile Lys Gly Arg Leu Lys Lys
145                 150                 155                 160
Met Ala Asn Gln Pro Gln Val Met Val Arg Leu Val Gln Asn Asn Ala
                165                 170                 175
Ala Asn Val Ser Val Ile Arg Ala Gly Asn Ser Val Arg Met Pro Leu
            180                 185                 190
Thr Ala Ala Gly Glu Arg Val Leu Asp Ala Val Ala Ala Val Gly Gly
        195                 200                 205
Ser Thr Ala Asn Val Gln Asp Thr Asn Val Gln Leu Thr Arg Gly Asn
    210                 215                 220
Val Val Arg Thr Val Ala Leu Glu Asp Leu Val Ala Asn Pro Arg Gln
225                 230                 235                 240
Asn Ile Leu Leu Arg Arg Gly Asp Val Val Thr Met Ile Thr Asn Pro
                245                 250                 255
Tyr Thr Phe Thr Ser Met Gly Ala Val Gly Arg Thr Gln Glu Ile Gly
            260                 265                 270
Phe Ser Ala Arg Gly Leu Ser Leu Ser Glu Ala Ile Gly Arg Met Gly
        275                 280                 285
Gly Leu Gln Asp Arg Arg Ser Asp Ala Arg Gly Val Phe Val Phe Arg
    290                 295                 300
Tyr Thr Pro Leu Val Glu Leu Pro Ala Glu Arg Gln Asp Lys Trp Ile
305                 310                 315                 320
Ala Gln Gly Tyr Gly Ser Glu Ala Glu Ile Pro Thr Val Tyr Arg Val
                325                 330                 335
Asn Met Ala Asp Ala His Ser Leu Phe Ser Met Gln Arg Phe Pro Val
            340                 345                 350
Lys Asn Lys Asp Val Leu Tyr Val Ser Asn Ala Pro Leu Ala Glu Val
        355                 360                 365
Gln Lys Phe Leu Ser Phe Val Phe Ser Pro Val Thr Ser Gly Ala Asn
    370                 375                 380
Ser Ile Asn Asn Leu Thr Asn
385                 390
```

<210> 15
<211> 807
<212> DNA
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 15

```
atgaatatga aaaaatggat tgccgccgcc cttgcctgtt ccgcgctcgc gctgtctgcc      60
tgcggcggtc agggcaaaga tgccgccgcg cccgccgcaa accccgacaa agtgtaccgc     120
gtggcttcca acgccgagtt tgccccctttt gaatctttag actcgaaagg caatgttgaa     180
```

```
ggcttcgatg tggatttgat gaacgcgatg gcgaaggcgg gcaattttaa aatcgaattc    240
aaacaccagc cgtgggacag ccttttcccc gccttgaaca acggcgatgc ggacgttgtg    300
atgtcgggcg taaccattac cgacgaccgc aaacagtcta tggacttcag cgacccgtat    360
tttgaaatca cccaagtcgt cctcgttccg aaaggcaaaa aaatatcttc ttccgaagat    420
ttgaaaaaca tgaacaaagt cggcgtggta accggctaca cgggcgattt ctccgtatcc    480
aaactcttgg gcaacgacaa cccgaaaatc gcgcgctttg aaaacgttcc cctgattatc    540
aaagaactgg aaaacggcgg cttggattcc gtggtcagcg acagcgcagt catcgccaat    600
tatgtgaaaa acaatccgac caaagggatg gacttcgtta ccctgcccga cttcaccacc    660
gaacactacg gcatcgcggt acgcaaaggc gacgaagcaa ccgtcaaaat gctgaacgat    720
gcgttgaaaa aagtacgcga aagcggcgaa tacgacaaaa tctacgccaa atattttgca    780
aaagaagacg gacaggccgc aaaataa                                        807
```

<210> 16
<211> 268
<212> PRT
<213> *Neisseria meningitidis*

<400> 16

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

225 230 235 240
Ala Leu Lys Lys Val Arg Glu Ser Gly Glu Tyr Asp Lys Ile Tyr Ala
245 250 255
Lys Tyr Phe Ala Lys Glu Asp Gly Gln Ala Ala Lys
260 265

【国際公開パンフレット（コレクトバージョン）】

PCT WORLD INTELLECTUAL PROPERTY ORGANIZATION
International Bureau

INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(51) International Patent Classification 7 :
C12N 15/31, C07K 14/22, A61K 39/095, C07K 16/12, G01N 33/569

A3

(11) International Publication Number: **WO 00/42191**

(43) International Publication Date: 20 July 2000 (20.07.00)

(21) International Application Number: PCT/EP00/00135

(22) International Filing Date: 10 January 2000 (10.01.00)

(30) Priority Data:

9900952.4	15 January 1999 (15.01.99)	GB
9900838.5	15 January 1999 (15.01.99)	GB
9901945.7	28 January 1999 (28.01.99)	GB
9901948.1	28 January 1999 (28.01.99)	GB
9902078.6	29 January 1999 (29.01.99)	GB
9902088.5	29 January 1999 (29.01.99)	GB
9902074.5	29 January 1999 (29.01.99)	GB
9902879.7	9 February 1999 (09.02.99)	GB
9902936.5	10 February 1999 (10.02.99)	GB
9903978.6	20 February 1999 (20.02.99)	GB
9904133.7	23 February 1999 (23.02.99)	GB
9904404.2	25 February 1999 (25.02.99)	GB

(71) Applicant *(for all designated States except US)*: SMITHKLINE BEECHAM BIOLOGICALS S.A. [BE/BE]; Rue de l'Institut 89, B–1330 Rixensart (BE).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants *(for US only)*: RUELLE, Jean–Louis [BE/BE]; SmithKline Beecham Biologicals S.A., Rue de l'Institut 89, B–1330 Rixensart (BE). THONNARD, Joelle [BE/BE]; SmithKline Beecham Biologicals S.A., Rue de l'Institut 89, B–1330 Rixensart (BE).

