



PCT



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SOLICITUD
PATENTE DE INVENCION

10-52816

21. EXPEDIENTE Nº

54. TÍTULO FORMULACIONES DE VACUNA MENINGOCOCICA.

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL A61 K 39/095

71. SOLICITANTE NOVARTIS AG.

DOMICILIO Basilea, Suiza

74. APODERADO DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAN

22. BOGOTÁ, D.C. _____

19-05-2010



**FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL**

1 SOLICITUD DE:

☒ Patente de Invención ☐ Patente de Modelo de Utilidad

☒ Capitulo I ☐ Capitulo II

2
**SOLICITANTE
(71)**

Nombre: **NOVARTIS AG.**
Dirección: Lichtstrasse 35, CH-4056 Basilea,
Suiza.
Nacionalidad o Domicilio: Basilea, Suiza
Lugar de Constitución : Suiza
Teléfono: Fax:
E-mail

IDENTIFICACIÓN
C.C. ☐ NIT ☐
C.E. ☐ Otro ☐
Número

3
**REPRESENTANTE
O APODERADO
(74)**

Nombre: DILIA MARÍA RODRÍGUEZ
D'ALEMAN
Dirección: Cra. 11 No. 86-53 piso 6
Teléfono: 6 181088 Fax: 6350824
E-mail: clarkemodet@clarkemodet.com.co

IDENTIFICACIÓN
C.C. ☒ NIT ☐
C.E. ☐ Otro ☐
Número 41.654.882
T.P 20824 CSJ

4
**INVENTOR (ES)
(72)**

Nombre: **VER ANEXOS**
Dirección:
Nacionalidad o domicilio:

5 **PCT (86)**

Solicitud Internacional No. PCT/IB2008/003283 Fecha 17 de octubre de 2008
Publicación Internacional No. WO 2009/050586 A1 Fecha 23 de abril de 2009

6 **TITULO (54)** FORMULACIONES DE VACUNA MENINGOCOCICA.

7 **Clasificación Internacional (51)** A61K 39/095

8 **Prioridad**

SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen
ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA

(32) Fecha
19 de octubre de 2007

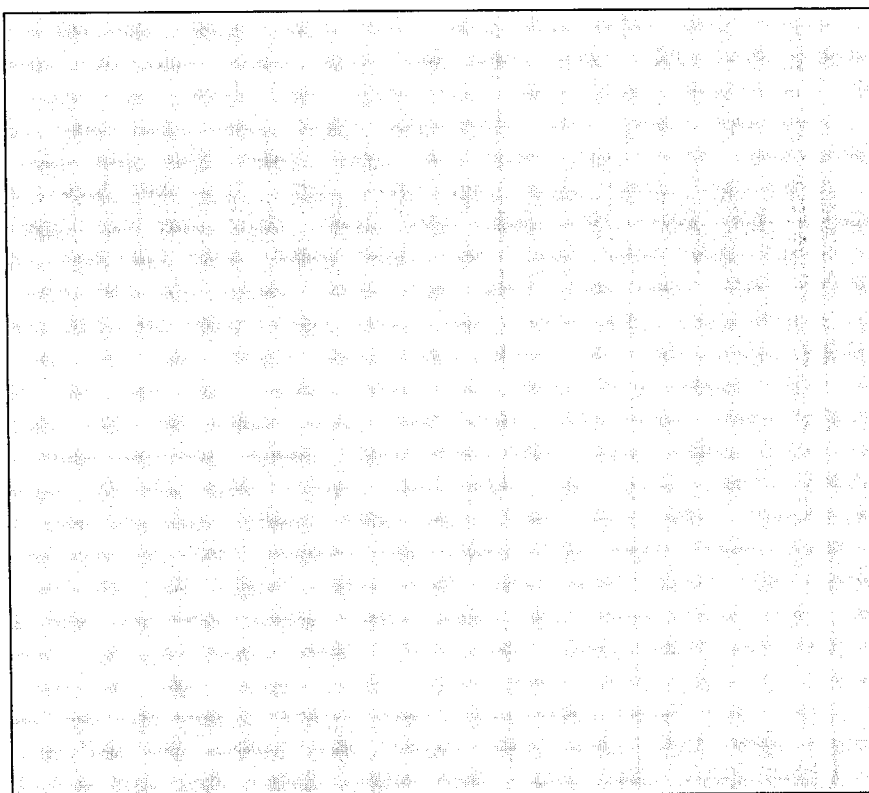
(31) Número de Solicitud
60/999,590

9 **Comprobante de pago No.** 10 - 18,024

Fecha 8 de marzo de 2010

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud
- ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica
- ☒ Poderes si fuere el caso
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante
- ☐ Declaraciones
- ☒ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).
- ☐ Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA
- ☐ De ser el caso copia de contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ De ser el caso, certificado de deposito del material biológico
- ☐ Arte final 12 X 12 .
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional
- ☒ Otros * Reporte de búsqueda Internacional.

11 FIGURA CARACTERÍSTICA



12 Solicito la concesión de la patente

NOMBRE : DILIA MARÍA RODRÍGUEZ D'ALEMAN

FIRMA:

C.C. 41.654.882

T.P. 20824

As. P-2542

ANEXOS

INVENTORES

1.)

CONTORNI, Mario

(Novartis Vaccines, Via Fiorentina 1, I-53100 Siena, Italia);

2.)

KAZZAZ, Jina

(Novartis Vaccines, 45 Sidney Street, Cambridge, Massachusetts 02139, Estados Unidos de América);

3.)

O'HAGAN, Derek

(Novartis Vaccines, 45 Sidney Street, Cambridge, Massachusetts 02139, Estados Unidos de América);

4.)

SINGH, Manmohan

(Novartis Vaccines, 45 Sidney Street, Cambridge, Massachusetts 02139, Estados Unidos de América);

5.)

UGOZZOLI, Mildred

(Novartis Vaccines, 45 Sidney Street, Cambridge, Massachusetts 02139, Estados Unidos de América).

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 900176097

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-052816-00000-0000

Fecha: 2010-05-04 15:11:09 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 111

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 10 - 18,024
FECHA : MARZO 8 DE 2010

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
CLARKE MODET Y CO. COLOMB	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	16937491	08/03/2010	89,370,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTADO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	
		1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	554,000.00
		TOTAL :	\$ 554,000.00

SON: QUINIENTOS CINCUENTA Y CUATRO MIL PESOS

RESPONSABLE : 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

P-2542
3

50054-CG-PCT

N-2-36

GENERAL 300

COLOMBIA

Carrera 11 N° 86-53 Piso 6 Bogotá Colombia Tel: (57 1) 6181088 Fax: (57 1) 6350824 Email: info@clarkemodet.com.co

PODER

Yo (nosotros), abajo firmante(s)

Steve Braithwaite y Bernd Liphardt

en mi (nuestro) carácter de representante(s) legales de

Novartis AG.

una sociedad organizada y existente de acuerdo con las leyes de

Suiza

y en actual cumplimiento de su objeto social, con domicilio en

Lichtstrasse 35, 4052 Basel, Suiza

por el presente instrumento confiero (conferimos) poder especial a favor de DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAN, con Cédula de Ciudadanía No. 41.654.882 de Bogotá, y tp. 20824 y CLAUDIA LUCIA CARO RAMIREZ, con Cédula de Ciudadanía No. 40.017.374 de Tunja, y tp. 36448, con domicilio en Bogotá, Colombia, para que actuando en su orden en nombre del (de la) otorgante le (la) representen ante cualquier entidad, autoridad y/o persona, especialmente ante las del orden Administrativo, Contencioso Administrativo, Judicial, Tribunales de Arbitramento y/o cualquier otro en lo referente a los siguientes asuntos:

- 1) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar cualquiera de las modalidades de Propiedad Industrial, tales como: patentes de invención, modelos de utilidad; diseños industriales, variedades vegetales; marcas, lemas, nombres y enseñas comerciales y denominaciones de origen; así como sus renovaciones, prórrogas, transferencias, cambios de nombre y/o domicilio, contratos y licencias.
- 2) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar derechos de autor, en cualquiera de sus presentaciones así como la protección de secretos industriales y know-how.
- 3) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar registros sanitarios, permisos y/o licencias de funcionamiento; así como sus renovaciones o prórrogas, transferencias, cambios de nombre y/o domicilio, contratos y licencias.
- 4) Ejercer acciones de oposición, observación, reclamos, reconsideración, reposición, apelación, cancelación administrativa o judicial, nulidad, protección al consumidor, concesión de licencias, protección de secretos industriales y demás acciones y recursos relacionados con derechos derivados de los asuntos arriba indicados y en contra de la competencia desleal, acciones derivadas de la obtención o explotación de licencias, acciones de indemnización de perjuicios. También podrá(n) intervenir en juicios civiles, comerciales, penales, contencioso-administrativos, tutelas y de policía; en acciones o juicios promovidos por el (la) mandante o en contra el (ella).
- 5) Registrar nombres de dominio ante la entidad competente.
- 6) En el ejercicio de este mandato los mandatarios arriba mencionados quedan facultados para: conciliar, cancelar, transigir, comprometer en árbitros, desistir, recibir y tomar posesión de la cosa objeto de litigio y renunciar o desistir a derechos concedidos o en curso de concesión, admitir los hechos del proceso.
- 7) Ratificar o no la agencia oficiosa.
- 8) Así mismo faculto (facultamos) a los mencionados apoderados para recibir notificaciones y designar apoderados judiciales o extrajudiciales, sustituir el presente poder y revocar las sustituciones que hicieren.

Dado y firmado en Basilea, Suiza
a los 1 días de Octubre de 2008

Firma / signature

POWER OF ATTORNEY

I (we), the undersigned

STEVE BRAITHWAITE and BERND LIPHARDT

legal representative(s) of

NOVARTIS AG

an organization existing under the laws of

SWITZERLAND

and in present execution of its business activity, domiciled at

LICHTSTRASSE 35, 4052 BASEL, CH

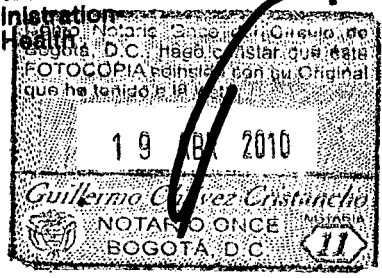
do hereby grant POWER OF ATTORNEY to DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAN, identification card No. 41.654.882 of Bogotá, and tp. 20824 and CLAUDIA LUCIA CARO RAMIREZ, tp. 36448, identification card No. 40.017.374 of Tunja, residing in Bogotá, Colombia, to act in the order of their appointment in behalf of grantor before any entity, authority and/or natural or juridical person, specially before those Administrative, Administrative-Contentious, Judicial, arbitration courts, and/or any other, in all matters concerning the following:

- 1) To apply, process, obtain and/or register any of the modalities of Industrial Property, such as: Patents of Invention, Utility Models; Designs, plant varieties; Marks, Slogans, Trade Names and emblems and appellations of Origin; as well as their renewals, assignments, changes of name and/or domicile, agreements and licenses.
- 2) To apply, process, obtain and/or register copyrights of any kind as well as protection of industrial secrets or know-how.
- 3) To apply, process, obtain and/or register sanitary registrations, operating authorizations and/or licenses; as well as their renewals or assignments, changes of name and/or domicile, agreements and licenses.
- 4) To bring actions of opposition, observations, claims, reconsideration, appeal or legal remedies, cancellations, nullity, protection to the consumer, granting of licenses, protection of trade secrets and other actions related with rights derived from the above-mentioned matters and against the unfair competition, actions resulting from the obtaining or exploitation of licenses, recovering damages actions. They can also intervene or participate in Civil, Commercial, Criminal or Contentious-Administrative Trials; the actions for writ mandamus, police actions; in actions, lawsuits or litigations instituted by the grantor or against him.
- 5) To register domain names before the competent entity.
- 6) To the effect of this mandate the above-named proxy are empowered to: conciliate, cancel, settle, submit to arbitration, withdraw and to receive and take possession of the litigation related object and waive or renounce the rights granted or in process of granting, admit the facts of the case.
- 7) To ratify or not the officious agency.
- 8) I (we) hereby appoint the afore mentioned attorneys with powers to receive notifications and to designate judicial and extrajudicial attorneys, substitute this Power of Attorney and to revoke such substitutions.

Granted and signed at Basilea, CH
on this 01st day of OCTOBER of 2008

Novartis AG
Steve Braithwaite
Head of Patent Administration
Novartis Animal Health

B. Liphardt



NOTARIAL CERTIFICATION

On this 10th (tenth) day of October 2008 (two thousand and eight), the undersigned Notary Public at Basel, Switzerland, Dr. Thomas Gelzer,

CERTIFIES

1. That **Mr. Steve Braithwaite**, British citizen, residing in Basel, Switzerland, and **Mr. Bodo Liphardt**, German citizen, residing in Reinach/BL, Switzerland, (the "grantors"), both of legal age, set their hand on the foregoing document.

2. That the authenticity of the signatures of the grantors has been established by means of comparison and that they have the legal capacity to execute the instrument.

3. That the grantors have executed the foregoing document as proxy holders on behalf of **Novartis AG**, in Basel, Switzerland ("the corporate person"), with joint signature at two.

4. That the corporate person, having its home office in Basel, Switzerland, is duly organized, has present legal existence and that the purposes for which the power of attorney is granted are within the scope of its corporate purposes.

5. That the grantors have in fact the referred to authority and that their representation is legal.

6. That I have based certifications 3 (three), 4 (four) and 5 (five) above on the following authentic documents for such purpose exhibited to me and which I mention specifically, giving their dates and their origin of source:

- Online Extract from the Register of Commerce of the Canton Basel-City/Switzerland, for Novartis AG of today.

- Power of Attorney dated December 20 (twenty), 2007 (two thousand and seven).

BASEL, Switzerland, this 10th (tenth) day of October 2008 (two thousand and eight)

Leg.Prot.Nr. 949/2008

CERTIFICACIÓN NOTARIAL

Al 10 (diez) del mes de octubre de 2008 (dos mil y ocho), el suscrito Notario Publico de Basilea, Suiza, Dr. Thomas Gelzer,

DA FE

1. Que los Señores **Steve Braithwaite**, de Gran Bretaña, en Basilea, Suiza, y **Bodo Liphardt**, de Alemania, en Reinach/BL, Suiza (los "otorgantes"), mayor de edad, firmen de su puño y letra el documento que antecede.

2. Que la autenticidad de las firmas de los otorgantes fué verificada por comparación y que ellos tienen capacidad legal para el otorgamiento.

3. Que los otorgantes han suscrito el referido documento en su carácter de mandatarios de **Novartis AG** (la "persona jurídica"), facultados para hacer uso conjuntamente de la firma social.

4. Que la persona jurídica con sede en Basilea, Suiza, está legalmente constituida, que tiene existencia legal actual y que el acto para el cual se otorga el poder está comprendido entre los que constituyen su objeto social.

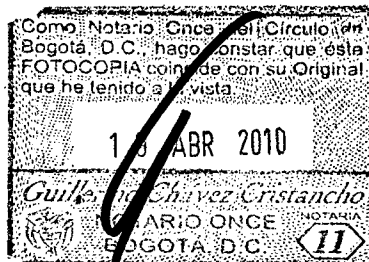
5. Que los otorgantes tienen efectivamente la representación que ostenta y que ésta es legítima.

6. Que he basado las certificaciones 3 (tres), 4 (cuatro) y 5 (cinco) anteriores en los siguientes documentos auténticos que al efecto se me exhibieron y que menciono específicamente con expresión de sus fechas y de su origen o procedencia:

- Online Extracto del registro mercantil de Basilea-Ciudad/Suiza, para Novartis AG de hoy.

- Poder del 20 (veinte) de diciembre de 2007 (dos mil y siete).

T. Gelzer, Ndr
Dr. Th. Gelzer
Notar



5

APOSTILLE

(Convention de la Haye du 5 octobre 1961)

1. Land: Schweiz (Suisse)

Diese öffentliche Urkunde

2. ist unterschrieben von *Dr. iur.*

3. in seiner Eigenschaft als *H. Gelzer*

4. sie ist versehen mit dem Siegel/Stempel des (der) *off. Notar*

Gemeinden

Bestätigt

10. Okt. 2008

5. in Basel (Bâle)

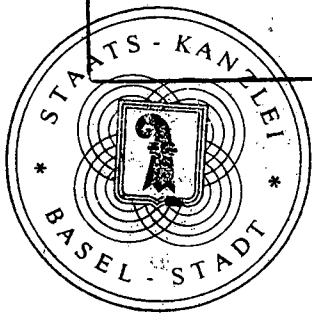
6. am

7. durch die Staatskanzlei des Kantons Basel-Stadt

8. unter Nr. *8925/15089*

9. Siegel/Stempel: 10. Unterschrift: *[Signature]*

Helena Schaffner



APOSTILLA

(Convención de la Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Republica Federal de Alemania

Este documento publico

2. está firmado por el Dr. Ins. M. Gelzer

3. en su calidad de Notario publico

4. está provisto con el timbre del notario nombrado

confirmado

5. en Basilea

6. el 10 de octubre de 2008

7. por la cancillería estatal del cantón de ciudad Basilea

8. bajo el numero 8925 – 15089

9. Sello

10. Firma

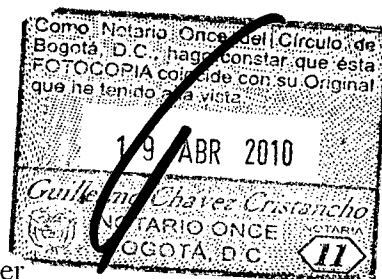
cancillería estatal del cantón
de ciudad Basilea

Firma

Helena Schaffner

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES
2008 FEB 24 A 10:59
JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD
DEL TEXTO
006805
Adolf Watzke
CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS



Adolf Watzke
Traductor oficial
Res. 2433 Min. Justicia

RESUMEN DE LA INVENCIÓN

Una formulación dual para vacunas contra el serogrupo B de *Neisseria meningitidis* ("Men-B") comprende (i) un adyuvante de emulsión de aceite en agua y (ii) un componente inmunogénico de Men-B en forma liofilizada. Los antígenos liofilizados de Men-B se pueden reconstituir en forma líquida con adyuvante en el momento de uso listo para administración a un paciente. Se ha encontrado que esta formulación da excelentes resultados en términos tanto de estabilidad como de inmunogenicidad. El componente liofilizado también puede incluir uno o más sacáridos conjugados de los serogrupos A, C, W135 y/o Y de *N. meningitidis*.

15

20

25

7

FORMULACIONES DE VACUNA MENINGOCOCICA**Campo de la Invención**

Esta invención está en el campo de la formulación de
5 vacunas meningocócicas.

Antecedentes de la Invención

Actualmente se están investigando varias vacunas
contra el serogrupo B de *Neisseria meningitidis* ("Men-B"),
pero comparten una característica común.

10 Los productos de vesícula de membrana exterior (OMV)
producidos por Novartis (MENZB^{MR}), por el Instituto Finlay
(VA-MENGOC-BC^{MR}), por el Instituto Noruego de Salud Pública
(MENBVAC^{MR}) y por el Instituto de Vacunación de los Países
Bajos (HEXAMEN^{MR} y NONAMEN^{MR}) incluyen todos un adyuvante de
15 hidróxido de aluminio. La "vacuna universal para el
meningococo del serogrupo B" reportada por Novartis en la
referencia 1 también incluye un adyuvante de hidróxido de
aluminio, como lo hace la vacuna bivalente de OMV
recientemente reportada en la referencia 2.