(74) Agent: PRIVETT, Kathryn, Louise; SmithKline Beecham, Two New Horizons Court, Brentford, Middlesex TW8 9EP (GB).

(81) Designated States: AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published
With international search report.

(88) Date of publication of the international search report:
16 November 2000 (16.11.00)

(54) Title: NEISSERIA MENINGITIDIS ANTIGENIC POLYPEPTIDES, CORRESPONDING POLYNUCLEOTIDES AND PROTECTIVE ANTIBODIES

(57) Abstract

The invention provides Neisseria meningitidis BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 and BASB071 polypeptides, and polynucleotides encoding BASB051, BASB057, BASB060, BASB061, BASB063, BASB065, BASB066 and BASB071 polypeptides, and methods for producing such polypeptides by recombinant techniques. Also provided are diagnostic, prophylactic and therapeutic uses thereof.

FOR THE PURPOSES OF INFORMATION ONLY

Codes used to identify States party to the PCT on the front pages of pamphlets publishing international applications under the PCT.

AL	Albania	**ES**	Spain	**LS**	Lesotho	**SI**	Slovenia
AM	Armenia	**FI**	Finland	**LT**	Lithuania	**SK**	Slovakia
AT	Austria	**FR**	France	**LU**	Luxembourg	**SN**	Senegal
AU	Australia	**GA**	Gabon	**LV**	Latvia	**SZ**	Swaziland
AZ	Azerbaijan	**GB**	United Kingdom	**MC**	Monaco	**TD**	Chad
BA	Bosnia and Herzegovina	**GE**	Georgia	**MD**	Republic of Moldova	**TG**	Togo
BB	Barbados	**GH**	Ghana	**MG**	Madagascar	**TJ**	Tajikistan
BE	Belgium	**GN**	Guinea	**MK**	The former Yugoslav Republic of Macedonia	**TM**	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	**GR**	Greece			**TR**	Turkey
BG	Bulgaria	**HU**	Hungary	**ML**	Mali	**TT**	Trinidad and Tobago
BJ	Benin	**IE**	Ireland	**MN**	Mongolia	**UA**	Ukraine
BR	Brazil	**IL**	Israel	**MR**	Mauritania	**UG**	Uganda
BY	Belarus	**IS**	Iceland	**MW**	Malawi	**US**	United States of America
CA	Canada	**IT**	Italy	**MX**	Mexico	**UZ**	Uzbekistan
CF	Central African Republic	**JP**	Japan	**NE**	Niger	**VN**	Viet Nam
CG	Congo	**KE**	Kenya	**NL**	Netherlands	**YU**	Yugoslavia
CH	Switzerland	**KG**	Kyrgyzstan	**NO**	Norway	**ZW**	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	**KP**	Democratic People's Republic of Korea	**NZ**	New Zealand		
CM	Cameroon			**PL**	Poland		
CN	China	**KR**	Republic of Korea	**PT**	Portugal		
CU	Cuba	**KZ**	Kazakstan	**RO**	Romania		
CZ	Czech Republic	**LC**	Saint Lucia	**RU**	Russian Federation		
DE	Germany	**LI**	Liechtenstein	**SD**	Sudan		
DK	Denmark	**LK**	Sri Lanka	**SE**	Sweden		
EE	Estonia	**LR**	Liberia	**SG**	Singapore		

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 00/00135

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 C12N15/31 C07K14/22 A61K39/095 C07K16/12 G01N33/569

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 C12N C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DELAHAY RM ET AL: "Involvement of the gonococcal MtrE protein in the resistance of Neisseria gonorrhoeae to toxic hydrophobic agents" MICROBIOLOGY, vol. 143, no. 7, July 1997 (1997-07), pages 2127-2133, XP000907381 figure 1 ---	1-16
X	FUSSENEGGER M ET AL.: "A novel peptidoglycan-linked lipoprotein (ComL) that functions in natural transformation competence of Neisseria gonorrhoeae" MOLECULAR MICROBIOLOGY, vol. 19, no. 5, 1996, pages 1095-1105, XP000907394 figure 2 --- -/--	1-16

[X] Further documents are listed in the continuation of box C. [X] Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier document but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
25 May 2000	28 08 00

Name and mailing address of the ISA	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	CUPIDO, M

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Internatic ' Application No
PCT/EP 00/00135

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 98 02547 A (INST NAT SANTE RECH MED ;MAX PLANCK GESELLSCHAFT; SMITHKLINE BEECHAM) 22 January 1998 (1998-01-22) the whole document ---	1-18
A	MARTIN D ET AL: "HIGHLY CONSERVED NEISSERIA MENINGITIDIS SURFACE PROTEIN CONFERS PROTECTION AGAINST EXPERIMENTAL INFECTION" JOURNAL OF EXPERIMENTAL MEDICINE,JP,TOKYO, vol. 185, no. 7, 1997, pages 1173-1183-1183, XP000884332 ISSN: 0022-1007 -----	1-24

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No
PCT/EP 00/00135

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9802547 A	22-01-1998	FR 2751000 A	16-01-1998
		AU 3697797 A	09-02-1998
		EP 0951552 A	27-10-1999

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 1992)

フロントページの続き

(51)Int.Cl.[7]	FI		テーマコード（参考）
Ｃ０７Ｋ 14/22	Ｃ０７Ｋ 14/22		
Ｃ０７Ｋ 16/12	Ｃ０７Ｋ 16/12		
Ｃ１２Ｎ 1/15	Ｃ１２Ｎ 1/15		
Ｃ１２Ｎ 1/19	Ｃ１２Ｎ 1/19		
Ｃ１２Ｎ 1/21	Ｃ１２Ｎ 1/21		
Ｃ１２Ｎ 5/10	Ｃ１２Ｐ 21/02	Ｃ	
Ｃ１２Ｐ 21/02	Ｇ０１Ｎ 33/53	Ｎ	
Ｇ０１Ｎ 33/53	Ｇ０１Ｎ 33/569	Ｆ	
Ｇ０１Ｎ 33/569	Ｃ１２Ｎ 5/00	Ａ	

(31)優先権主張番号 9901948.1
(32)優先日 平成11年1月28日(1999.1.28)
(33)優先権主張国 英国(GB)
(31)優先権主張番号 9902078.6
(32)優先日 平成11年1月29日(1999.1.29)
(33)優先権主張国 英国(GB)
(31)優先権主張番号 9902088.5
(32)優先日 平成11年1月29日(1999.1.29)
(33)優先権主張国 英国(GB)
(31)優先権主張番号 9902074.5
(32)優先日 平成11年1月29日(1999.1.29)
(33)優先権主張国 英国(GB)
(31)優先権主張番号 9902879.7
(32)優先日 平成11年2月9日(1999.2.9)
(33)優先権主張国 英国(GB)
(31)優先権主張番号 9902936.5
(32)優先日 平成11年2月10日(1999.2.10)
(33)優先権主張国 英国(GB)
(31)優先権主張番号 9903978.6
(32)優先日 平成11年2月20日(1999.2.20)
(33)優先権主張国 英国(GB)
(31)優先権主張番号 9904133.7
(32)優先日 平成11年2月23日(1999.2.23)
(33)優先権主張国 英国(GB)
(31)優先権主張番号 9904404.2
(32)優先日 平成11年2月25日(1999.2.25)
(33)優先権主張国 英国(GB)

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,CH,CY,DE,DK,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,CA,CH,CN,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,EE,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,NO,NZ,PL,PT,RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VN,YU,ZA,ZW

(74)代理人 100081330
弁理士 樋口 外治
(72)発明者 リュール，ジャンーールイ

ベルギー国，ベ－１３３０　リクサンサール，リュ　ドゥ　ランスティテュ　８９，スミスクライン　ビーチャム　バイオロジカルズ　ソシエテ　アノニム
(72)発明者　トンナール，ジョエル
ベルギー国，ベ－１３３０　リクサンサール，リュ　ドゥ　ランスティテュ　８９，スミスクライン　ビーチャム　バイオロジカルズ　ソシエテ　アノニム

Ｆターム(参考)　4B024 AA01 AA13 BA31 BA65 CA04 DA05 EA04 GA11 HA15 HA17