20 **Breve Descripción de la Invención**

Al desarrollar la vacuna de Men-B de Novartis, los
inventores han encontrado que la inmunogenicidad óptima
requiere la presencia de un adyuvante. Adicionalmente,
encontraron que la adsorción a hidróxido de aluminio
25 proporciona buena estabilidad de almacenamiento para los

antígenos de la vacuna. Sin embargo, se han buscado alternativas para evitar la necesidad de usar sales de aluminio.

Es ya conocido el uso de adyuvantes sin aluminio para las vacunas de Men-B. Por ejemplo, la referencia 3 reporta el uso de la emulsión de aceite en agua, MF59, como un adyuvante para las vesículas de Men-B, y la referencia 4 describe el uso de oligonucleótidos inmunoestimuladores y/o MF59 como adyuvantes. Aunque los resultados de inmunogenicidad con MF59 fueron excelentes, la investigación continúa ha mostrado que este adyuvante puede mejorar la cobertura de cepas de una vacuna de Men-B en comparación a hidróxido de aluminio, el trabajo adicional ha mostrado inesperadamente que los inmunógenos de Men-B con adyuvante de emulsiones de aceite en agua tienen pobre estabilidad a largo plazo. De esta manera, es un objeto de la invención proporcionar maneras para mejorar la estabilidad de almacenamiento de vacunas de Men-B cuando se usan adyuvantes de emulsiones de aceite en agua.

La experiencia anterior con emulsiones de aceite en agua viene del área de las vacunas de influenza. El producto FLUAD^{MR} incluye la emulsión MF59, y se distribuye en un formato líquido pre-mezclado en un recipiente único (el planteamiento de "un frasco"). Esta formulación pre-mezclada es la formulación que ahora se ha encontrado que ofrece pobre

estabilidad para las vacunas de Men-B.

Como una alternativa a la formulación de "un frasco" con vacunas de emulsión de aceite en agua, se ha usado un planteamiento de "dos frascos" para influenza (ver, por ejemplo referencia 5), para HSV (por ejemplo, referencia 6) y para VIH (por ejemplo, referencia 7), en los cuales se distribuyen conjuntamente la vacuna y la emulsión, ambos en formato líquido, para mezclado extemporáneo en el punto de uso.

De acuerdo a la presente invención, se sigue un planteamiento diferente para las vacunas de Men-B, usando una formulación dual de (i) un adyuvante de emulsión de aceite en agua y (ii) un componente inmunogénico de Men-B en forma liofilizada. Los antígenos liofilizados de Men-B se pueden reconstituir en forma líquida con adyuvantes en el momento del uso listo para administración a un paciente. Se ha encontrado que la formulación da excelentes resultados en términos tanto de estabilidad como de inmunogenicidad.

Adicionalmente, los inventores han encontrado que el componente liofilizado puede retener eficiencia cuando se incluyen uno o más sacáridos conjugados de *N. meningitidis* en los serogrupos A, C, W135 y/o Y (Men-A, -C, -W135 y -Y). Es particularmente ventajosa la combinación de antígenos para inmunización contra múltiples serogrupos meningocócicos, incluyendo el serogrupo B, usando un componente liofilizado

único.

De esta manera, la invención proporciona un kit que comprende: (i) un primer recipiente que contiene un adyuvante que comprende una emulsión de aceite en agua; y (ii) un
5 segundo recipiente que contiene una composición antigénica liofilizada que comprende un inmunógeno para provocar una respuesta inmunitaria contra el serogrupo B de *N. meningitidis*. La composición antigénica liofilizada puede comprender además un sacárido capsular conjugado de uno o más
10 de los serogrupos A, C, W135 y/o Y de *N. meningitidis*.

La invención también proporciona un método para preparar una composición inmunogénica, que comprende el paso de mezclar: (i) un adyuvante que comprende una emulsión de aceite en agua; y (ii) una composición antigénica liofilizada
15 que comprende un inmunógeno para provocar una respuesta inmunitaria contra el serogrupo B de *N. meningitidis*. La composición antigénica liofilizada puede comprender además un sacárido capsular conjugado de uno o más de los serogrupos A, C, W135 y/o Y de *N. meningitidis*.

20 La invención también proporciona una composición antigénica liofilizada que comprende (i) un inmunógeno para provocar una respuesta inmunitaria contra el serogrupo B de *N. meningitidis*, y (ii) un sacárido capsular conjugado de uno o más de los serogrupos A, C, W135 y/o Y de *N. meningitidis*.
25 Esta composición liofilizada es adecuada para la

reconstitución por un adyuvante que comprende una emulsión de aceite en agua, y es adecuada para el uso como un componente de kit de la invención.

La composición antigénica liofilizada

5 La invención usa una composición antigénica liofilizada que incluye un inmunógeno para provocar una respuesta inmunitaria contra Men-B. Opcionalmente puede incluir un sacárido capsular conjugado de uno o más de Men-A, Men-C, Men-W135 y/o Men-Y.

10 El inmunógeno Men-B puede comprender vesículas de membrana de una bacteria de Men-B y/o proteínas recombinantes de Men-B y/o un lipo-oligosacárido (LOS) de Men-B.

 Se conoce en la técnica [8] la liofilización de las OMV de Men-B, pero estas OMV se administraron
15 subsiguientemente de manera conjunta con un adyuvante de fosfato de aluminio. No se reportó el problema de estabilidad de antígeno cuando se combinó con un adyuvante de emulsión de aceite en agua. De manera similar, se conoce la liofilización de antígenos de conjugados meningocócicos, incluyendo la
20 reconstitución subsiguiente con MF59 [9], pero no en combinación con ningún antígeno de Men-B.

Componentes de Men-B que Comprenden Vesículas

 Las vesículas para el uso como componentes de vacuna de Men-B incluyen cualquier vesícula proteoliposómica obtenida
25 al romper una membrana exterior bacteriana para formar

vesículas de la misma que incluyen componentes proteicos de la membrana exterior. De esta manera, el término incluye las OMV (referidas algunas veces como "ampollas"), microvesículas (MV [10]) y "OMV nativas" ("NOMV" [11]).

5 Las MV y NOMV son vesículas de membrana que se presentan de manera natural que se forman espontáneamente durante el crecimiento bacteriano y se liberan en el medio de cultivo. Se pueden obtener MV al cultivar *Neisseria* en medio de cultivo de caldo, separando las células enteras de las MV
10 más pequeñas en el medio de cultivo de caldo (por ejemplo, por filtración o por centrifugación a baja velocidad para sedimentar sólo las células y no las vesículas más pequeñas), y luego recolectando las MV del medio agotado de células (por ejemplo, por filtración, por precipitación diferencial o
15 agregación de las MV, por centrifugación a alta velocidad para sedimentar las MV). En general se pueden seleccionar cepas para el uso en la producción de MV en base a la cantidad de MV producidas en cultivo, por ejemplo, referencias 12 y 13 describen *Neisseria* con alta producción de MV.

20 Se preparan artificialmente OMV a partir de bacterias, y se pueden preparar usando tratamiento con detergente (por ejemplo, con desoxicolato), o por medios no detergentes (ver, por ejemplo referencia 14). Por ejemplo, se describen en las referencias citadas en la presente los
25 métodos para obtener preparaciones adecuadas de OMV. Las

técnicas para formar OMV incluyen tratar bacterias con un detergente de sal de ácido biliar (por ejemplo, sales de ácido litocólico, ácido quenodesoxicólico, ácido usodesoxicólico, ácido desoxicólico, ácido cólico, ácido ursocólico, etc., con desoxicolato de sodio [15 y 16] que se prefiere para tratar *Neisseria*) a un pH suficientemente alto para no precipitar el detergente [17]. Se pueden realizar sustancialmente otras técnicas en la ausencia de detergente [14] usando técnicas tal como tratamiento con ultrasonido, homogenización, microfluidización, cavitación, choque osmótico, molienda, prensa francesa, mezclado, etc. Los métodos que usan nada o poco detergente pueden retener los antígenos útiles tal como NspA [14]. De esta manera, un método puede usar un amortiguador de extracción de OMV con aproximadamente 0.5 % de desoxicolato o menos, por ejemplo, cerca de 0.2 %, aproximadamente 0.1 %, <0.05 % o cero.

En la referencia 18 se describe un proceso útil para la preparación de OMV y comprende la ultrafiltración en OMV crudas, en lugar de centrifugación de alta velocidad. El proceso puede comprender el paso de ultracentrifugación después de que tome lugar la ultrafiltración.

Se pueden preparar vesículas a partir de cualquier cepa de Men-B para el uso con la invención. Pueden ser de cualquier isotipo (por ejemplo 1, 2a, 2b, 4, 14, 15, 16, etc.), de cualquier serosubtipo, y de cualquier inmunotipo

(por ejemplo, L1; L2; L3; L3,3,7; L10; etc.). Los meningococos pueden ser de cualquier linaje adecuado, incluyendo linajes hiperinvasivos e hipervirulentos, por ejemplo cualquiera de los siguientes siete linajes hipervirulentos: subgrupo I; subgrupo III; subgrupo IV-1; complejo ET-5; complejo ET-37; agrupación A4; linaje 3. Estos linajes se han definido por electroforesis enzimática multilocus (MLEE), pero también se ha usado la tipificación de secuencia multilocus (MLST) para clasificar los meningococos [referencia 19], por ejemplo, el complejo ET-37 es el complejo ST-11 por MLST, el complejo ET-5 es ST-32 (ET-5), el linaje 3 es ST-41/44, etc. Se pueden preparar vesículas de cepas que tienen uno de los siguientes subtipos: P1.2; P1.2,5; P1.4; P1.5; P1.5,2; P1.5,c; P1.5c, 10; P1.7,16; P1.7,16b; P1.7h,4; P1.9; P1.15; P1.9,15; P1.12,13; P1.13; P1.14; P1.21,16; P1.22,14.

Las vesículas usadas con la invención se pueden preparar de cepas tipo silvestre de Men-B o de cepas mutantes. Por ejemplo, la referencia 20 describe preparaciones de vesículas obtenidas de *N. meningitidis* con un gen *fur* modificado. La referencia 27 enseña que la expresión de *nspA* se puede favorecer con supresión concomitante de *porA* y *cps*. Los mutantes adicionales de supresión de *N. meningitidis* para la producción de OMV se describen en las referencias 27 a 29. La referencia 21 describe vesículas en las cuales se favorece

la expresión de fHBP. La referencia 22 describe la continuación de vesículas de cepas modificadas para expresar seis diferentes subtipos de PorA. También se puede usar [23,24] *Neisseria* mutante con bajos niveles de endotoxinas, 5 lograda por supresión de enzimas comprendidas en la biosíntesis de LPS. Estos u otros mutantes también se pueden usar con la invención.

De esta manera, una cepa de Men-B usada con la invención puede expresar en algunas modalidades más de un 10 subtipo PorA. Se han construido anteriormente las cepas 6-valente y 9-valente de PorA. La cepa puede expresar 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 ó 9 de los subtipos de PorA: P1.7,16; P1.5-1,2-2; P1.19,15-1; P1.5-2,10; P1.12-1,13; P1.7-2,4; P1.22,14; P1.7-1,1 y/o P1.18-1,3,6. En otras modalidades, una cepa puede 15 haber sido reducida en expresión para la expresión de PorA, por ejemplo, en la cual se ha reducido la cantidad de PorA por al menos 20 % (por ejemplo, ≥ 30 %, ≥ 40 %, ≥ 50 %, ≥ 60 %, ≥ 70 %, ≥ 80 %, ≥ 90 %, ≥ 95 %, etc.), o aún suprimido, con relación a los niveles tipo silvestre (por ejemplo, con relación a la 20 cepa H44/76, como se describe en la referencia 30):

En algunas modalidades, la cepa de Men-B puede sobreexpresar (con relación a la correspondiente cepa tipo silvestre) ciertas proteínas. Por ejemplo, las cepas pueden sobreexpresar NspA, proteína 287 [45], fHBP [21], TbpA y/o 25 TbpB [25], Cu,Zn-superóxido dismutasa [25], etc.

En algunas modalidades, una cepa de Men-B puede incluir una o más de las mutaciones de supresión o sobreexpresión descritas en las referencias 26 a 29. Los genes preferidos para la reducción de la expresión y/o para la supresión incluyen: (a) Cps, CtrA, CtrB, CtrC, CtrD, FrpB, GaleE, HtrB/MsbB, LbpA, LbpB, LpxK, Opa, Opc, PilC, PorB, SiaA, SiaB, SiaC, SiaD, TbpA, y/o TbpB [26]; (b) CtrA, CtrB, CtrC, CtrD, FrpB, GaleE, HtrB/MsbB, LbpA, LbpB, LpxK, Opa, Opc, PhoP, PilC, PmrE, PmrF, SiaA, SiaB, SiaC, SiaD, TbpA, y/o TbpB [27]; (c) ExbB, ExbD, rmpM, CtrA, CtrB, CtrD, GaleE, LbpA, LpbB, Opa, Opc, PilC, PorB, SiaA, SiaB, SiaC, SiaD, TbpA, y/o TbpB [28]; y (d) CtrA, CtrB, CtrD, FrpB, Opa, Opc, PilC, PorB, SiaD, SynA, SynB, y/o SynC [29].

Cuando se usa una cepa mutante, en algunas modalidades, puede tener una o más de las siguientes características: (i) LgtB y/o GaleE reducidos en expresión o reducidos para truncar la LOS meningocócica; (ii) TbpA favorecido en expresión; (iii) Hsf favorecido en expresión; (iv) Omp85 favorecido en expresión; (v) LbpA favorecido en expresión; (vi) NspA favorecido en expresión; (vii) PorA favorecido en expresión; (viii) FrpB reducido en expresión o suprimido; (ix) Opa reducido en expresión o suprimido; (x) Opc reducido en expresión o suprimido; (xi) el complejo génico cps suprimido. Un LOS truncada puede ser una que no incluya un epitopo de sialil-lacto-N-neotetraosa, por ejemplo, puede

ser un LOS deficiente en galactosa. La LOS puede no tener una cadena α .

Si está presente LOS en una vesícula entonces es posible tratar la vesícula para enlazar su LOS y sus
5 componentes proteicos (conjugación "intra-ampolla" [29]).

La invención se puede usar con mezclas de vesículas de diferentes cepas. Por ejemplo, la referencia 30 describe una vacuna que comprende composiciones multivalentes de vesículas meningocócicas, que comprenden una primera vesícula
10 derivada de una cepa meningocócica con un serosubtipo prevalente en un país de uso, y una segunda vesícula derivada de una cepa que no necesita tener un serosubtipo prevalente en un país de uso. La referencia 31 también describe combinaciones útiles de diferentes vesículas. En algunas
15 modalidades se puede usar una combinación de vesículas de cepas con dada uno de los inmunotipos L2 y L3.

Se pueden preparar antígenos basados en vesícula a partir de los serogrupos diferentes de Men-B (por ejemplo, la referencia 17 describe un proceso para Men-A). Por
20 consiguiente, la invención se puede usar con vesículas preparadas de los serogrupos diferentes de Men-B (por ejemplo, A, C, W135 y/o Y). Sin embargo, el foco principal es Men-B.
Componentes de Men-B que Comprenden Proteínas Recombinantes

También se han reportado proteínas recombinantes
25 para el uso como inmunógenos de vacuna contra Men-B. Por

ejemplo, en las referencias 32 a 40 se reportan varios antígenos. Estos antígenos se pueden usar solos o en combinaciones. Donde se combinan múltiples proteínas purificadas entonces es útil usar una mezcla de 10 o menos
5 (por ejemplo, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2) antígenos purificados.

Una combinación particularmente útil de antígenos se describe en las referencias 1 y 40, y de este modo una composición de la invención puede incluir 1, 2, 3, 4 ó 5 de:
(1) una proteína "NadA"; (2) una proteína "fHBP",
10 anteriormente conocida como "741"; (3) una proteína "936"; (4) una proteína "953"; y (5) una proteína "287". Otras posibles combinaciones de antígeno pueden comprender una proteína de unión a transferrina (por ejemplo, TbpA y/o TbpB) y un antígeno Hsf. Otros posibles antígenos purificados incluyen
15 proteínas que comprenden una de las siguientes secuencias de aminoácidos: SEQ ID NO: 650 de la referencia 32; SEQ ID NO: 878 de la referencia 32; SEQ ID NO: 884 de la referencia 32; SEQ ID NO: 4 de la referencia 33; SEQ ID NO: 598 de la referencia 34; SEQ ID NO: 818 de la referencia 34; SEQ ID NO:
20 864 de la referencia 34; SEQ ID NO: 866 de la referencia 34; SEQ ID NO: 1196 de la referencia 34; SEQ ID NO: 1272 de la referencia 34; SEQ ID NO: 1274 de la referencia 34; SEQ ID NO: 1640 de la referencia 34; SEQ ID NO: 1788 de la referencia 34; SEQ ID NO: 2288 de la referencia 34; SEQ ID NO: 2466 de la
25 referencia 34; SEQ ID NO: 2554 de la referencia 34; SEQ ID NO:

2576 de la referencia 34; SEQ ID NO: 2606 de la referencia 34; SEQ ID NO: 2608 de la referencia 34; SEQ ID NO: 2616 de la referencia 34; SEQ ID NO: 2668 de la referencia 34; SEQ ID NO: 2780 de la referencia 34; SEQ ID NO: 2932 de la referencia 34; SEQ ID NO: 2958 de la referencia 34; SEQ ID NO: 2970 de la referencia 34; SEQ ID NO: 2988 de la referencia 34, o un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos que: (a) tiene 50 % o más de identidad (por ejemplo, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 99 % o más) a estas secuencias; y/o (b) comprende un fragmento de al menos n aminoácidos consecutivos de estas secuencias, en donde n es 7 ó más (por ejemplo, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250 ó más). Los fragmentos preferidos para (b) comprenden un epitopo de la secuencia pertinente. Se puede incluir más de uno (por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6) de estos polipéptidos.

El antígeno fHBP cae en tres variantes distintas [39]. Un componente de Men-B de la invención puede incluir una variante única de fHBP, pero incluirá de manera útil un fHBP de cada una de las dos o tres variantes. De esta manera, puede incluir una combinación de dos o tres diferentes fHBP purificados, seleccionados de: (a) una primera proteína, que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos a % identidad de secuencia a SEQ ID NO: 1 y/o que comprende una secuencia de aminoácidos que consiste de un fragmento de al

menos x aminoácidos contiguos de SEQ ID NO: 1; (b) una segunda proteína, que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos b % de identidad de secuencia a SEQ ID NO: 2 y/o que comprende una secuencia de aminoácidos que consiste de un
 5 fragmento de al menos y aminoácidos contiguos de SEQ ID NO: 2; y/o (c) una tercera proteína, que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos c % de identidad de secuencia a SEQ ID NO: 3 y/o que comprende una secuencia de aminoácidos que consiste de un fragmento de al menos z aminoácidos
 10 contiguos de SEQ ID NO: 3.

El valor de a es al menos 85, por ejemplo, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 99.5, o más.

El valor de b es al menos 85, por ejemplo, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 99.5, o más.

15 El valor de c es al menos 85, por ejemplo, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 99.5, o más.

Los valores de a, b y c no se relacionan de manera intrínseca entre sí.

El valor de x es al menos 7, por ejemplo, 8, 9, 10,
 20 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 225, 250). El valor de y es al menos 7, por ejemplo, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50, 60,
 25 70, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 225, 250). El valor

de z es al menos 7, por ejemplo, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 225, 250). Los valores de x, y e z no se relacionan intrínsecamente entre sí.

En algunas modalidades, las proteínas de fHBP se lipidarán, por ejemplo, a una cisteína N-término. En otras modalidades, no se lipidarán.

Una composición útil en base a las proteínas purificadas comprende una mezcla de: (i) un primer polipéptido que tiene la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 4; (ii) un primer polipéptido que tiene la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 5 ó SEQ ID NO: 7; y (iii) un primer polipéptido que tiene la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 6. Ver referencias 1 y 40.

Componentes de Men-B que Comprenden LOS

Se han reportado vacunas meningocócicas basadas en lipooligosacárido. El LOS se puede usar en sí mismo o se puede conjugar a un portador. Cuando se conjuga, la conjugación puede ser mediante una porción de lípido A en el LOS o por cualquier otra porción adecuada, por ejemplo, sus residuos de KDO. Si la porción de lípido A de LOS está ausente entonces es esencial este enlace alternativo.

El LOS puede ser de cualquier inmunotipo, por ejemplo, L2, L3, L7, etc.

En lugar de usar el LOS nativo, se prefiere usar una forma modificada. Estas modificaciones se pueden lograr de manera química, pero es más conveniente suprimir las enzimas en el Men-B responsable de ciertas adiciones biosintéticas.

5 Por ejemplo, se puede modificar LOS para remover al menos el Gal terminal de la unidad nativa de lacto-N-neotetraosa, y esta modificación se puede lograr al suprimir una o más de las enzimas pertinentes. Las enzimas responsables de adicionar los dos monosacáridos terminales en un LOS nativo (ácido

10 siálico y galactosa) se pueden suprimir, ya sea para eliminar sólo la Sia terminal o para eliminar el disacárido Sia-Gal. La supresión del gen *IgtB*, por ejemplo, remueve Sia-Gal. Una supresión del gen *galE* también proporciona un LOS modificado, útil. Se puede suprimir [41] un gen de lípido A-graso-

15 transferasa.

Se puede remover al menos un ácido graso O-enlazado primario del LOS [42]. El LOS que tiene un número reducido de cadenas acilo secundarias por molécula de LOS también se puede usar [43]. El LOS puede no tener una cadena α .

20 El LOS puede comprender GlcNAc-Hep₂fosfoetanolamina-KDO₂-Lípido A [44].

Componentes Mezclados de Men-B

La invención puede usar vesículas, polipéptidos purificados o LOS como el antígeno de Men-B. También puede

25 usar combinaciones de estos tres antígenos, por ejemplo, (i)

vesículas + polipéptidos purificados; (ii) vesículas + LOS; (iii) polipéptidos purificados + LOS; o (iv) vesículas + polipéptidos purificados + LOS. Se pueden hacer estas combinaciones al preparar los componentes individuales de manera separada y luego al mezclarlos. Por ejemplo, la referencia 45 describe la adición de proteínas purificadas a vesículas para proporcionar una composición con eficiencia más amplia.

Serogrupos A, C, W135 e Y

Se han aprobado vacunas monovalentes conjugadas contra el serogrupo C par el uso en humanos, e incluyen MENJUGATE^{MR}, MENINGITEC^{MR} y NEISVAC-C^{MR}. Las mezclas de conjugados de los serogrupos A+C se conocen [46,47] y se han reportado [48-51] mezclas de conjugados de los serogrupos A+C+W135+Y, y se aprobaron en 2005 como el producto acuoso MENACTRA^{MR}.

El componente liofilizado usado con la invención puede incluir uno o más conjugados de sacáridos capsulares de 1, 2, 3 ó 4 de los serogrupos A, C, W135 e Y meningocócicos, por ejemplo, A+C, A+W135, A+Y, C+W135, C+Y, W135+Y, A+C+W135, A+C+Y, A+W135+Y, A+C+W135+Y, etc. Se prefieren los componentes que incluyen sacáridos de los cuatro serogrupos A, C, W135 e Y.

El sacárido capsular del serogrupo A de meningococo es un homopolímero de ($\alpha 1 \rightarrow 6$)-enlazado-N-acetil-D-mannosamina-

1-fosfato, con O-acetilación parcial en las posiciones C3 y C4. La acetilación en la posición C-3 puede ser de 70-95 %. Las condiciones usadas para purificar el sacárido pueden dar por resultado la des-O-acetilación (por ejemplo, bajo
5 condiciones básicas), pero es útil para retener OAc en esta posición C-3. En algunas modalidades, al menos 50 % (por ejemplo, al menos 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 % o más) de los residuos de mannosamina en un sacárido del serogrupo A están O-acetiladas en la posición C-3. Se pueden reemplazar los
10 grupos acetilo con grupos bloqueadores para impedir la hidrólisis [52], y estos sacáridos modificados aún son sacáridos del serogrupo A dentro del significado de la invención.

El sacárido capsular del serogrupo C es un
15 homopolímero de ácido siálico (α 2 $\rightarrow$ 9)-enlazado (ácido N-acetil-neuramínico, o "NeuNAc"). La estructura del sacárido se escribe como $\rightarrow$ 9)-Neu p NAc 7/8 OAc-(α 2 $\rightarrow$. La mayoría de las cepas del serogrupo C tienen grupos O-acetilo en C-7 y/o C-8 de los residuos de ácido siálico, pero cerca del 15 % de
20 los aislados clínicos carecen de estos grupos O-acetilo [53,54]. La presencia o ausencia de grupos OAc genera epitopos únicos, y la especificidad de la unión del anticuerpo al sacárido puede afectar su actividad bactericida contra las cepas O-acetiladas (OAc+) y des-O-acetiladas (OAc-) [55-57].
25 Los sacáridos del serogrupo C usados con la invención se

pueden preparar de ya sea las cepas OAc+ u OAc-. Las vacunas licenciadas del conjugado de Men-C incluyen sacáridos tanto OAc- (NEISVAC-C^{MR}) y OAc+ (MENJUGATE^{MR} y MENINGITEC^{MR}). En algunas modalidades, las cepas para la producción de los

5 conjugados del serogrupo C son cepas OAc+, por ejemplo, del serotipo 16, serosubtipo Pl.7a,1, etc. De esta manera, se pueden usar las cepas C:16:Pl.7a,1 OAc+. También son útiles las cepas OAc+ en el serosubtipo Pl.1, tal como la cepa C11.

El sacárido del serogrupo W135 es un polímero de

10 unidades disacáridas de ácido siálico-galactosa. Al igual que el sacárido del serogrupo C, tiene O-acetilación variable, pero en las posiciones 7 y 9 del ácido siálico [58]. La estructura se escribe como: $\rightarrow 4)-D\text{-Neup}5\text{Ac}(7/9\text{OAc})-\alpha-(2\rightarrow 6)-D\text{-Gal}-\alpha-(1\rightarrow$.

15 El sacárido del serogrupo Y es similar al sacárido del serogrupo W135, excepto que las unidades repetitivas del disacárido incluyen glucosa en lugar de galactosa. Al igual que el serogrupo W135, tiene O-acetilación variable en las posiciones 7 y 9 de ácido siálico [58]. La estructura del

20 serogrupo Y se escribe como: $\rightarrow 4)-D\text{-Neup}5\text{Ac}(7/9\text{OAc})-\alpha-(2\rightarrow 6)-D\text{-Glc}-\alpha-(1\rightarrow$.

Los sacáridos usados de acuerdo a la invención pueden estar O-acetilados como se describe anteriormente (por ejemplo, con el mismo patrón de O-acetilación como se ve en los

25 sacáridos capsulares nativos), o pueden estar parcial o

totalmente des-O-acetilados en una o más posiciones de los anillos de sacárido, o pueden estar híper-O-acetilados con relación a los sacáridos capsulares nativos.

Las porciones de sacárido en los conjugados pueden
5 comprender sacáridos de longitud completa como se prepara de meningococos, y/o pueden comprender fragmentos de sacáridos de longitud completa, es decir, los sacáridos pueden ser más cortos que los sacáridos capsulares nativos vistos en las bacterias. Los sacáridos de esta manera se pueden
10 despolimerizar, con la despolimerización que se presenta durante o después de la purificación del sacárido pero antes de la conjugación. La despolimerización reduce la longitud de cadena de los sacáridos. Un método de despolimerización comprende el uso de peróxido de hidrógeno [48]. Se adiciona
15 peróxido de hidrógeno a un sacárido (por ejemplo, a una concentración final de H_2O_2 de 1 %), y entonces se incuba la mezcla (por ejemplo, a aproximadamente 55°C) hasta que se ha logrado una reducción deseada de longitud de cadena. Otro método de despolimerización comprende hidrólisis ácida [49].
20 En la técnica se conocen otros métodos de despolimerización. Los sacáridos usados para preparar conjugados para el uso de acuerdo a la invención se pueden obtener por cualquiera de estos métodos de despolimerización. Se puede usar despolimerización a fin de proporcionar una longitud óptima de
25 cadena para inmunogenicidad y/o para reducir la longitud de

cadena para manejabilidad física de los sacáridos. En algunas modalidades, los sacáridos tienen el siguiente intervalo de grados promedio de polimerización (Dp): A=10-20; C=12-22; W135=15-25; Y=15-25. En términos de peso molecular, en lugar
5 de Dp, los intervalos útiles son, para todos los serogrupos: <100kDa; 5kDa-75kDa; 7kDa-50kDa; 8kDa-35kDa; 12kDa-25kDa; 15kDa-22kDa.

En algunas modalidades, el peso molecular promedio para los sacáridos de cada uno de los serogrupos
10 meningocócicos A, C, W135 e Y puede ser más de 50kDa, por ejemplo, $\geq 75\text{kDa}$, $\geq 100\text{kDa}$, $\geq 110\text{kDa}$, $\geq 120\text{kDa}$, $\geq 130\text{kDa}$, etc. [59], y aún hasta 1500kDa, en particular como se determina por MALLS. Por ejemplo, un sacárido de Men-A puede estar en el intervalo de 50-500kDa, por ejemplo, 60-80kDa; un sacárido de
15 Men-C puede estar en el intervalo de 100-210kDa; un sacárido de Men-W135 puede estar en el intervalo de 60-190kDa, por ejemplo, 120-140kDa; y/o un sacárido de Men-Y puede estar en el intervalo de 60-190kDa, por ejemplo, 150-160kDa.

La masa del sacárido meningocócico por serogrupo en
20 la vacuna reconstituida usualmente estará entre 1 μg y 20 μg , por ejemplo, entre 2 y 10 μg por serogrupo, o aproximadamente 4 μg o aproximadamente 5 μg o aproximadamente 10 μg . Donde se incluyen conjugados de más de un serogrupo, pueden estar presentes a masas sustancialmente iguales, por ejemplo, la
25 masa del sacárido de cada serogrupo está dentro de +10 % uno

del otro. Como una alternativa a una relación igual, se puede usar una doble masa del sacárido del serogrupo A. De esta manera, una vacuna puede incluir el sacárido Men-A a 10 µg y los sacáridos de Men-C, -W135 y -Y a 5µg cada uno.

5 Las proteínas portadoras preferidas son toxinas bacterianas, tal como toxinas de difteria o tétano, o toxoides o mutantes de los mismos. Estas se usan comúnmente en vacunas conjugadas. El mutante de toxina de difteria CRM₁₉₇ es particularmente preferido [60]. Otras proteínas portadoras
10 adecuadas incluyen el complejo de proteína de membrana exterior de *N.meningitidis* [61], péptidos sintéticos [62,63], proteínas de choque térmico [64,65], proteínas de pertussis [66,67], citocinas [68], linfocinas [68], hormonas [68], factores de crecimiento [68], proteínas artificiales que
15 comprenden múltiples epitopos de células T CDR+ humanas de varios antígenos derivados de patógenos [69] tal como N19 [70], proteína D de *H.influenzae* [71-73], pneumolisina [74] o sus derivados no tóxicos [75], proteína PspA de superficie pneumocócica [76], proteínas de captación de hierro [77],
20 toxina A o B de *C.difficile* [78], exoproteína A de *Pseudomonas aeruginosa* recombinante (rEPA) [79], etc. Una proteína portadora única puede portar sacáridos de múltiples serogrupos diferentes [80], pero este arreglo no se prefiere. Donde el componente liofilizado incluya conjugados de más de un
25 serogrupo meningocócico entonces los varios conjugados pueden

usar diferentes proteínas portadoras (por ejemplo, un serogrupo en CRM197, otro en el toxoide de tétanos) o pueden usar la misma proteína portadora (por ejemplo, sacáridos de dos serogrupos conjugados separadamente en CRM197 y luego
5 combinados).

Se pueden usar conjugados con una relación de sacárido:proteína (p/p) de entre 1:5 (es decir, proteína en exceso) y 5:1 (es decir, sacárido en exceso), por ejemplo, relaciones entre 1:2 y 5:1 y relaciones entre 1:1.25 y 1:2.5.
10 Como se describe en la referencia 81, diferentes conjugados de serogrupos meningocócicos en una mezcla pueden tener diferentes relaciones de sacárido:proteína, por ejemplo, uno puede tener una relación de entre 1:2 y 1:5, en tanto que otro tiene una relación entre 5:1 y 1:1.99.

15 Son útiles los sacáridos y conjugados que tienen las características descritas en la referencia 82.

La molécula portadora se puede conjugar covalentemente al sacárido meningocócico directamente o mediante un ligador. Se conocen varios ligadores, por
20 ejemplo, un ligador de ácido adípico, que se puede formar al acoplar un grupo $-NH_2$ libre (por ejemplo, introducido a un sacárido por aminación) con ácido adípico usando, por ejemplo, activación con diimida), y luego al acoplar una proteína al compuesto intermedio resultante de sacárido-ácido adípico [83,
25 84]. Otro tipo preferido de enlace es un ligador de

carbonilo, que se puede formar por la reacción de un grupo hidroxilo libre de un sacárido con CDI [85, 86] seguido por la reacción con una proteína para formar un enlace de carbamato. Otros ligadores incluyen β -propionamido [87], nitrofenil-etilamina [88], haluros de haloacilo [89], enlaces glicosídicos [90], ácido 6-aminocaproico [91], N-succinimidil-3-(2-piridilditio)-propionato (SPDP) [92], dihidrazida de ácido adípico ADH [93], porciones de 4 a 12 átomos de carbono [94], etc. También se puede usar condensación con carbodiimida [95].

Como se describe en la referencia 96, una mezcla puede incluir un conjugado con un enlace directo de sacárido/proteína y otro conjugado con enlace mediante un ligador. Este arreglo aplica particularmente cuando se usan conjugados de sacárido de diferentes serogrupos meningocócicos, por ejemplo, los sacáridos de Men-A y Men-C se pueden conjugar mediante un ligador, en tanto que los sacáridos de Men-W135 y Men-Y se pueden conjugar directamente a una proteína portadora.

Donde una composición incluye uno o más de los conjugados de Men-A, -C, -W y/o -Y, en algunas modalidades, pueden incluir ventajosamente también un conjugado de Hib (ver más adelante). Donde una composición incluye un sacárido de más de un serogrupo meningocócico, hay una masa promedio de sacárido por serogrupo. Si se usan masas sustancialmente

iguales de cada serogrupo entonces la masa promedio será la misma como cada masa individual; donde se usan masas no iguales entonces el promedio será diferente, por ejemplo, con una cantidad de 10:5:5:5 µg para una mezcla de Men-ACWY, la masa promedio es 6.25µg por serogrupo. Si también se incluye un sacárido de Hib, entonces, en algunas modalidades, la masa será sustancialmente la misma como la masa promedio del sacárido meningocócico por serogrupo. En algunas modalidades, la masa del sacárido de Hib será más que (por ejemplo, al menos 1.5x), la masa promedio del sacárido meningocócico por serogrupo. En algunas modalidades, la masa del sacárido de Hib será menos que (por ejemplo, al menos 1.5x) la masa promedio del sacárido meningocócico por serogrupo [97].

El Adyuvante de Emulsión de Aceite en Agua

Se conocen varios adyuvantes de emulsión de aceite en agua, y típicamente incluyen al menos un aceite y al menos un agente tensioactivo, con los aceites y agentes tensioactivos que son biodegradables (metabolisables) y biocompatibles. Las gotas de aceite en la emulsión en general son de menos de 5µm de diámetro, y pueden tener aún un diámetro de sub-micras, con estos pequeños tamaños que se logran con un microfluidizador para proporcionar emulsiones estables. Las gotas con un tamaño de menos de 220 nm se prefieren puesto que se pueden someter a esterilización por filtro.

La invención se puede usar con aceites tal como aquellos de una fuente animal (tal como pescado) o vegetal. Las fuentes para aceites vegetales incluyen nueces, semillas y granos. Aceite de cacahuate, aceite de soya, aceite de coco y
5 aceite de oliva, los más comúnmente disponibles, ejemplifican los aceites de nueces. Se puede usar aceite de jojoba, por ejemplo, obtenido de la semilla de jojoba. Los aceites de semillas incluyen aceite de cártamo, aceite de algodón, aceite de girasol, aceite de ajonjolí y similares. En el grupo de
10 los granos, el aceite de maíz es el más fácilmente disponible, pero también se puede usar el aceite de otros cereales tal como trigo, avena, arroz, centeno, de teff, de triticale y similares. Se pueden preparar ésteres de ácidos grasos de 6-10 átomos de carbono de glicerol y 1,2-propanodiol, en tanto
15 que no se presente de manera natural en los aceites de semilla, mediante hidrólisis, separación y esterificación de los materiales apropiados iniciando de los aceites de nueces y semillas. Las grasas y aceites de leche mamífera son metabolizables y por lo tanto se pueden usar en la práctica de
20 esta invención. Los procedimientos para separación, purificación, saponificación y otros medios necesarios para obtener aceites puros de fuentes animales son bien conocidos en la técnica. La mayoría de los pescados contienen aceites metabolizables que se pueden recuperar fácilmente. Por
25 ejemplo, el aceite de hígado de bacalao, los aceites de hígado

de tiburón, y el aceite de ballena tal como de esperma, ejemplifican varios de los aceites de pescado que se pueden usar en la presente. Varios aceites de cadena ramificada se sintetizan bioquímicamente en unidades de isopreno de 5 átomos de carbono y en general se refieren como terpenoides. Los aceites de hígado de tiburón contienen terpenoides insaturados, ramificados conocidos como escualeno, 2,6,10,15,19,23-hexametil-2,6,10,14,18,22-tetracosahexaeno, que es particularmente preferido en la presente. El escualeno, el análogo saturado a escualeno, también es un aceite preferido. Los aceites de pescado, incluyendo escualeno y escualano, se obtienen fácilmente de fuentes comerciales o se pueden obtener por métodos conocidos en la técnica. Otros aceites preferidos son los tocoferoles. Se pueden usar mezclas de aceites.

Donde una composición incluye un tocoferol, se puede usar cualquiera de los tocoferoles α , β , γ , δ , ϵ o ξ , pero se prefieren los α -tocóferoles. El tocoferol puede tomar varias formas, por ejemplo, diferentes sales y/o isómeros. Las sales incluyen sales orgánicas, tal como succinato, acetato, nicotinato, etc. Se pueden usar tanto D- α -tocóferol como DL- α -tocóferol. Un α -tocóferol preferido es DL- α -tocóferol, y la sal preferida de este tocoferol es el succinato.