4B064 AG31 CA01 CA19 CA20 CC24 DA03 DA15
4B065 AA01X AA57X AA72X AA90X AA90Y AB01 BA02 CA24 CA45 CA46
4C085 AA03 AA08 AA13 AA19 BA16 BB11 CC07 CC21 DD62 EE01
4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 BA55 CA11 DA75 EA29 EA52
FA72 FA74

专利名称(译)	新规化合物		
公开(公告)号	JP2004537953A	公开(公告)日	2004-12-24
申请号	JP2000593748	申请日	2000-01-10
[标]申请(专利权)人(译)	葛兰素史密丝克莱恩生物有限公司		
申请(专利权)人(译)	葛兰素史克生物制品兴业ANONYME		
[标]发明人	リュールジャンルイ トンナールジョエル		
发明人	リュール,ジャン-ルイ トンナール,ジョエル		
IPC分类号	G01N33/53 A61K39/00 A61K39/095 A61K39/395 A61P25/00 A61P31/04 C07K14/22 C07K16/12 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N15/09 C12N15/31 C12P21/02 G01N33/569		
CPC分类号	A61K39/00 A61P25/00 C07K14/22		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A A61K39/095 A61K39/395.D A61P25/00 A61P31/04 C07K14/22 C07K16/12 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12P21/02.C G01N33/53.N G01N33/569.F C12N5/00.A		
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/AA13 4B024/BA31 4B024/BA65 4B024/CA04 4B024/DA05 4B024/EA04 4B024/GA11 4B024/HA15 4B024/HA17 4B064/AG31 4B064/CA01 4B064/CA19 4B064/CA20 4B064/CC24 4B064/DA03 4B064/DA15 4B065/AA01X 4B065/AA57X 4B065/AA72X 4B065/AA90X 4B065/AA90Y 4B065/AB01 4B065/BA02 4B065/CA24 4B065/CA45 4B065/CA46 4C085/AA03 4C085/AA08 4C085/AA13 4C085/AA19 4C085/BA16 4C085/BB11 4C085/CC07 4C085/CC21 4C085/DD62 4C085/EE01 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/BA55 4H045/CA11 4H045/DA75 4H045/EA29 4H045/EA52 4H045/FA72 4H045/FA74		
代理人(译)	石田 敬 中村弘 西山雅也		
优先权	1999000952 1999-01-15 GB 1999000838 1999-01-15 GB 1999001945 1999-01-28 GB 1999001948 1999-01-28 GB 1999002078 1999-01-29 GB 1999002088 1999-01-29 GB 1999002074 1999-01-29 GB 1999002879 1999-02-09 GB 1999002936 1999-02-10 GB 1999003978 1999-02-20 GB 1999004133 1999-02-23 GB 1999004404 1999-02-25 GB		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明提供了BASB051，BASB057，BASB060，BASB061，BASB063，BASB065，BASB066和BASB071多肽，以及编码BASB051，BASB057，BASB060，BASB061，BASB063，BASB065，BASB066和BASB071多肽的多核苷酸，以及通过重组技术生产这种多肽的方法。 还提供了诊断，预防和治疗用途。

(P2004-537953A
(43)公表日 平成16年12月24日(2004.12.24

(51)Int.Cl.[7]	F I		テーマコード（参考）
C12N 15/09	C12N	15/00 ZNAA	4B024
A61K 39/095	A61K	39/095	4B064
A61K 39/395	A61K	39/395 D	4B065
A61P 25/00	A61P	25/00	4C085
A61P 31/04	A61P	31/04	4H045

審査請求 未請求 予備審査請求 有 （全 209 頁） 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2000-593748(P2000-593748)
(86)(22)出願日 平成12年1月10日(2000.1.10)
(85)翻訳文提出日 平成13年7月12日(2001.7.12)
(86)国際出願番号 PCT/EP2000/000135
(87)国際公開番号 WO2000/042191
(87)国際公開日 平成12年7月20日(2000.7.20)
(31)優先権主張番号 9900952.4
(32)優先日 平成11年1月15日(1999.1.15)
(33)優先権主張国 英国(GB)
(31)優先権主張番号 9900838.5
(32)優先日 平成11年1月15日(1999.1.15)
(33)優先権主張国 英国(GB)
(31)優先権主張番号 9901945.7
(32)優先日 平成11年1月28日(1999.1.28)
(33)優先権主張国 英国(GB)

(71)出願人 397062700
グラクソスミスクライン バイオロジカルズ ソシエテ アノニム
ベルギー国 リキセンザール ビー 13 30 ルー ザ ランスティテュート 89
(74)代理人 100077517
弁理士 石田 敬
(74)代理人 100082624
弁理士 鶴田 準一
(74)代理人 100108903
弁理士 中村 和広
(74)代理人 100082898
弁理士 西山 雅也