Se pueden clasificar los agentes tensioactivos por su "HLB" (equilibrio hidrófilo/lipófilo). Los agentes

tensioactivos preferidos de la invención tienen un HLB de al menos 10, preferentemente al menos 15, y de manera más preferente al menos 16. La invención se puede usar con agentes tensioactivos que incluyen, pero no se limitan a: los
5 agentes tensioactivos de ésteres de polioxietilen-sorbitan (referidos comúnmente como Tweens), especialmente polisorbato 20 y polisorbato 80); copolímeros de óxido de etileno (EO), óxido de propileno (PO), y/o óxido de butileno (BO), vendidos bajo el nombre comercial DOWFAX^{MR}, tal como los copolímeros de
10 bloque de EO/PO; octoxinoles, que pueden variar en el número de grupos repetitivos de etoxi (oxi-1,2-etanodiilo), con octoxinol-9 (Triton X-100, o t-octilfenoxipoli-etoxietanol) que son de interés particular; (octilfenoxi)polietoxietanol (IGEPAL CA-630/NP-40; fosfolípidos tal como fosfatidilcolina
15 (lecitina); ésteres grasos de polioxietileno derivados de alcoholes laurílico, cetílico, estearílico y oleílico (conocidos como agentes tensioactivos Brij), tal como trietilenglicol-monolauril-éter (Brij 30); y ésteres de sorbitan (comúnmente conocidos como los SPAN), tal como
20 trioleato de sorbitan (Span 85) y monolaurato de sorbitan. Los agentes tensioactivos preferidos para inclusión en la emulsión son Tween 80 (monooleato de polioxietilen-sorbitan), Span 85 (trioleato de sorbitan), lecitina y Triton X-100.

Se pueden usar mezclas de agentes tensioactivos, por
25 ejemplo, Tween 80/Span 85. También es adecuada una

combinación de un éster de polioxietilen-sorbitan tal como monooleato de polioxietilen-sorbitan (Tween 80) y un octoxinol tal como t-octilfenoxipolietoxietanol (Triton X-100). Otra combinación útil comprende laureth-9 más un éster de polioxietilen-sorbitan y/o un octoxinol.

Las cantidades preferidas de los agentes tensioactivos (% en peso) son: ésteres de polioxietilen-sorbitan (tal como Tween 80) de 0.01 a 1 %, en particular aproximadamente 0.1 %; octil- o nonilfenoxi-polioxietanoles (tal como Triton X-100, u otros detergentes en la serie Triton) de 0.001 a 0.1 %, en particular de 0.005 a 0.02 %; éteres de polioxietileno (tal como laureth 9) de 0.1 a 20 %, preferentemente de 0.1 a 10 % y en particular de 0.1 a 1 % o aproximadamente 0.5 %.

Los adyuvantes específicos de emulsión de aceite en agua útiles con la invención incluyen, pero no se limitan a:

- Una emulsión en sub-micrones de escualeno, Tween 80, y Span 85. La composición de la emulsión en volumen puede ser aproximadamente 5 % de escualeno, aproximadamente 0.5 % de polisorbato 80 y aproximadamente 0.5 % de Span 85. En términos de peso, estas relaciones llegarán a ser 4.3 % de escualeno, 0.5 % de polisorbato 80 y 0.48 % de Span 85. Este adyuvante se conoce como "MF59" [98-100], como se describe en más detalle en el Capítulo 10 de la referencia 101 y en el capítulo 12 de la referencia 102. La emulsión MF59 puede

incluir iones de citrato, por ejemplo, amortiguador de citrato de sodio 10 mM.

- Una emulsión de escualeno, un tocoferol, y Tween 80. La emulsión puede incluir solución salina amortiguada con fosfato. También puede incluir Span 85 (por ejemplo, al 1 %) y/o lecitina. Estas emulsiones pueden tener de 2 a 10 % de escualeno, de 2 a 10 % de tocoferol y de 0.3 a 3 % de Tween 80, y la relación en peso de escualeno:tocopherol es preferentemente ≤ 1 puesto que esto proporciona una emulsión más estable. Pueden estar presentes escualeno y Tween 80 a una relación en volumen de aproximadamente 5:2. Esta emulsión se puede producir al disolver Tween 80 en PBS para dar una solución al 2 %, luego mezclar 90 ml de esta solución con una mezcla de (5g de DL- α -tocopherol y 5 ml de escualeno), luego microfluidizar la mezcla. La emulsión resultante puede tener gotas de aceite en sub-micrones, por ejemplo, con un diámetro promedio de entre 100 y 250 nm, preferentemente cerca de 180 nm.

- Una emulsión de escualeno, un tocoferol, y un detergente Triton (por ejemplo, Triton X-100). La emulsión también puede incluir un 3D-MPL. La emulsión puede contener un amortiguador de fosfato.

- Una emulsión que comprende un polisorbato (por ejemplo, polisorbato 80), un detergente Triton (por ejemplo, Triton X-100) y un tocoferol (por ejemplo, un succinato de α -

tocoferol). La emulsión puede incluir estos tres componentes en una relación en masa de aproximadamente 75:11:10 (por ejemplo, 750 µg/ ml de polisorbato 80, 110 µg/ ml de Triton X-100 y 100 µg/ ml de succinato de α-tocoferol), y estas concentraciones deben incluir cualquier contribución de estos componentes de antígenos. La emulsión también puede incluir escualeno. La emulsión también puede incluir un 3d-MPL. La fase acuosa puede contener un amortiguador de fosfato.

- Una emulsión de escualeno, polisorbato 80 y poloxámero 401 ("Pluronic^{MR} L121"). La emulsión se puede formular en solución salina amortiguada con fosfato, pH 7.4. Esta emulsión es un vehículo útil de distribución para dipéptidos de muranilo, y se ha usado con treonil-MDP en el adyuvante "SAF-1" [103] (0.05-1 % de Thr-MDP, 5 % de escualeno, 2.5 % de Pluronic L121 y 0.2 % de polisorbato 80). También se puede usar sin el Thr-MDP, como en el adyuvante "AF" [104] (5 % de escualeno, 1.25 % de Pluronic L121 y 0.2 % de polisorbato 80). Se prefiere la microfluidización.

- Una emulsión que comprende escualeno, un solvente acuoso, un agente tensioactivo no iónico hidrófilo de polioxietilen-alquil-éter (por ejemplo, polioxietileno (12) cetoestearil-éter) y un agente tensioactivo no iónico hidrófobo (por ejemplo, un éster de sorbitan o un éster de mannida, tal como monooleato de sorbitan o "Span 80"). La emulsión es preferentemente termorreversible y/o tiene al

menos 90 % de las gotas de aceite (en volumen) con un tamaño de menos de 200 nm [105]. La emulsión también puede incluir uno o más de: alditol; un agente crioprotector (por ejemplo, una azúcar, tal como dodecilmaltósido y/o sacarosa); y/o un
5 alquilpoliglicósido. Se pueden liofilizar estas emulsiones.

- Una emulsión que tiene de 0.5-50 % de un aceite, 0.1-10 % de un fosfolípido, y 0.05-5 % de un agente tensioactivo no iónico. Como se describe en la referencia 106, los componentes preferidos de fosfolípido son
10 fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina, fosfatidilinositol, fosfatidilglicerol, ácido fosfatídico, esfingomielina y cardiolipina. Son ventajosos los tamaños sub-micrónicos de gotas.

- Una emulsión en sub-micrones de aceite en agua de
15 un aceite no metabolizable (tal como aceite mineral ligero) y al menos un agente tensioactivo (tal como lecitina, Tween 80 o Span 80). Los aditivos pueden incluir, tal como saponina QuilA, colesterol, un conjugado lipófilo a saponina (tal como GPI-0100, descrito en la referencia 107, producido por la
20 adición de amina alifática a desacilsaponina mediante el grupo carboxilo de ácido glucurónico), bromuro de dimetilidioctadecilamonio y/o N,N-dioctadecil-N,N-bis(2-hidroxietil)propanodiamina.

- Una emulsión que comprende un aceite mineral, un
25 alcohol graso etoxilado lipófilo no iónico, y un agente

tensioactivo hidrófilo, no iónico (por ejemplo, un alcohol graso etoxilado y/o copolímero de bloque de polioxietileno-polioxipropileno) [108].

- Una emulsión que comprende un aceite mineral, un alcohol graso etoxilado, hidrófilo, no iónico, y un agente tensioactivo lipófilo, no iónico (por ejemplo, un alcohol graso etoxilado y/o copolímero de bloque de polioxietileno-polioxipropileno) [108].

- Una emulsión en la cual una saponina (por ejemplo, QuilA o QS21) y un esterol (por ejemplo, un colesterol) se asocian como micelas helicoidales [109].

Se pueden usar emulsiones de aceite en agua como adyuvantes o en sí mismos, o como portadores para compuestos inmunoestimuladores adicionales, por ejemplo, oligonucleótidos inmunoestimuladores, 3d-MPL, etc.

El 3dMPL (también conocido como monofosforil-lípido A 3-des-O-acetilado o 3-O-desacil-4'-monofosforil-lípido A) es un adyuvante en el cual se ha desacilado la posición 3 de la glucosamina de extremo reductor en el monofosforil-lípido A. Se ha preparado 3dMPL a partir de un mutante sin heptosa de *Salmonella minnesota*, y es químicamente similar al lípido A pero carece de un grupo fosforil lábil a ácido y un grupo acil labil a base. En la referencia 10 se describe originalmente la preparación de 3dMPL.

Reconstitución y Envasado

Finalmente, los componentes liofilizados de antígeno de la invención se reconstituirán con un componente líquido para dar un material adecuado para la administración a un paciente. La reconstitución tomará lugar típicamente en el punto de uso. De esta manera, un antígeno y un adyuvante de emulsión de aceite en agua, se pueden mantener de manera separada, en un kit de vacuna, envasado o distribuido, listo para formulación final en el momento de uso.

En un kit que contiene dos recipientes, uno incluirá el líquido para reconstitución y el segundo recipiente incluye el material liofilizado. El segundo recipiente usualmente se sellará de manera hermética. El líquido se introducirá usualmente en el segundo recipiente mediante una primera aguja, reconstituyendo de este modo el material liofilizado en una forma líquida. El líquido entonces se retirará, usualmente en una jeringa, para la administración a un paciente. Este paso de retiro puede ser mediante la primera aguja, pero frecuentemente es mediante una segunda aguja. La aguja usada para el retiro puede ser la misma aguja que la que se usa para la inyección del paciente, o puede ser diferente.

El segundo recipiente será típicamente un frasco. Una emulsión de aceite en agua para reconstituir el material liofilizado también puede estar localizada en un frasco pero, como alternativa, puede estar localizada en una jeringa. Un

arreglo adicional tiene el primero y segundo recipientes como cámaras separadas en una jeringa de doble cámara tal que, cuando se acciona, se introduce material líquido desde el primer recipiente al segundo recipiente. Los materiales
5 mezclados y reconstituidos entonces pueden salir de la jeringa en forma líquida. En todos los casos, sin embargo, se mantienen separados los materiales liofilizados y líquidos, hasta que estén listos para el mezclado.

Aunque usualmente se usará una emulsión de aceite en
10 agua en su forma líquida, en algunas modalidades de la invención, es posible usar un adyuvante liofilizado de emulsión de aceite en agua. La liofilización de los adyuvantes de emulsión de esta manera se describe, por ejemplo, en la referencia 105 y 111. Estas emulsiones secas
15 se reconstituirán aún en forma líquida en el momento del uso, por ejemplo, usando un portador acuoso. El adyuvante liofilizado y los componentes liofilizados de antígeno pueden ser componentes separados del kit, pero en algunas modalidades, se pueden mezclar (ya sea antes o después de la
20 liofilización) en la forma liofilizada. De esta manera, en algunas modalidades, la invención proporciona una composición que comprende una mezcla de una emulsión liofilizada de aceite en agua y una composición liofilizada antigénica que comprende un inmunógeno para provocar una respuesta inmunitaria contra
25 el serogrupo B de *Neisseria meningitidis*. Esta composición

liofilizada, mezclada se puede mezclar con un portador acuoso para dar en un paso de reconstitución una composición de Men-B con un adyuvante de emulsión de aceite en agua.

De esta manera, un kit puede comprender, por ejemplo, dos frascos, uno, una jeringa ya rellena y un frasco, etc. Una jeringa incluirá en general una dosis única de la composición, en tanto que un frasco puede incluir una dosis única o múltiples dosis. Para múltiples formas de dosis, por lo tanto, se prefieren frascos a las jeringas pre-rellenas.

También se pueden adicionar materiales líquidos y/o liofilizados adicionales antes de la administración a un paciente.

Un recipiente para un componente liofilizado puede tener una tapa (por ejemplo, un seguro Luer) adaptada tal que se pueda insertar una jeringa pre-rellena en la tapa, los contenidos de la jeringa se puedan expulsar al frasco para reconstituir el material liofilizado, en el mismo, y los contenidos del frasco se puedan remover de regreso a la jeringa. Después de la remoción de la jeringa del frasco, entonces se puede unir una aguja y se puede administrar la vacuna a un paciente. La tapa puede estar localizada dentro de un sello o cubierta, tal que el sello o cubierta se tenga que remover antes de que se pueda tener acceso a la tapa.

Donde un componente se envasa en un frasco, éste se hace preferentemente de un material de vidrio o plástico. El

frasco se esteriliza preferentemente antes de que se adicione al mismo el material. Para evitar problemas con pacientes sensibles al látex, se pueden sellar los frascos con un tapón libre de látex. El frasco puede incluir una dosis única de
5 vacuna, o puede incluir más de una dosis (un frasco de "múltiples dosis"), por ejemplo, 10 dosis. Los frascos preferidos se hacen de vidrio incoloro.

Donde la vacuna se envasa en una jeringa, la jeringa puede tener una aguja unida a la misma, o puede estar libre de
10 aguja. Se puede suministrar una aguja separada con la jeringa para montaje y uso. Se prefieren las agujas de seguridad. Son típicas las agujas de calibre 23 de 2.54 centímetros (1 pulgada), de calibre 25 de 2.54 centímetros (1 pulgada) y de calibre 25 de 1.59 centímetros (5/8 de pulgada). Se pueden
15 proporcionar jeringas con etiquetas desprendibles en las cuales se pueden imprimir el número de lote y la fecha de vencimiento de los contenidos, para facilitar el mantenimiento del registro. El émbolo en la jeringa tiene preferentemente un tapón para impedir que el émbolo se remueva accidentalmente
20 durante la aspiración.

Donde se use un recipiente de vidrio (por ejemplo, una jeringa o un frasco), entonces se prefiere usar un recipiente producido de un vidrio de borosilicato en lugar de un vidrio de sosa y cal.

25 Puesto que las vacunas se administran usualmente a

pacientes en dosis de 0.5 ml, el volumen del líquido en el primer recipiente será adecuado para dar un volumen de dosis después de la reconstitución de al menos 0.5 ml, por ejemplo, 0.6 ml, que da cuenta del volumen de desperdicio.

5 Por razones de estabilidad, el componente liofilizado de la invención puede incluir un estabilizador tal como lactosa, sacarosa y/o manitol, así como mezclas de los mismos, por ejemplo, mezclas de lactosa/sacarosa, mezclas de sacarosa/manitol, etc. El uso de una mezcla de
10 sacarosa/manitol puede acelerar el proceso de secado. Un componente liofilizado también puede incluir cloruro de sodio. Los componentes solubles en el material liofilizado se retendrán en la composición después de la reconstitución, y de este modo las vacunas líquidas finales de esta manera pueden
15 contener lactosa y/o sacarosa.

 Una composición puede incluir un agente protector de temperatura, como se describe en la referencia 112. Los ejemplos incluyen glicerina, propilenglicol, y/o polietilenglicol (PEG). Los PEG adecuados pueden tener un
20 peso molecular promedio que varía desde 200-20,000 Da. En una modalidad preferida, el polietilenglicol puede tener un peso molecular promedio de aproximadamente 300 Da ("PEG-300").

Composiciones Farmacéuticas

 Los materiales de la invención se usarán finalmente
25 para preparar composiciones farmacéuticas para la

administración a un paciente. Estos incluirán típicamente un portador farmacéuticamente aceptable. En la referencia 113 está disponible un análisis completo de los portadores farmacéuticamente aceptables.

5 Se pueden establecer por rutina los volúmenes efectivos de dosis, pero típicamente una dosis humana típica de la composición tiene un volumen de aproximadamente 0.5 ml, por ejemplo, para inyección intramuscular. La vacuna basada en OMV de RIVM se administró en un volumen de 0.5 ml [114] por
10 inyección intramuscular al brazo tenso o superior. Se administra MeNZB^{MR} en una inyección intramuscular de 0.5 ml a la región tensa anterolateral o deltoide del brazo. Se pueden usar dosis similares para otras rutas de distribución, por ejemplo, una vacuna intranasal basada en OMV para atomización
15 puede tener un volumen de aproximadamente 100 µl o aproximadamente 130 µl por aspersion, con cuatro aspersiones administradas para dar una dosis total de aproximadamente 0.5 ml.

 El pH de una composición después de la
20 reconstitución está preferentemente entre 6 y 8, y de manera más preferente entre 6.5 y 7.5 (por ejemplo, cerca de 7). El pH de la vacuna basada en OMV de RIVM es de 7.4 [115], y se prefiere un pH <7.5 para las composiciones de la invención. La vacuna basada en OMV de RIVM mantiene el pH al usar un
25 amortiguador de Tris/HCl 10mM, y el pH estable en las

composiciones de la invención se pueden mantener por el uso de un amortiguador, por ejemplo, un amortiguador Tris, un amortiguador de citrato, amortiguador de fosfato, o un amortiguador de histidina. De esta manera, las composiciones
5 de la invención incluirán en general un amortiguador. Los componentes del amortiguador se colocarán en el componente líquido y/o componente liofilizado, como sea apropiado, para dar el arreglo final de post-reconstitución, como se desee.

La composición puede ser estéril y/o estar libre de
10 pirógenos. Las composiciones de la invención pueden ser isotónicas con respecto a los humanos.

Las composiciones de la invención para administración a pacientes son inmunogénicas, y son más preferentemente composiciones de vacuna. Las vacunas de
15 acuerdo a la invención pueden ser ya sea profilácticas (es decir, para prevenir la infección) o terapéuticas (es decir, para tratar la infección), pero típicamente serán profilácticas. Las composiciones inmunogénicas usadas como vacunas comprenden una cantidad inmunológicamente efectiva de
20 antígenos, así como cualquier otro componente, como se necesite. Por "cantidad inmunológicamente efectiva", se quiere decir que la administración de esa cantidad a un individuo, ya sea en una dosis única o como parte de una serie, es efectiva para el tratamiento o prevención. Esta
25 cantidad varía dependiendo de la salud y condición física del

individuo que se trate, de la edad, del grupo taxonómico del individuo que se trate (por ejemplo, primate no humano, primate, etc.), de la capacidad del sistema inmunológico del individuo para sintetizar anticuerpos, del grado deseado de
5 protección, de la formulación de vacuna, de la valoración del doctor tratante de la situación médica, y de otros factores pertinentes. Se espera que la cantidad caerá en un intervalo relativamente amplio que se puede determinar a través de ensayos de rutina. El contenido de antígeno de las
10 composiciones de la invención se expresará en general en términos de la cantidad de proteína por dosis. Una dosis de aproximadamente 0.9 mg de proteína por ml es típica para vacunas intranasales basadas en OMV.

Los meningococos afectan varias áreas del cuerpo y
15 de este modo se pueden preparar las composiciones de la invención en varias formas líquidas. Por ejemplo, las composiciones se pueden preparar como productos inyectables, ya sea como soluciones o suspensiones. La composición se puede preparar para administración pulmonar, por ejemplo, por
20 un inhalador, usando una aspersion fina. La composición se puede preparar para administración nasal, aural u ocular, por ejemplo, como aspersion o gotas. Son típicos los productos inyectables para administración intramuscular.

Las composiciones de la invención pueden incluir un
25 antimicrobiano, particularmente cuando se envasa en un formato

de múltiples dosis. En las vacunas se encuentran comúnmente los antimicrobianos tal como tiomersal y 2-fenoxietanol, pero se prefiere usar ya sea un conservador libre de mercurio o no usar para nada conservador.

5 Un componente liofilizado de la invención y/o un adyuvante co-embasado de emulsión de aceite en agua, pueden estar sustancialmente libres de sales de aluminio. Este arreglo permite que la composición reconstituida de la invención esté sustancialmente libre de sales de aluminio.

10 Las composiciones de la invención pueden comprender detergente, por ejemplo, un Tween (polisorbato), tal como Tween 80. En general están presentes los detergentes a bajos niveles, por ejemplo, <0.01 %.

15 Las composiciones de la invención pueden incluir detergente residual (por ejemplo, desoxicolato) de la preparación de OMV. La cantidad de detergente residual es preferentemente menos de 0.4 µg (más preferentemente menos de 0.2 µg) por cada µg de la proteína de Men-B.

20 Las composiciones de la invención pueden incluir LOS de meningococo. La cantidad de LOS es preferentemente menos de 0.12 µg (más preferentemente menos de 0.05 µg) por cada µg de la proteína.

25 Las composiciones de la invención pueden incluir sales de sodio (por ejemplo, cloruro de sodio) para dar tonicidad. Una concentración de 10±2 mg/ml de NaCl es típica,

por ejemplo cerca de 9 mg/ml.

Métodos de Tratamiento

La invención también proporciona un método para provocar una respuesta inmunitaria en un mamífero, que
5 comprende administrar una composición farmacéutica líquida de la invención al mamífero. La respuesta inmunitaria es preferentemente protectora y preferentemente comprende anticuerpos. El método puede provocar una respuesta de refuerzo en un paciente que se ha cebado ya contra
10 *N.meningitidis*. En la referencia 116 se describen regímenes de cebadura/refuerzo, subcutáneos e intranasales para los OMV.

El mamífero es preferentemente un humano. Cuando la vacuna es para uso profiláctico, el humano es preferentemente un niño (por ejemplo, un niño que empieza a andar o un
15 infante) o un adolescente; donde la vacuna es para uso terapéutico, el humano es preferentemente un adulto. También se puede administrar una vacuna propuesta para niños a los adultos, por ejemplo, para valorar la seguridad, dosis, inmunogenicidad, etc.

20 La invención también proporciona composiciones y mezclas de la invención para el uso como un medicamento. El medicamento es preferentemente capaz de provocar una respuesta inmunitaria en un mamífero (es decir, es una composición inmunogénica) y es más preferentemente una vacuna.

25 La invención también proporciona el uso de

composiciones y mezclas de la invención en la elaboración de un medicamento para provocar una respuesta inmunitaria en un mamífero. La invención también proporciona el uso de (i) un adyuvante que comprende una emulsión de aceite en agua; y (ii) una composición antigénica liofilizada que comprende un inmunógeno para provocar una respuesta inmunitaria contra el serogrupo B de *N.meningitidis*, en la elaboración de un medicamento para provocar una respuesta inmunitaria en un mamífero. El uso también puede comprender (iii) un sacárido capsular conjugado de uno o más de los serogrupos A, C, W135 y/o Y de *N.meningitidis*.

Estos usos y métodos son preferentemente para la prevención y/o tratamiento de una enfermedad provocada por *N.meningitidis*, por ejemplo, meningitis bacteriana (o, más específicamente, meningocócica), o septicemia.

Una manera de verificar la eficiencia del tratamiento terapéutico comprende monitorizar la infección Neisserial después de la administración de la composición de la invención. Una manera de verificar la eficiencia del tratamiento profiláctico comprende monitorizar las respuestas inmunitarias contra antígenos después de la administración de la composición. La inmunogenicidad de las composiciones de la invención se puede determinar al administrarles a sujetos de prueba (por ejemplo, niños de 12-16 meses de edad, o modelos de animales [117]) y luego al determinar los parámetros

normales incluyendo anticuerpos bacterias serosos (SBA) y títulos de ELISA (GMT). Estas respuestas inmunitarias se determinarán en general alrededor de 4 semanas después de la administración de la composición, y se compararán a los valores determinados antes de la administración de la composición. Un incremento de SBA de al menos 4 veces u 8 veces se prefiere. Cuando se administra más de una dosis de la composición, se puede hacer más de una determinación después de la administración.

10 En general, las composiciones de la invención son capaces de inducir respuestas serosas de anticuerpos bactericidas después que se administran a un sujeto. Estas respuestas se miden convenientemente en ratones y son un indicador normal de la eficiencia de la vacuna. La actividad bactericida serosa (SBA) mide la aniquilación bacteriana mediada por el complemento, y se puede valorar usando complemento de humano o conejo neonatal. Las normas de la WHO 15 requieren que una vacuna induzca al menos un aumento de 4 veces en la SBA en más del 90 % de los receptores. MeNZB^{MR} produce un aumento de 4 veces en la SBA 4-6 semanas después de 20 la administración de la tercera dosis.

Las composiciones preferidas pueden conferir un título de anticuerpos en un paciente humano que es superior al criterio de seroprotección para un porcentaje aceptable de 25 sujetos. Los antígenos con un título asociado de anticuerpo

por arriba del cual se considera un hospedador como seroconvertido contra el antígeno, son bien conocidos, y estos títulos se publican por organizaciones tal como WHO. De manera preferente, más del 80 % de una muestra estadísticamente significativa de sujetos se seroconvierte, de manera más preferente más del 90 %, de manera más preferente más del 93 % y de manera más preferente 96-100 %.

Las composiciones de la invención se administrarán en general de manera directa a un paciente. Se puede lograr la distribución directa por inyección parenteral (por ejemplo, de manera subcutánea, intraperitonealmente, de manera intravenosa, intramuscularmente, o al espacio intersticial de un tejido) o por cualquier otra ruta adecuada. La invención se puede usar para producir inmunidad sistémica y/o mucosa. Se prefiere la administración intramuscular al brazo tensado o superior. La inyección puede ser mediante una aguja (por ejemplo, aguja hipodérmica), pero se usa de manera alternativa inyección libre de aguja. Una dosis intramuscular típica es de 0.5 ml.

El tratamiento de dosis puede ser un programa de dosis única o un programa de múltiples dosis. Se pueden usar múltiples dosis en un esquema de inmunización primaria y/o en un esquema de inmunización de refuerzo. Se puede seguir un programa de dosis primaria por un programa de dosis de refuerzo. La sincronización adecuada entre las dosis de

cebadura (por ejemplo, entre 4-16 semanas), y entre la
cebadura y el refuerzo, se pueden determinar por rutina. La
vacuna de RIVM basada en OMV se probó usando un programa
primario de 3 ó 4 dosis, con vacunación a los 0, 2 y 8 ó 1, 2
5 y 8 meses. Se administra MeNZB^{MR} como tres dosis a intervalos
de seis semanas.

Las composiciones de la invención se pueden usar
para inducir respuestas de anticuerpos bactericidas contra un
linaje más que hipervirulento de meningococo. En particular,
10 pueden inducir preferentemente respuestas bactericidas contra
dos o tres de los siguientes tres linajes hipervirulentos: (i)
agrupación de A4; (ii) complejo de ET5; y (iii) linaje 3.
Pueden inducir adicionalmente respuestas de anticuerpos
bactericidas contra uno o más de los linajes hipervirulentos
15 subgrupo I, subgrupo III, subgrupo IV-1 o complejo ET-37, y
contra otros linajes, por ejemplo, linajes hiperinvasivos.
Esto no significa necesariamente que la composición pueda
inducir anticuerpos bactericidas contra cada una de las cepas
de meningococo dentro de estos linajes hipervirulentos, sino
20 más bien para cualquier grupo dado de cuatro o más cepas de
meningococo dentro de un linaje hipervirulento particular, los
anticuerpos inducidos por la composición son bactericidas
contra al menos 50 % (por ejemplo, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o
más) del grupo. Los grupos preferidos de cepas incluirán
25 cepas aisladas en al menos cuatro de los siguientes países:

GB, AU, CA, NO, IT, US, NZ, NL, BR, y CU. El suero tiene preferentemente un título bactericida de al menos 1024 (por ejemplo, 2^{10} , 2^{11} , 2^{12} , 2^{13} , 2^{14} , 2^{15} , 2^{16} , 2^{17} , 2^{18} o mayor, preferentemente 2^{14}), por ejemplo, el suero es capaz de
 5 aniquilar al menos 50 % de las bacterias de prueba de una cepa particular cuando se diluye 1/1024.

Las composiciones útiles pueden inducir respuestas bactericidas contra las siguientes cepas de meningococo de serogrupo B: (i) de la agrupación A4, cepa 961-5945
 10 (B:2b:P1.21,16) y/o cepa G2136 (B:-); (ii) del complejo ET-5, cepa MC58 (B:15:P1.7,16b) y/o cepa 44/76 (B:15:P1.7,16); (iii) del linaje 3, cepa 394/98 (B:4:P1.4) y/o cepa BZ198 (B:NT:-). Las composiciones más preferidas pueden inducir respuestas bactericidas contra las cepas 961-5945, 44/76 y 394/98.

15 Las cepas 961-5945 y G2136 son ambas de las cepas de referencia de MLST de *Neisseria* [ids 638 y 1002 en la referencia 118]. La cepa MC58 está ampliamente disponible (por ejemplo, ATCC BAA-335) y fue la cepa secuenciada en la referencia 119. Se ha usado ampliamente y se caracterizado la
 20 cepa 44/76 (por ejemplo, referencia 120) y es una de las cepas de referencia de MLST de *Neisseria* [id 237 en referencia 118; fila 32 de la Tabla 2 en referencia 19]. La cepa 394/98 se aisló originalmente en Nueva Zelanda en 1998, y se han publicado varios estudios que usan esta cepa (por ejemplo,
 25 referencia 121 y 122). La cepa BZ198 es otra cepa de

referencia de MLST (id 409 en referencia 118; fila 41 de Tabla 2 en referencia 19).

Composiciones Adicionales de la Invención

La invención proporciona una composición antigénica
5 liofilizada que comprende un inmunógeno para provocar una
respuesta inmunitaria contra el serogrupo B de *N.meningitidis*,
en donde el inmunógeno comprende vesículas de membrana
exterior de Men-B como se describe anteriormente, con la
condición que la composición no incluya vesículas de ninguna
10 de las cepas: F91; JB10124; o HP10124.

La invención proporciona una composición antigénica,
liofilizada que comprende un inmunógeno para provocar una
respuesta inmunitaria contra el serogrupo B de *N.meningitidis*,
en donde el inmunógeno comprende vesículas de membrana
15 exterior de Men-B como se describe anteriormente, en donde las
vesículas son de una cepa con un inmunotipo L2 o L3. La
composición puede incluir vesículas tanto de la cepa L2 como
L3.

La invención proporciona una composición antigénica
20 liofilizada que comprende un inmunógeno para provocar una
respuesta inmunitaria contra el serogrupo B de *N.meningitidis*,
en donde el inmunógeno comprende vesículas de membrana
exterior de Men-B como se describe anteriormente, en donde las
vesículas incluyen LOS que no incluye un epitopo de sialil-
25 lacto-N-notetraosa.

La invención proporciona una composición antigénica liofilizada que comprende un inmunógeno para provocar una respuesta inmunitaria contra el serogrupo B de *N.meningitidis*, en donde el inmunógeno comprende una proteína fHBP purificada.

5 La composición puede incluir más de una variante de fHBP, como se describe anteriormente.

Estas composiciones liofilizadas son adecuadas para la reconstitución por un adyuvante que comprende una emulsión de aceite en agua, de esta manera son adecuadas para el uso
10 como componentes de kit de la invención o para el uso en los métodos de la invención, etc. Puesto que se pueden vender o distribuir sin adyuvantes de emulsión, sin embargo, son modalidades independientes de la invención. Sin embargo, se pueden envasar en forma de kit en combinación con otro
15 recipiente que comprende un adyuvante líquido. Este adyuvante líquido comprende de manera preferente una emulsión de aceite en agua.

La invención también proporciona una composición antigénica con adyuvante que comprende vesículas de membrana
20 del serogrupo B de *N.meningitidis* y una emulsión en sub-micras de aceite en agua. La emulsión comprende de manera preferente escualeno y/o polisorbato 80. Las gotas de aceite de la emulsión son idealmente de un diámetro <500 nm. Las vesículas pueden sobreexpresar una o más proteínas como se analiza
25 anteriormente, y/o pueden incluir una o más de las mutaciones

de supresión como se analiza anteriormente, por ejemplo, LgtB y/o GalE reducidos en expresión o suprimidos para truncar LOS, TbpA favorecido en expresión, etc. Se puede usar una conjugación "intra-ampolla". Esta composición con adyuvante se puede preparar al mezclar antígenos liofilizados con una emulsión, como se describe anteriormente, o en contraste se puede preparar al usar preparación acuosa de vesículas.

Componentes Antigénicos Adicionales

Así como contienen antígenos de *N.meningitidis*, las composiciones pueden incluir antígenos de patógenos adicionales. Por ejemplo, la composición puede comprender uno o más de los siguientes antígenos adicionales:

- un antígeno de *Streptococcus pneumoniae*, tal como un sacárido (típicamente conjugado)
- un antígeno de virus de hepatitis B, tal como el antígeno superficial HBsAg,
- un antígeno de *Bordetella pertussis*, tal como holotoxina de pertussis (PT) y hemaglutinina filamentosa (FHA) de *B.pertussis*, opcionalmente también en combinación con pertactina y/o aglutinógenos 2 y 3,
- un antígeno de difteria, tal como toxoide de difteria,
- un antígeno de tétanos, tal como toxoide de tétanos,
- un antígeno de sacárido de *Haemophilus influenzae*

B (Hib), típicamente conjugado,

- antígenos inactivados de poliovirus.

Estos antígenos adicionales se pueden incluir en forma líquida en el mismo recipiente como la emulsión de
5 aceite en agua, en forma liofilizada en el mismo recipiente como el antígeno liofilizado de Men-B, o en un tercer recipiente (ya sea en forma liofilizada, o usualmente en forma líquida).

Donde se incluye un antígeno de difteria en la
10 composición, se prefiere también incluir el antígeno de tétanos y el antígeno de pertussis. De manera similar, donde se incluye un antígeno de tétanos, se prefiere también incluir antígenos de difteria y pertussis. De manera similar, donde se incluye un antígeno de pertussis también se prefiere
15 incluir antígenos de difteria y tétanos. De esta manera se prefieren combinaciones de DTP.

Si se incluye un sacárido de Hib (típicamente como un conjugado), la porción de sacárido puede ser un polisacárido (por ejemplo, polirribosilrribitol-fosfato (PRP)
20 de longitud completa como se purifica de bacterias), pero también es posible fragmentar el sacárido purificado para producir oligosacáridos (por ejemplo con un peso molecular de ~1 a ~5 kDa), por ejemplo por hidrólisis. La concentración del conjugado de Hib en una vacuna reconstituida usualmente
25 estará en el intervalo de 0.5 µg a 50 µg, por ejemplo de 1-20

µg, de 10-15 µg, de 12-16 µg, etc. La cantidad puede ser aproximadamente 15 g, o aproximadamente 12.5 µg en algunas modalidades. Una masa de menos de 5 µg puede ser adecuada [123], por ejemplo, en el intervalo de 1-5 µg, 2-4 µg, o 5 aproximadamente 2.5 µg. Como se describe anteriormente, en combinaciones que incluyen sacárido de Hib y sacáridos meningocócicos, la dosis de lo anterior se pueden seleccionar en base a la dosis del último (en particular, con múltiples serogrupos meningocócicos, su masa promedio). Las 10 características adicionales de los conjugados de Hib son como se describen anteriormente para conjugados meningocócicos, incluyendo la elección de la proteína portador (por ejemplo, CRM197 o toxoide de tétanos), enlaces, relaciones, etc.

Si se incluye un antígeno de *S.pneumoniae*, éste 15 puede ser un polipéptido o un sacárido. Los sacáridos capsulares conjugados son particularmente útiles para inmunizar contra pneumococo. El sacárido puede ser un polisacárido que tiene el tamaño que aumenta con la purificación del sacárido de la bacteria, o puede ser un 20 oligosacárido logrado por fragmentación de este polisacárido. En el producto 7-valente PREVNAR^{MR}, por ejemplo, se presentan 6 de los sacáridos como polisacáridos intactos en tanto que uno (el serotipo 18C) se presenta como un oligosacárido. Una composición puede incluir un sacárido capsular de uno o más de 25 los siguientes serotipos pneumocócicos: 1, 2, 3, 4, 5, 6A,

6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F y/o 33F. una composición puede incluir múltiples serotipos, por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 ó más serotipos.

5 En la técnica se conocen ya las combinaciones de conjugados 7-valente, 9-valente, 10-valente, 11-valente y 13-valente, puesto que es una combinación no conjugada 23-valente. Por ejemplo, una combinación 10-valente puede incluir sacáridos de los serotipos 1, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F y 23F. Una

10 combinación 11-valente puede incluir además sacáridos del serotipo 3. Una combinación 12-valente puede adicionarse a la mezcla 10-valente; serotipos 6A y 19A; 6A y 22F; 19A y 22F; 6A y 15B; 19A y 15B; r 22F Y 15B; una combinación 13-valente puede adicionarse a la mezcla 11-valente; serotipos 19A y 22F;

15 8 y 12F; 8 y 15B; 8 y 19A; 8 y 22F; 12F y 15B; 12F y 19A; 12F y 22F; 15B y 19A; 15B y 22F, etc. Las características adicionales de los conjugados pneumocóccicos son como se describe anteriormente para conjugados meningocóccicos, incluyendo elección de la proteína portadora (por ejemplo,

20 CRM197 o toxoide de tétanos), enlaces, relaciones, etc. Donde una composición incluye más de un conjugado, cada conjugado puede usar la misma proteína portadora o una diferente proteína portadora. La referencia 124 describe ventajas potenciales cuando se usan diferentes proteínas portadoras en

25 vacunas multivalentes de conjugados pneumocóccicos.

General

El término "que comprende" abarca "que incluye" así como "que consiste" por ejemplo una composición "que comprende" X puede consistir exclusivamente de X o puede
5 incluir algo adicional, por ejemplo, X + Y.

El término "aproximadamente" con relación a un valor numérico x significa, por ejemplo, $x \pm 10\%$.

La palabra "sustancialmente" no excluye "completamente", por ejemplo, una composición que es
10 "sustancialmente libre" de Y puede estar completamente libre de Y. Cuando sea necesario, la palabra "sustancialmente" se puede omitir de la definición de la invención.

Breve Descripción de las Figuras

La Figura 1 muestra dos trazas analíticas
15 sobrepuestas para una composición de la invención. Las líneas son una pre-liofilización y una composición de post-reconstitución. Esencialmente sólo es visible una línea debido a que son cercanamente similares.

La Figura 2 muestra dos trazas analíticas
20 sobrepuestas para una composición almacenada a 4°C y una composición almacenada a 37°C. Diferente de la Figura 1, son visibles las dos líneas.

La Figura 3 muestra el análisis por SDS-paga de varias formulaciones. Las 10 sendas, de izquierda a derecha,
25 muestran: (1) marcador de peso molecular; (2)-(4) antígenos

líquidos a 100 µg/ml, 50 µg/ ml y 25 µg/ml; (5) antígenos en mezcla de 2 % de manitol y 3 % de sacarosa, antes de liofilización; (6) como senda (5), pero después de la liofilización y reconstitución con wfi; (7) como senda (5),
5 pero después de la liofilización y reconstitución con MF59; (8) a (10) como sendas (5) a (7), pero en 5 % de sacarosa.

Descripción Detallada de la Invención

Inclusión de Adyuvante en Vacuna de Men-B

La valoración inicial pre-clínica de la vacuna de
10 Men-B de Novartis indicó que una respuesta inmunitaria óptima requirió la presencia de adyuvante de hidróxido de aluminio. Aún en la presencia de este adyuvante, sin embargo, fue incompleta la cobertura de la cepa. Por ejemplo, en tanto que 100 % de las cepas ST32 y ST8 probadas se aniquilaron por los
15 sueros producidos por la vacuna, esta cifra cayó a 65 % para las cepas ST11. En contraste, el uso de la formulación MF59 como el adyuvante proporcionó 100 % de cobertura para todas las cepas ST32, ST8 y ST11. Los experimentos adicionales confirmaron la superioridad de MF59.

20 Se vio la misma superioridad cuando se adicionaron sacáridos capsulares conjugados de los serogrupos A, C, W135 e Y a la vacuna de Men-B. La inmunogenicidad lograda por esta vacuna de A-B-C-W-Y fue mejor usando MF59 que cuando se usa hidróxido de aluminio, tanto en términos de títulos
25 bactericidas como de cobertura de cepa.

De esta manera, MF59 proporciona una eficiencia inmunogénica mejorada en comparación al adyuvante de hidróxido de aluminio. Cuando se probó la estabilidad de esto, sin embargo, se encontró que los antígenos de Men-B empezaron a degradarse después de aproximadamente 12 semanas aún cuando se almacenaron a 4°C. Cuando se almacenaron a temperaturas superiores, entonces fue evidente la degradación tan sólo después de 2 semanas, con degradación completa después de 6 meses. El análisis usando el Bioanalizador Agilent 2100 o la cromatografía de exclusión de tamaño confirmó la degradación. En contraste, los antígenos permanecieron estables cuando se adsorbieron a hidróxido de aluminio.

También se vio estabilidad reducida para sacáridos capsulares conjugados de los serogrupos no de B en MF59. El nivel de ácido siálico libre (un componente en los sacáridos capsulares de Men-C, Men-W135 y Men-Y) aumentó gradualmente en una formulación con adyuvante MF59 almacenada a 4°C, que alcanza aproximadamente 15 % después de 6 meses. A temperaturas superiores, sin embargo, el nivel libre alcanzó 50 % después de aproximadamente 10 semanas y 100 % (es decir, degradación total) en 6 meses.

De esta manera, la inmunogenicidad mejorada lograda por MF59 es a costa de la estabilidad de almacenamiento. Se realizó trabajo para ver si se puede lograr una formulación estable en tanto que se usa MF59 y/o sin que requiera

adsorción a un adyuvante de hidróxido de aluminio.

Liofilización de Men-B

En un intento para lograr el objetivo de estabilidad, se liofilizaron antígenos de Men-B. Después de la reconstitución, se confirmó que se retuvo su eficiencia. Además, se vio estabilidad para mezclas de antígenos de Men-B con sacáridos capsulares conjugadas de cada serogrupo A, C, W135 e Y.

Por ejemplo, la Figura 1 muestra dos trazos analíticos sobrepuestos, con los picos que corresponden a las posiciones de elusión de las proteínas de Men-B. Los trazos son casi idénticos, no revelando cambios fisicoquímicos sustanciales. En contraste, la Figura 2 muestra dos trazos sobrepuestos de la misma composición almacenada ya sea a 4°C o 37°C, y los cambios son fácilmente visibles. Otras técnicas analíticas confirmaron la ausencia de cualquier cambio detectable pre- y post-liofilización. La integridad de los antígenos individuales de Men-B pareció conservarse aún después de 6 meses de almacenamiento post-liofilización a 4°C.

Las composiciones se han liofilizado en la presencia de 4.5 % de manitol y 1.5 % de sacarosa.

De esta manera, se puede lograr estabilidad a largo plazo de los antígenos meningocócicos sin necesidad de adsorción a una sal de aluminio. De esta manera, la liofilización permite que los antígenos se usen en combinación

con una emulsión de aceite en agua, proporcionando de este modo la eficiencia mejorada y cobertura de cepa que se ha demostrado para estos adyuvantes en tanto que se evitan los problemas asociados de estabilidad.

5 Formulaciones Adicionales

En un trabajo adicional de desarrollo para una presentación liofilizada de la vacuna de Men-B, se prepararon dos formulaciones de la vacuna de proteína recombinante. Ambas usaron sacarosa como un estabilizador de liofilización, pero una incluyó adicionalmente manitol. La osmolaridad es 300mOsmU y en pH es 7.0. Cada frasco incluye suficiente material para una dosis humana con un exceso de 40 % (70 µg de cada proteína recombinante, 15 mg de PBS, y ya sea 14 mg de manitol o 21 mg de manitol + 35 mg de sacarosa), y se reconstituirá con 700 µl de agua de MF59 (o por comparación, con wfi).

Se midieron los niveles de humedad inmediatamente después de la liofilización y luego durante un mes a temperaturas bajas o elevadas. El contenido de humedad permaneció constante a aproximadamente 1.1 %.

Una comparación de los trazos de RP-HPLC antes de la liofilización y después de la reconstitución mostró que las proteínas en ambas formulaciones permanecen estables después de la liofilización aún durante un mes a 37°C. El SDS-PAGE (Figura 3) y las transferencias western también mostraron que

las tres proteínas fueron estables después del proceso de liofilización, sin evidencia de degradación ni agregación después de la reconstitución con ya sea MF59 o wfi tanto a 4°C como a 37°C. El análisis Experion dio el mismo resultado. La
5 cromatografía de exclusión de tamaño mostró que la liofilización provocó un pequeño incremento en la agregación, pero la cantidad de agregado no incrementa posteriormente, aún después de 3 meses a 37°C o 6 meses a 4°C.

Estudios de Inmunogenicidad

10 Se usaron ratones en un estudio de inmunogenicidad para valorar el efecto de la liofilización en la potencia de la vacuna. Se reconstituyeron formulaciones liofilizadas con MF59 y se compararon los títulos contra los mismos antígenos en forma líquida y se mezclaron extemporáneamente con MF59
15 (como en el planteamiento de "dos frascos"). Las formulaciones indujeron títulos similares.

 Para estudiar la estabilidad largo plazo, se almacenaron dos preparaciones liofilizadas de antígeno (una liofilizada con sacarosa, la otra con sacarosa+manitol) a 4°C
20 y se probaron sus inmunogenicidades después de 3 y 6 meses de almacenamiento. Los antígenos almacenados se reconstituyeron con MF59 (también almacenado a 4°C con los antígenos) y se usaron rápidamente para inmunización. Por comparación, también se mezclaron y probaron en paralelo antígenos acuosos
25 recién preparados y MF59.

Los resultados de ELISA de los dos estudios separados indicaron que las formulaciones liofilizadas, cuando se reconstituyeron con MF59, indujeron títulos similares de anticuerpo (GMT) a aquellos producidos por la formulación recién preparada. Lo mismo se vio cuando se valoraron las respuesta de anticuerpo por SBA, por ejemplo, un titulo de SBA de 32768 se vio en el tiempo cero con el antígeno liofilizado con sacarosa y aún se vio después de 6 meses de almacenamiento. De esta manera, los antígenos de Men-B permanecen activos después de la liofilización y almacenamiento.

En estudios adicionales, se almacenaron preparaciones liofilizadas ya sea a 4°C o 37°C y entonces se valoró la inmunogenicidad. Aún después de 1 mes de almacenamiento a 37°C, los antígenos liofilizados no mostraron pérdida en la actividad de SBA.

Estabilidad de Tamaño de la Emulsión Mezclada con Antígenos Liofilizados de Men-B

El tamaño de gota de aceite de una emulsión MF59 se midió durante un periodo de 24 horas a 4°C y 25°C, ya sea como emulsión sola, o mezclada con antígenos liofilizados de Men-B, o mezclada con un antígeno de control. Los tamaños de gota (nm) fueron como sigue:

Temperatura (°C)	25				4	
Tiempo (horas):	0	3	5	24	0	24
MF59 solo	171	169	172	168	172	170
MF59 + Ag de control	173	170	167	172	169	172
MF59 + Men-Blyo	169	168	176	170	173	171

De esta manera, el tamaño de partícula de la

emulsión en la presencia de los antígenos liofilizados de Men-B es estable durante 24 horas a 4°C o 25°C y es esencialmente la misma como la emulsión en sí misma.

Se entenderá que la invención se ha descrito a
5 manera de ejemplo únicamente y se pueden hacer modificaciones en tanto que permanezcan dentro del alcance y espíritu de la invención.

Referencias

- [1] Giuliani et al, (2006) Proc Natl Acad Sci U S A
10 103(29):10834-9.
- [2] Boutriau et al, (2007) Clin Vaccin Immunol
14:65-73.
- [3] WO99/61053.
- [4] WO00/50075.
- 15 [5] WO2006/100109.
- [6] Shi & Schofield (2004) Exp Opin Drug Safety
3:153-8.
- [7] Belshe et al, (1998) AIDS. 12(18):2407-15.
- [8] Arigita et al, (2004) Vaccine 22:629-42.
- 20 [9] Granoff et al, (1997) Infect Immun 65:1710.5.
- [10] WO02/09643.
- [11] Katial et al, (2002) Infect. Immun. 70:702-707.
- [12] Patente de los Estados Unidos número 6,180,111.
- [13] WO01/34642
- 25 [14] WO2004/019977.

- [15] Patente Europea 0011243.
- [16] Fredriksen et al, (1991) NIPH Ann. 14(2):67-80.
- [17] WO01/91788.
- [18] WO2005/004908.
- 5 [19] Maiden et al, (1998) PNAS USA 95:3140-3145.
- [20] WO98/56901.
- [21] WO2006/081259.
- [22] Claassen et al, (1996) 14(10):1001-8.
- [23] WO99/10497.
- 10 [24] Steeghs et al, (2001) The EMBO Journal 20:6937-
6945.
- [25] WO00/25811.
- [26] WO01/09350.
- [27] WO02/09746.
- 15 [28] WO02/062378.
- [29] WO2004/014417.
- [30] WO03/105890.
- [31] WO2006/026946.
- [32] WO99/24578.
- 20 [33] WO99/36544.
- [34] WO99/57280.
- [35] WO00/22430.
- [36] WO96/29412.
- [37] WO01/64920.
- 25 [38] WO03/020756.

- [39] WO2004/048404.
- [40] WO2004/032958.
- [41] WO98/53851.
- [42] US-6531131.
- 5 [43] WO00/26384.
- [44] US-6645503.
- [45] WO01/52885.
- [46] Costantino et al, (1992) Vaccine 10:691-8.
- [47] Lieberman et al, (1996) JAMA 275:1499-503.
- 10 [48] WO02/058737.
- [49] WO03/007985.
- [50] Rennels et al, (2002) Pediatr Infect Dis J
21:978-979.
- [51] Campbell et al, (2002) J Infect Dis 186:1848-
15 1851.
- [52] WO03/080678.
- [53] Glode et al, (1979) J Infect Dis 139:52-56.
- [54] WO94/05325; patente de los Estados Unidos
número 5,425,946.
- 20 [55] Arakere & Frasch (1991) Infect. Immun. 59:4349-
4356.
- [56] Michon et al, (2002) Dev. Biol. 103:151-160.
- [57] Rubinstein & Stein (1998) J. Immunol. 141:4357-
4362.
- 25 [58] WO2005/033148.

- [59] WO2007/000314.
- [60] Research Disclosure, 453077 (Jan 2002)
- [61] EP-A-0372501.
- [62] EP-A-0378881.
- 5 [63] EP-A-0427347.
- [64] WO93/17712.
- [65] WO94/03208.
- [66] WO98/58668.
- [67] EP-A-0471177.
- 10 [68] WO91/01146
- [69] Falugi et al, (2001) Eur J Immunol 31:3816-
3824.
- [70] Baraldo et al, (2004) Infect Human 72(8):4884-
7.
- 15 [71] EP-A-0594610.
- [72] Ruan et al, (1990) J Immunol 145:3379-3384.
- [73] WO00/56360.
- [74] Kuo et al, (1995) Infect Immun 63:2706-13.
- [75] Michon et al, (1998) Vaccine. 16:1732-41.
- 20 [76] WO02/091998.
- [77] WO01/72337.
- [78] WO00/61761.
- [79] WO00/33882.
- [80] WO99/42130.
- 25 [81] WO2007/000341.

- [82] Bardotti et al, (2008) Vaccine 26:2284-96.
- [83] Mol. Immunol., 1985, 22, 907-919.
- [84] EP-A-0208375.
- [85] Bethell G.S. et al., J. Biol. Chem., 1979, 254,
5 2572-4.
- [86] Hearn M.T.W., J. Chromatogr., 1981, 218, 509-
18.
- [87] WO00/10599.
- [88] Gever et al., Med. Microbiol. Immunol, 165:171-
10 288 (1979).
- [89] Patente de los Estados Unidos número 4,057,684.
- [90] Patentes de los Estados Unidos números
4,673,574; 4,761,283; 4,808,700.
- [91] Patente de los Estados Unidos número 4,459,286.
- 15 [92] Patente de los Estados Unidos número 5,204,098.
- [93] Patente de los Estados Unidos número 4,965,338.
- [94] Patente de los Estados Unidos número 4,663,160.
- [95] WO2007/000343.
- [96] WO2007/000342.
- 20 [97] WO2007/000322.
- [98] WO90/14837.
- [99] Podda & Del Giudice (2003) Expert Rev Vaccines
2:197-203.
- [100] Podda (2001) Vaccine 19: 2673-2680.
- 25 [101] Vaccine Design: The Subunit and Adjuvant

Approach (eds. Powell & Newman) Plenum Press 1995 (ISBN 0-306-44867-X).

[102] Vaccine Adjuvants: preparation Methods and Research Protocols (Volume 42 of Methods in Molecular Medicine series). ISBN: 1-59259-083-7, Ed. O'Hagan.

[103] Allison & Byars (1992) Res Immunol 143:519-25.

[104] Hariharan et al, (1995) Cancer Res 55:3486-9.

[105] US-2007/014805.

[106] WO95/11700.

10 [107] Patente de los Estados Unidos número 6,080,725.

[108] WO2006/113373.

[109] WO2005/097181.

[110] GB-A-2220211.

15 [111] US-5472706.

[112] WO2006/110603.

[113] Gennaro (2000) Remington: The Science and Practice of Pharmacy: 20th edition, ISBN: 0683306472.

[114] RIVM report 124001 004.

20 [115] RIVM report 000012 003.

[116] Bakke et al, (2001) Infect. Immun. 69:5010-5015.

[117] WO01/30390.

[118] <http://neisseria.org/nm/typing/mlst/>

25 [119] Tettelin et al, (2000) Science 287:1809-1815.

[120] Pettersson et al, (1994) Microb Pathog
17(6):395-408.

[121] Welsch et al, (2002) Thirteenth International
Pathogenic Neisseria Conference, Norwegian Institute of Public
5 Health, Oslo, Norway; Sept. 1-6, 2002. Genome-derived antigen
(GNA) 2132 elicits protective serum antibodies to groups B and
C Neisseria meningitidis strains.

[122] Santos et al, (2002) Thirteenth International
Pathogenic Neisseria Conference, Norwegian Institute of Public
10 Health, Oslo, Norway; Sept. 1-6, 2002. Serum bactericidal
responses in Rhesus macaques immunized with novel vaccines
containing recombinant proteins derived from the genome of N.
meningitidis.

[123] WO2007/000327.

15 [124] WO2007/071707.

REIVINDICACIONES

1. Kit, caracterizado porque comprende: (i) un primer recipiente que contiene un adyuvante que comprende una
5 emulsión de aceite en agua; y (ii) un segundo recipiente que contiene una composición antigénica liofilizada que comprende un inmunógeno para provocar una respuesta inmunitaria contra el serogrupo B de *Neisseria meningitidis*.

2. Kit de conformidad con la reivindicación 1,
10 caracterizado porque la composición antigénica liofilizada en el segundo recipiente comprende además un sacárido capsular conjugado de uno o más de los serogrupos A, C, W135 y/o Y de *N. meningitidis*.

3. Composición antigénica liofilizada, caracterizada
15 porque comprende (i) un inmunógeno para provocar una respuesta inmunitaria contra el serogrupo B de *Neisseria meningitidis*, y (ii) un sacárido capsular conjugado de uno o más de los serogrupos A, C, W135 y/o Y de *Neisseria meningitidis*.

4. Método para preparar una composición
20 inmunogénica, caracterizado porque comprende el paso de mezclar: (i) un adyuvante que comprende una emulsión de aceite en agua; y (ii) una composición antigénica liofilizada que comprende un inmunógeno para provocar una respuesta inmunitaria contra el serogrupo B de *Neisseria meningitidis*.

25 5. Método de conformidad con la reivindicación 4,

caracterizado porque la composición antigénica liofilizada comprende además un sacárido capsular conjugado de uno o más de los serogrupos A, C, W135 y/o Y de *N. meningitidis*.

6. Método de conformidad con la reivindicación 4,
5 caracterizado porque la composición antigénica liofilizada es de conformidad con la reivindicación 3.

7. Kit, composición o método de cualquier
reivindicación anterior, caracterizado porque la composición
antigénica liofilizada comprende vesículas de membrana de la
10 cepa del serogrupo B de *N. meningitidis*.

8. Kit, composición o método de cualquier
reivindicación anterior, caracterizado porque la composición
antigénica liofilizada comprende proteínas recombinantes de la
cepa del serogrupo B de *N. meningitidis*.

15 9. Kit, composición o método de cualquier
reivindicación anterior, caracterizado porque la composición
antigénica liofilizada comprende un lipooligosacárido de la
cepa del serogrupo B de *N. meningitidis*.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> NOVARTIS AG
 <120> FORMULACIONES DE VACUNA MENINGOCÓCICA
 <130> P051966W0
 <140> PCT/IB2008/_____
 <141> 2008-10-17
 <150> US-60/999,590
 <151> 2007-10-19
 <160> 7
 <170> SeqWin99, version 1.02
 <210> 1
 <211> 248
 <212> PRT
 <213> Neisseria meningitidis
 <400> 1
 Val Ala Ala Asp Ile Gly Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro
 1 5 10 15
 Leu Asp His Lys Asp Lys Gly Leu Gln Ser Leu Thr Leu Asp Gln Ser
 20 25 30
 Val Arg Lys Asn Glu Lys Leu Lys Leu Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys
 35 40 45
 Thr Tyr Gly Asn Gly Asp Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp
 50 55 60
 Lys Val Ser Arg Phe Asp Phe Ile Arg Gln Ile Glu Val Asp Gly Gln
 65 70 75 80
 Leu Ile Thr Leu Glu Ser Gly Glu Phe Gln Val Tyr Lys Gln Ser His
 85 90 95
 Ser Ala Leu Thr Ala Phe Gln Thr Glu Gln Ile Gln Asp Ser Glu His
 100 105 110
 Ser Gly Lys Met Val Ala Lys Arg Gln Phe Arg Ile Gly Asp Ile Ala
 115 120 125
 Gly Glu His Thr Ser Phe Asp Lys Leu Pro Glu Gly Gly Arg Ala Thr
 130 135 140
 Tyr Arg Gly Thr Ala Phe Gly Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr
 145 150 155 160
 Tyr Thr Ile Asp Phe Ala Ala Lys Gln Gly Asn Gly Lys Ile Glu His
 165 170 175
 Leu Lys Ser Pro Glu Leu Asn Val Asp Leu Ala Ala Ala Asp Ile Lys
 180 185 190
 Pro Asp Gly Lys Arg His Ala Val Ile Ser Gly Ser Val Leu Tyr Asn
 195 200 205
 Gln Ala Glu Lys Gly Ser Tyr Ser Leu Gly Ile Phe Gly Gly Lys Ala
 210 215 220
 Gln Glu Val Ala Gly Ser Ala Glu Val Lys Thr Val Asn Gly Ile Arg
 225 230 235 240
 His Ile Gly Leu Ala Ala Lys Gln
 245

<210> 2
 <211> 247
 <212> PRT
 <213> Neisseria meningitidis

<400> 2
 Val Ala Ala Asp Ile Gly Ala Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro
 1 5 10 15
 Leu Asp His Lys Asp Lys Ser Leu Gln Ser Leu Thr Leu Asp Gln Ser
 20 25 30
 Val Arg Lys Asn Glu Lys Leu Lys Leu Ala Ala Gln Gly Ala Glu Lys
 35 40 45
 Thr Tyr Gly Asn Gly Asp Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu Lys Asn Asp
 50 55 60
 Lys Val Ser Arg Phe Asp Phe Ile Arg Gln Ile Glu Val Asp Gly Gln
 65 70 75 80
 Leu Ile Thr Leu Glu Ser Gly Glu Phe Gln Ile Tyr Lys Gln Asp His
 85 90 95
 Ser Ala Val Val Ala Leu Gln Ile Glu Lys Ile Asn Asn Pro Asp Lys
 100 105 110
 Ile Asp Ser Leu Ile Asn Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser Gly Leu Gly
 115 120 125
 Gly Glu His Thr Ala Phe Asn Gln Leu Pro Asp Gly Lys Ala Glu Tyr
 130 135 140
 His Gly Lys Ala Phe Ser Ser Asp Asp Ala Gly Gly Lys Leu Thr Tyr
 145 150 155 160
 Thr Ile Asp Phe Ala Ala Lys Gln Gly His Gly Lys Ile Glu His Leu
 165 170 175
 Lys Thr Pro Glu Gln Asn Val Glu Leu Ala Ala Ala Glu Leu Lys Ala
 180 185 190
 Asp Glu Lys Ser His Ala Val Ile Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Gly Ser
 195 200 205
 Glu Glu Lys Gly Thr Tyr His Leu Ala Leu Phe Gly Asp Arg Ala Gln
 210 215 220
 Glu Ile Ala Gly Ser Ala Thr Val Lys Ile Gly Glu Lys Val His Glu
 225 230 235 240
 Ile Gly Ile Ala Gly Lys Gln
 245

<210> 3
 <211> 250
 <212> PRT
 <213> Neisseria meningitidis

<400> 3
 Val Ala Ala Asp Ile Gly Thr Gly Leu Ala Asp Ala Leu Thr Ala Pro
 1 5 10 15
 Leu Asp His Lys Asp Lys Gly Leu Lys Ser Leu Thr Leu Glu Asp Ser
 20 25 30
 Ile Pro Gln Asn Gly Thr Leu Thr Leu Ser Ala Gln Gly Ala Glu Lys
 35 40 45

3/8

Thr Phe Lys Ala Gly Asp Lys Asp Asn Ser Leu Asn Thr Gly Lys Leu
50 55 60

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

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

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

Pro Asp Lys Thr Asp Ser Leu Ile Asn Gln Arg Ser Phe Leu Val Ser
115 120 125

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 4
<211> 644
<212> PRT
<213> Neisseria meningitidis

<400> 4
Met Ala Ser Pro Asp Val Lys Ser Ala Asp Thr Leu Ser Lys Pro Ala
1 5 10 15

Ala Pro Val Val Ser Glu Lys Glu Thr Glu Ala Lys Glu Asp Ala Pro
20 25 30

Gln Ala Gly Ser Gln Gly Gln Gly Ala Pro Ser Ala Gln Gly Gly Gln
35 40 45

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

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

Pro Gln Asn Ala Ala Asp Thr Asp Ser Leu Thr Pro Asn His Thr Pro
85 90 95

Ala Ser Asn Met Pro Ala Gly Asn Met Glu Asn Gln Ala Pro Asp Ala
100 105 110

Gly Glu Ser Glu Gln Pro Ala Asn Gln Pro Asp Met Ala Asn Thr Ala
115 120 125

4/8

Asp	Gly	Met	Gln	Gly	Asp	Asp	Pro	Ser	Ala	Gly	Gly	Glu	Asn	Ala	Gly		
130						135					140						
Asn	Thr	Ala	Ala	Gln	Gly	Thr	Asn	Gln	Ala	Glu	Asn	Asn	Gln	Thr	Ala		
145					150					155					160		
Gly	Ser	Gln	Asn	Pro	Ala	Ser	Ser	Thr	Asn	Pro	Ser	Ala	Thr	Asn	Ser		
				165					170					175			
Gly	Gly	Asp	Phe	Gly	Arg	Thr	Asn	Val	Gly	Asn	Ser	Val	Val	Ile	Asp		
			180					185					190				
Gly	Pro	Ser	Gln	Asn	Ile	Thr	Leu	Thr	His	Cys	Lys	Gly	Asp	Ser	Cys		
		195					200					205					
Ser	Gly	Asn	Asn	Phe	Leu	Asp	Glu	Glu	Val	Gln	Leu	Lys	Ser	Glu	Phe		
	210					215					220						
Glu	Lys	Leu	Ser	Asp	Ala	Asp	Lys	Ile	Ser	Asn	Tyr	Lys	Lys	Asp	Gly		
225					230					235					240		
Lys	Asn	Asp	Gly	Lys	Asn	Asp	Lys	Phe	Val	Gly	Leu	Val	Ala	Asp	Ser		
				245					250					255			
Val	Gln	Met	Lys	Gly	Ile	Asn	Gln	Tyr	Ile	Ile	Phe	Tyr	Lys	Pro	Lys		
			260					265					270				
Pro	Thr	Ser	Phe	Ala	Arg	Phe	Arg	Arg	Ser	Ala	Arg	Ser	Arg	Arg	Ser		
		275					280					285					
Leu	Pro	Ala	Glu	Met	Pro	Leu	Ile	Pro	Val	Asn	Gln	Ala	Asp	Thr	Leu		
	290					295					300						
Ile	Val	Asp	Gly	Glu	Ala	Val	Ser	Leu	Thr	Gly	His	Ser	Gly	Asn	Ile		
305					310					315					320		
Phe	Ala	Pro	Glu	Gly	Asn	Tyr	Arg	Tyr	Leu	Thr	Tyr	Gly	Ala	Glu	Lys		
				325					330					335			
Leu	Pro	Gly	Gly	Ser	Tyr	Ala	Leu	Arg	Val	Gln	Gly	Glu	Pro	Ser	Lys		
			340					345					350				
Gly	Glu	Met	Leu	Ala	Gly	Thr	Ala	Val	Tyr	Asn	Gly	Glu	Val	Leu	His		
		355					360					365					
Phe	His	Thr	Glu	Asn	Gly	Arg	Pro	Ser	Pro	Ser	Arg	Gly	Arg	Phe	Ala		
	370					375					380						
Ala	Lys	Val	Asp	Phe	Gly	Ser	Lys	Ser	Val	Asp	Gly	Ile	Ile	Asp	Ser		
385					390					395					400		
Gly	Asp	Gly	Leu	His	Met	Gly	Thr	Gln	Lys	Phe	Lys	Ala	Ala	Ile	Asp		
				405					410					415			
Gly	Asn	Gly	Phe	Lys	Gly	Thr	Trp	Thr	Glu	Asn	Gly	Gly	Gly	Asp	Val		
			420					425					430				
Ser	Gly	Lys	Phe	Tyr	Gly	Pro	Ala	Gly	Glu	Glu	Val	Ala	Gly	Lys	Tyr		
		435					440					445					
Ser	Tyr	Arg	Pro	Thr	Asp	Ala	Glu	Lys	Gly	Gly	Phe	Gly	Val	Phe	Ala		
	450					455					460						
Gly	Lys	Lys	Glu	Gln	Asp	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ala	Thr	Tyr	Lys		
465					470					475					480		
Val	Asp	Glu	Tyr	His	Ala	Asn	Ala	Arg	Phe	Ala	Ile	Asp	His	Phe	Asn		
				485					490					495			

5/8

Thr Ser Thr Asn Val Gly Gly Phe Tyr Gly Leu Thr Gly Ser Val Glu
500 505 510

Phe Asp Gln Ala Lys Arg Asp Gly Lys Ile Asp Ile Thr Ile Pro Val
515 520 525

Ala Asn Leu Gln Ser Gly Ser Gln His Phe Thr Asp His Leu Lys Ser
530 535 540

Ala Asp Ile Phe Asp Ala Ala Gln Tyr Pro Asp Ile Arg Phe Val Ser
545 550 555 560

Thr Lys Phe Asn Phe Asn Gly Lys Lys Leu Val Ser Val Asp Gly Asn
565 570 575

Leu Thr Met His Gly Lys Thr Ala Pro Val Lys Leu Lys Ala Glu Lys
580 585 590

Phe Asn Cys Tyr Gln Ser Pro Met Ala Lys Thr Glu Val Cys Gly Gly
595 600 605

Asp Phe Ser Thr Thr Ile Asp Arg Thr Lys Trp Gly Val Asp Tyr Leu
610 615 620

Val Asn Val Gly Met Thr Lys Ser Val Arg Ile Asp Ile Gln Ile Glu
625 630 635 640

Ala Ala Lys Gln

<210> 5
<211> 434
<212> PRT
<213> Neisseria meningitidis

<400> 5
Met Val Ser Ala Val Ile Gly Ser Ala Ala Val Gly Ala Lys Ser Ala
1 5 10 15

Val Asp Arg Arg Thr Thr Gly Ala Gln Thr Asp Asp Asn Val Met Ala
20 25 30

Leu Arg Ile Glu Thr Thr Ala Arg Ser Tyr Leu Arg Gln Asn Asn Gln
35 40 45

Thr Lys Gly Tyr Thr Pro Gln Ile Ser Val Val Gly Tyr Asn Arg His
50 55 60

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

Gly Gln Ile Ala Arg Ser Glu Gln Ala Ala Glu Gly Val Tyr Asn Tyr
85 90 95

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

Thr Trp Asn Thr Ser Lys Val Arg Ala Thr Leu Leu Gly Ile Ser Pro
115 120 125

Ala Thr Gln Ala Arg Val Lys Ile Val Thr Tyr Gly Asn Val Thr Tyr
130 135 140

Val Met Gly Ile Leu Thr Pro Glu Glu Gln Ala Gln Ile Thr Gln Lys
145 150 155 160

Val Ser Thr Thr Val Gly Val Gln Lys Val Ile Thr Leu Tyr Gln Asn
165 170 175

Tyr Val Gln Arg Gly Ser Gly Gly Gly Gly Val Ala Ala Asp Ile Gly

180					185					190					
Ala	Gly	Leu	Ala	Asp	Ala	Leu	Thr	Ala	Pro	Leu	Asp	His	Lys	Asp	Lys
		195					200					205			
Gly	Leu	Gln	Ser	Leu	Thr	Leu	Asp	Gln	Ser	Val	Arg	Lys	Asn	Glu	Lys
	210					215					220				
Leu	Lys	Leu	Ala	Ala	Gln	Gly	Ala	Glu	Lys	Thr	Tyr	Gly	Asn	Gly	Asp
	225					230					235				240
Ser	Leu	Asn	Thr	Gly	Lys	Leu	Lys	Asn	Asp	Lys	Val	Ser	Arg	Phe	Asp
				245					250					255	
Phe	Ile	Arg	Gln	Ile	Glu	Val	Asp	Gly	Gln	Leu	Ile	Thr	Leu	Glu	Ser
			260					265					270		
Gly	Glu	Phe	Gln	Val	Tyr	Lys	Gln	Ser	His	Ser	Ala	Leu	Thr	Ala	Phe
		275					280					285			
Gln	Thr	Glu	Gln	Ile	Gln	Asp	Ser	Glu	His	Ser	Gly	Lys	Met	Val	Ala
	290					295					300				
Lys	Arg	Gln	Phe	Arg	Ile	Gly	Asp	Ile	Ala	Gly	Glu	His	Thr	Ser	Phe
	305					310					315				320
Asp	Lys	Leu	Pro	Glu	Gly	Gly	Arg	Ala	Thr	Tyr	Arg	Gly	Thr	Ala	Phe
				325					330					335	
Gly	Ser	Asp	Asp	Ala	Gly	Gly	Lys	Leu	Thr	Tyr	Thr	Ile	Asp	Phe	Ala
			340					345					350		
Ala	Lys	Gln	Gly	Asn	Gly	Lys	Ile	Glu	His	Leu	Lys	Ser	Pro	Glu	Leu
		355					360					365			
Asn	Val	Asp	Leu	Ala	Ala	Ala	Asp	Ile	Lys	Pro	Asp	Gly	Lys	Arg	His
	370					375					380				
Ala	Val	Ile	Ser	Gly	Ser	Val	Leu	Tyr	Asn	Gln	Ala	Glu	Lys	Gly	Ser
	385					390					395				400
Tyr	Ser	Leu	Gly	Ile	Phe	Gly	Gly	Lys	Ala	Gln	Glu	Val	Ala	Gly	Ser
				405					410					415	
Ala	Glu	Val	Lys	Thr	Val	Asn	Gly	Ile	Arg	His	Ile	Gly	Leu	Ala	Ala
			420					425					430		

Lys Gln

<210> b
 <211> 327
 <212> PRT
 <213> Neisseria meningitidis

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

7/8

65		70		75		80									
Val	Asp	Ala	Lys	Val	Lys	Ala	Ala	Glu	Ser	Glu	Ile	Glu	Lys	Leu	Thr
			85						90					95	
Thr	Lys	Leu	Ala	Asp	Thr	Asp	Ala	Ala	Leu	Ala	Asp	Thr	Asp	Ala	Ala
			100					105					110		
Leu	Asp	Ala	Thr	Thr	Asn	Ala	Leu	Asn	Lys	Leu	Gly	Glu	Asn	Ile	Thr
		115					120					125			
Thr	Phe	Ala	Glu	Glu	Thr	Lys	Thr	Asn	Ile	Val	Lys	Ile	Asp	Glu	Lys
	130					135					140				
Leu	Glu	Ala	Val	Ala	Asp	Thr	Val	Asp	Lys	His	Ala	Glu	Ala	Phe	Asn
145					150					155					160
Asp	Ile	Ala	Asp	Ser	Leu	Asp	Glu	Thr	Asn	Thr	Lys	Ala	Asp	Glu	Ala
				165					170					175	
Val	Lys	Thr	Ala	Asn	Glu	Ala	Lys	Gln	Thr	Ala	Glu	Glu	Thr	Lys	Gln
			180					185					190		
Asn	Val	Asp	Ala	Lys	Val	Lys	Ala	Ala	Glu	Thr	Ala	Ala	Gly	Lys	Ala
		195					200					205			
Glu	Ala	Ala	Ala	Gly	Thr	Ala	Asn	Thr	Ala	Ala	Asp	Lys	Ala	Glu	Ala
	210					215					220				
Val	Ala	Ala	Lys	Val	Thr	Asp	Ile	Lys	Ala	Asp	Ile	Ala	Thr	Asn	Lys
225					230					235					240
Asp	Asn	Ile	Ala	Lys	Lys	Ala	Asn	Ser	Ala	Asp	Val	Tyr	Thr	Arg	Glu
			245					250						255	
Glu	Ser	Asp	Ser	Lys	Phe	Val	Arg	Ile	Asp	Gly	Leu	Asn	Ala	Thr	Thr
			260					265					270		
Glu	Lys	Leu	Asp	Thr	Arg	Leu	Ala	Ser	Ala	Glu	Lys	Ser	Ile	Ala	Asp
		275					280					285			
His	Asp	Thr	Arg	Leu	Asn	Gly	Leu	Asp	Lys	Thr	Val	Ser	Asp	Leu	Arg
	290					295					300				
Lys	Glu	Thr	Arg	Gln	Gly	Leu	Ala	Glu	Gln	Ala	Ala	Leu	Ser	Gly	Leu
305					310					315					320
Phe	Gln	Pro	Tyr	Asn	Val	Gly									
				325											
<210>	7														
<211>	434														
<212>	PRT														
<213>	Neisseria meningitidis														
<400>	7														
Met	Val	Ser	Ala	Val	Ile	Gly	Ser	Ala	Ala	Val	Gly	Ala	Lys	Ser	Ala
1				5					10				15		
Val	Asp	Arg	Arg	Thr	Thr	Gly	Ala	Gln	Thr	Asp	Asp	Asn	Val	Met	Ala
			20					25					30		
Leu	Arg	Ile	Glu	Thr	Thr	Ala	Arg	Ser	Tyr	Leu	Arg	Gln	Asn	Asn	Gln
		35				40						45			
Thr	Lys	Gly	Tyr	Thr	Pro	Gln	Ile	Ser	Val	Val	Gly	Tyr	Asp	Arg	His
	50					55					60				
Leu	Leu	Leu	Leu	Gly	Gln	Val	Ala	Thr	Glu	Gly	Glu	Lys	Gln	Phe	Val

															8/8																
65					70					75					80																
Gly	Gln	Ile	Ala	Arg	Ser	Glu	Gln	Ala	Ala	Glu	Gly	Val	Tyr	Asn	Tyr																
				85					90					95																	
Ile	Thr	Val	Ala	Ser	Leu	Pro	Arg	Thr	Ala	Gly	Asp	Ile	Ala	Gly	Asp																
			100					105					110																		
Thr	Trp	Asn	Thr	Ser	Lys	Val	Arg	Ala	Thr	Leu	Leu	Gly	Ile	Ser	Pro																
		115					120					125																			
Ala	Thr	Arg	Ala	Arg	Val	Lys	Ile	Val	Thr	Tyr	Gly	Asn	Val	Thr	Tyr																
	130					135					140																				
Val	Met	Gly	Ile	Leu	Thr	Pro	Glu	Glu	Gln	Ala	Gln	Ile	Thr	Gln	Lys																
	145				150				155						160																
Val	Ser	Thr	Thr	Val	Gly	Val	Gln	Lys	Val	Ile	Thr	Leu	Tyr	Gln	Asn																
				165					170					175																	
Tyr	Val	Gln	Arg	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Val	Ala	Ala	Asp	Ile	Gly																
			180				185						190																		
Ala	Gly	Leu	Ala	Asp	Ala	Leu	Thr	Ala	Pro	Leu	Asp	His	Lys	Asp	Lys																
		195					200					205																			
Gly	Leu	Gln	Ser	Leu	Thr	Leu	Asp	Gln	Ser	Val	Arg	Lys	Asn	Glu	Lys																
	210					215					220																				
Leu	Lys	Leu	Ala	Ala	Gln	Gly	Ala	Glu	Lys	Thr	Tyr	Gly	Asn	Gly	Asp																
	225				230				235					240																	
Ser	Leu	Asn	Thr	Gly	Lys	Leu	Lys	Asn	Asp	Lys	Val	Ser	Arg	Phe	Asp																
			245						250					255																	
Phe	Ile	Arg	Gln	Ile	Glu	Val	Asp	Gly	Gln	Leu	Ile	Thr	Leu	Glu	Ser																
		260					265						270																		
Gly	Glu	Phe	Gln	Val	Tyr	Lys	Gln	Ser	His	Ser	Ala	Leu	Thr	Ala	Phe																
		275					280					285																			
Gln	Thr	Glu	Gln	Ile	Gln	Asp	Ser	Glu	His	Ser	Gly	Lys	Met	Val	Ala																
	290					295					300																				
Lys	Arg	Gln	Phe	Arg	Ile	Gly	Asp	Ile	Ala	Gly	Glu	His	Thr	Ser	Phe																
	305				310					315				320																	
Asp	Lys	Leu	Pro	Glu	Gly	Gly	Arg	Ala	Thr	Tyr	Arg	Gly	Thr	Ala	Phe																
			325						330					335																	
Gly	Ser	Asp	Asp	Ala	Gly	Gly	Lys	Leu	Thr	Tyr	Thr	Ile	Asp	Phe	Ala																
		340					345						350																		
Ala	Lys	Gln	Gly	Asn	Gly	Lys	Ile	Glu	His	Leu	Lys	Ser	Pro	Glu	Leu																
		355					360					365																			
Asn	Val	Asp	Leu	Ala	Ala	Ala	Asp	Ile	Lys	Pro	Asp	Gly	Lys	Arg	His																
	370					375					380																				
Ala	Val	Ile	Ser	Gly	Ser	Val	Leu	Tyr	Asn	Gln	Ala	Glu	Lys	Gly	Ser																
	385				390					395				400																	
Tyr	Ser	Leu	Gly	Ile	Phe	Gly	Gly	Lys	Ala	Gln	Glu	Val	Ala	Gly	Ser																
			405						410					415																	
Ala	Glu	Val	Lys	Thr	Val	Asn	Gly	Ile	Arg	His	Ile	Gly	Leu	Ala	Ala																
			420					425					430																		
Lys	Gln																														

Figura 1

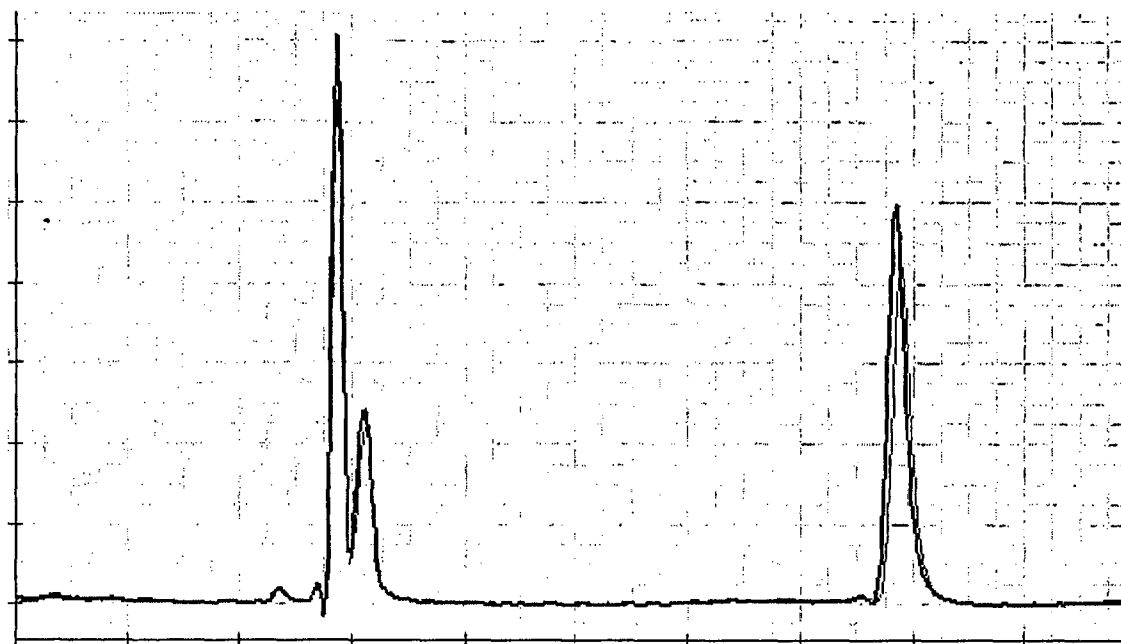


Figura 2

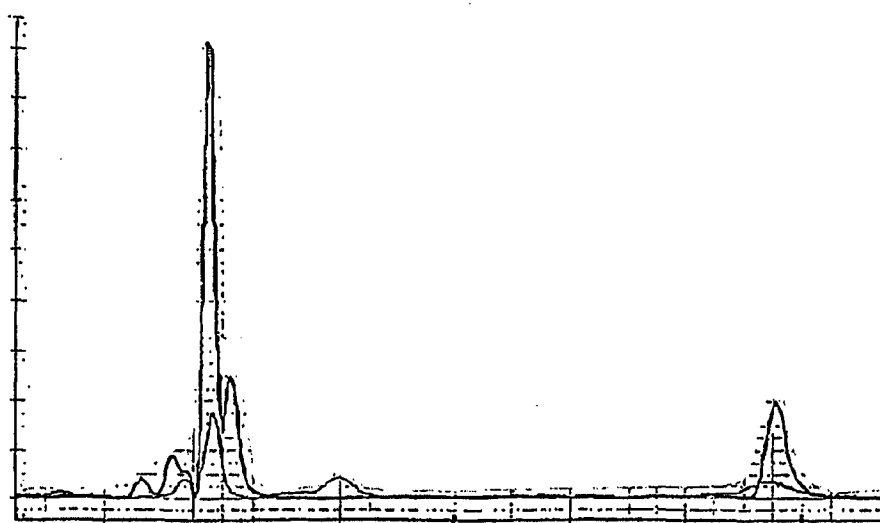
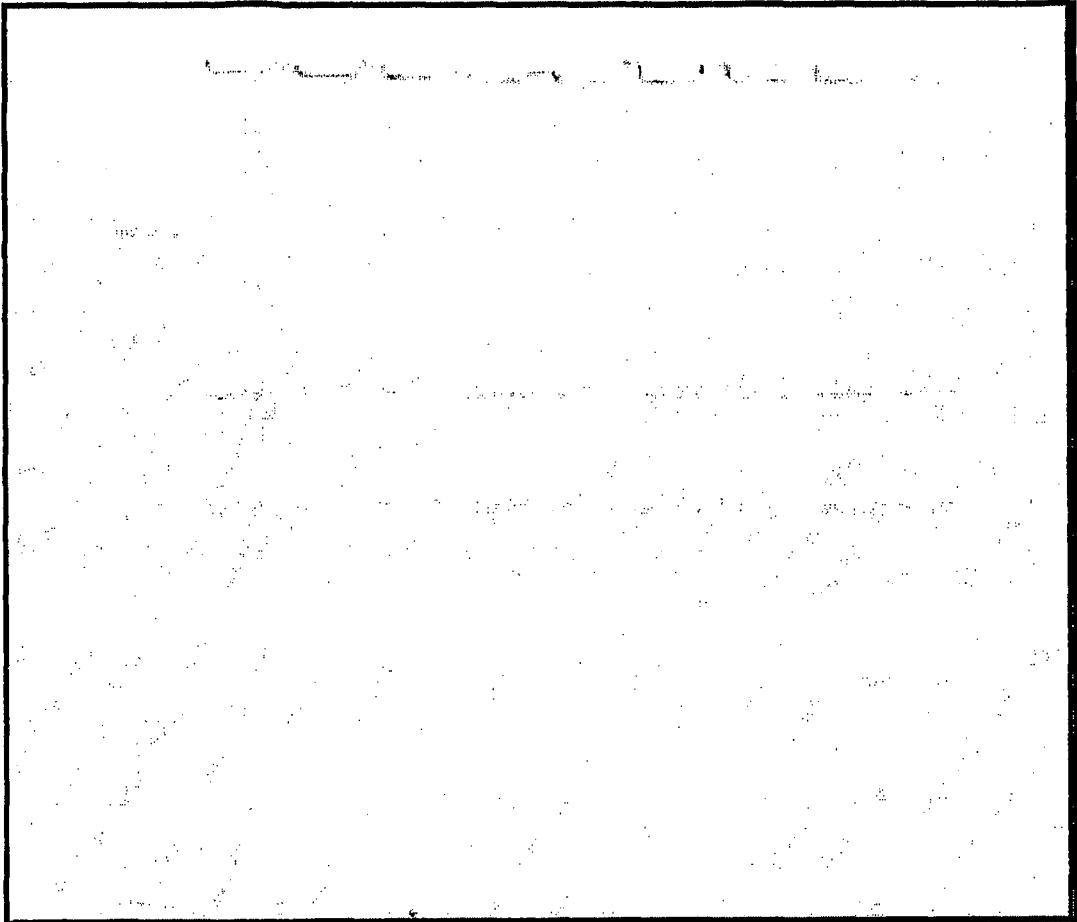


Figura 3



PCT

REQUEST

The undersigned requests that the present international application be processed according to the Patent Cooperation Treaty.

For receiving Office use only

PCT/IB20 08 / 003 283
International Application No.
17 OCTOBER 2008
International Filing Date
INTERNATIONAL BUREAU OF WIPO PCT International Application
Name of receiving Office and "PCT International Application"
Applicant's or agent's file reference (if desired) (12 characters maximum) P051966WO

Box No. I	TITLE OF INVENTION	
MENINGOCOCCAL VACCINE FORMULATIONS		
Box No. II	APPLICANT ☐ This person is also inventor	
Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)		Telephone No.
NOVARTIS AG Lichtstrasse 35 4056 Basel Switzerland		Facsimile No.
		Applicant's registration No. with the Office
☐ E-mail authorization: Marking this check-box authorizes the receiving Office, the International Searching Authority, the International Bureau and the International Preliminary Examining Authority to use the e-mail address indicated in this Box to send, if the Office or Authority so wishes, advance copies of notifications in respect of this international application. (See also the Notes to Boxes Nos. II and III.)		E-mail address
State (that is, country) of nationality: CH		State (that is, country) of residence: CH
This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☒ all designated States except the United States of America ☐ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box		
Box No. III	FURTHER APPLICANT(S) AND/OR (FURTHER) INVENTOR(S)	
☒ Further applicants and/or (further) inventors are indicated on a continuation sheet.		
Box No. IV	AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE; OR ADDRESS FOR CORRESPONDENCE	
The person identified below is hereby/has been appointed to act on behalf of the applicant(s) before the competent International Authorities as:		☒ agent ☐ common representative
Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)		Telephone No.
MARSHALL, Cameron John		020 7242 8692
CARPMAELS & RANSFORD 43-45 BLOOMSBURY SQUARE LONDON, WC1A 2RA GB		Facsimile No.
		020 7405 4166
		Agent's registration No. with the Office
☐ E-mail authorization: Marking this check-box authorizes the receiving Office, the International Searching Authority, the International Bureau and the International Preliminary Examining Authority to use the e-mail address indicated in this Box to send, if the Office or Authority so wishes, advance copies of notifications in respect of this international application. (See also the Notes to Boxes Nos. II and III.)		E-mail address
☐ Address for correspondence: Mark this check-box where no agent or common representative is/has been appointed and the space above is used instead to indicate a special address to which correspondence should be sent.		

Sheet No. 2.....

Box No. III FURTHER APPLICANT(S) AND/OR (FURTHER) INVENTOR(S) <i>If none of the following sub-boxes is used, this sheet should not be included in the request.</i>	
Name and address: <i>(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)</i> CONTORNI Mario NOVARTIS VACCINES VIA FIORENTINA 1 53100 SIENA ITALY	This person is: ☐ applicant only ☒ applicant and inventor ☐ inventor only <i>(If this check-box is marked, do not fill in below.)</i> Applicant's registration No. with the Office
State <i>(that is, country)</i> of nationality: IT	State <i>(that is, country)</i> of residence: IT
This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☒ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box	
Name and address: <i>(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)</i> KAZZAZ Jina NOVARTIS VACCINES 45 SIDNEY STREET CAMBRIDGE MA 02139 USA	This person is: ☐ applicant only ☒ applicant and inventor ☐ inventor only <i>(If this check-box is marked, do not fill in below.)</i> Applicant's registration No. with the Office
State <i>(that is, country)</i> of nationality: US	State <i>(that is, country)</i> of residence: US
This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☒ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box	
Name and address: <i>(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)</i> O'HAGAN Derek NOVARTIS VACCINES 45 SIDNEY STREET CAMBRIDGE MA 02139 USA	This person is: ☐ applicant only ☒ applicant and inventor ☐ inventor only <i>(If this check-box is marked, do not fill in below.)</i> Applicant's registration No. with the Office
State <i>(that is, country)</i> of nationality: US	State <i>(that is, country)</i> of residence: US
This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☒ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box	
Name and address: <i>(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)</i> SINGH Manmohan NOVARTIS VACCINES 45 SIDNEY STREET CAMBRIDGE MA 02139 USA	This person is: ☐ applicant only ☒ applicant and inventor ☐ inventor only <i>(If this check-box is marked, do not fill in below.)</i> Applicant's registration No. with the Office
State <i>(that is, country)</i> of nationality: IN	State <i>(that is, country)</i> of residence: US
This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☒ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box	
☒ Further applicants and/or (further) inventors are indicated on another continuation sheet.	

Sheet No. 3

Box No. III FURTHER APPLICANT(S) AND/OR (FURTHER) INVENTOR(S)	
If none of the following sub-boxes is used, this sheet should not be included in the request.	
Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.) UGOZZOLI Mildred NOVARTIS VACCINES 45 SIDNEY STREET CAMBRIDGE MA 02139 USA	This person is: ☐ applicant only ☒ applicant and inventor ☐ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.) Applicant's registration No. with the Office
State (that is, country) of nationality: US	State (that is, country) of residence: US
This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☒ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box	
Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)	This person is: ☐ applicant only ☐ applicant and inventor ☐ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.) Applicant's registration No. with the Office
State (that is, country) of nationality:	State (that is, country) of residence:
This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☐ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box	
Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)	This person is: ☐ applicant only ☐ applicant and inventor ☐ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.) Applicant's registration No. with the Office
State (that is, country) of nationality:	State (that is, country) of residence:
This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☐ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box	
Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)	This person is: ☐ applicant only ☐ applicant and inventor ☐ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.) Applicant's registration No. with the Office
State (that is, country) of nationality:	State (that is, country) of residence:
This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☐ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box	
Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)	This person is: ☐ applicant only ☐ applicant and inventor ☐ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.) Applicant's registration No. with the Office
State (that is, country) of nationality:	State (that is, country) of residence:
This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☐ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box	
☐ Further applicants and/or (further) inventors are indicated on another continuation sheet.	

Supplemental Box*If the Supplemental Box is not used, this sheet should not be included in the request.*

1. If, in any of the Boxes, except Boxes Nos. VIII(i) to (v) for which a special continuation box is provided, the space is insufficient to furnish all the information: in such case, write "Continuation of Box No." (indicate the number of the Box) and furnish the information in the same manner as required according to the captions of the Box in which the space was insufficient, in particular:

- (i) if more than one person is to be indicated as applicant and/or inventor and no "continuation sheet" is available: in such case, write "Continuation of Box No. III" and indicate for each additional person the same type of information as required in Box No. III. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below;
- (ii) if, in Box No. II or in any of the sub-boxes of Box No. III, the indication "the States indicated in the Supplemental Box" is checked: in such case, write "Continuation of Box No. II" or "Continuation of Box No. III" or "Continuation of Boxes No. II and No. III" (as the case may be), indicate the name of the applicant(s) involved and, next to (each) such name, the State(s) (and/or, where applicable, ARIPO, Eurasian, European or OAPI patent) for the purposes of which the named person is applicant;
- (iii) if, in Box No. II or in any of the sub-boxes of Box No. III, the inventor or the inventor/applicant is not inventor for the purposes of all designated States or for the purposes of the United States of America: in such case, write "Continuation of Box No. II" or "Continuation of Box No. III" or "Continuation of Boxes No. II and No. III" (as the case may be), indicate the name of the inventor(s) and, next to (each) such name, the State(s) (and/or, where applicable, ARIPO, Eurasian, European or OAPI patent) for the purposes of which the named person is inventor;
- (iv) if, in addition to the agent(s) indicated in Box No. IV, there are further agents: in such case, write "Continuation of Box No. IV" and indicate for each further agent the same type of information as required in Box No. IV;
- (v) if, in Box No. VI, there are more than four earlier applications whose priority is claimed: in such case, write "Continuation of Box No. VI" and indicate for each additional earlier application the same type of information as required in Box No. VI.

CONTINUATION BOX NO. IV

HOWICK, Nicholas Keith
 FISHER, Adrian John
 MERCER, Christopher Paul
 HALLYBONE, Huw George
 HOWARD, Paul Nicholas
 JACKSON, Richard Eric
 JAMES, Anthony Christopher W.P.
 COCKERTON, Bruce Roger
 MARSHALL, Cameron John
 GOODFELLOW, Hugh Robin
 TUNSTALL, Christopher Stephen
 KIRSCH, Susan Edith
 SMALL, Gary James
 WARNER, James Alexander
 BULLETT, Rachel Margaret

All of Carpmaels & Ransford
 43 - 45 Bloomsbury Square
 London WC1A 2RA
 United Kingdom

Tel: 0207 242 8692

Fax: 0207 405 4166

The sequence listing in electronic form is identical in content to the written sequence listing.

2. If the applicant intends to make an indication of the wish that the international application be treated, in certain designated States, as an application for a patent of addition, certificate of addition, inventor's certificate of addition or utility certificate of addition: in such a case, write the name or two-letter code of each designated State concerned and the indication "patent of addition," "certificate of addition," "inventor's certificate of addition" or "utility certificate of addition," the number of the parent application or parent patent or other parent grant and the date of grant of the parent patent or other parent grant or the date of filing of the parent application (Rules 4.11(a)(i) and 49bis.1(a) or (b)).
3. If the applicant intends to make an indication of the wish that the international application be treated, in the United States of America, as a continuation or continuation-in-part of an earlier application: in such a case, write "United States of America" or "US" and the indication "continuation" or "continuation-in-part" and the number and the filing date of the parent application (Rules 4.11(a)(ii) and 49bis.1(d)).

Sheet No. 5.....

Box No. V DESIGNATIONS

The filing of this request constitutes under Rule 4.9(a) the designation of all Contracting States bound by the PCT on the international filing date, for the grant of every kind of protection available and, where applicable, for the grant of both regional and national patents.

However,

- ☐ DE Germany is not designated for any kind of national protection
- ☐ JP Japan is not designated for any kind of national protection
- ☐ KR Republic of Korea is not designated for any kind of national protection
- ☐ RU Russian Federation is not designated for any kind of national protection

(The check-boxes above may only be used to exclude (irrevocably) the designations concerned if, at the time of filing or subsequently under Rule 26bis.1, the international application contains in Box No. VI a priority claim to an earlier national application filed in the particular State concerned, in order to avoid the ceasing of the effect, under the national law, of this earlier national application.)

Box No. VI PRIORITY CLAIM

The priority of the following earlier application(s) is hereby claimed:

Filing date of earlier application (day/month/year)	Number of earlier application	Where earlier application is:		
		national application: country or Member of WTO	regional application: regional Office	international application: receiving Office
item (1) 19th October 2007 (19/10/2007)	60/999590	US		
item (2)				
item (3)				
item (4)				

☐ Further priority claims are indicated in the Supplemental Box.

Transmit certified copy: the receiving Office is requested to prepare and transmit to the International Bureau a certified copy of the earlier application(s) *(only if the earlier application was filed with the Office which for the purposes of this international application is the receiving Office)* identified above as:

☐ all items ☐ item (1) ☐ item (2) ☐ item (3) ☐ item (4) ☐ other, see Supplemental Box

Restore the right of priority: the receiving Office is requested to restore the right of priority for the earlier application(s) identified above or in the Supplemental Box as item(s) (_____). *(See also the Notes to Box No. VI; further information must be provided to support a request to restore the right of priority.)*

Incorporation by reference: where an element of the international application referred to in Article 11(1)(iii)(d) or (e) or a part of the description, claims or drawings referred to in Rule 20.5(a) is not otherwise contained in this international application but is completely contained in an earlier application whose priority is claimed on the date on which one or more elements referred to in Article 11(1)(iii) were first received by the receiving Office, that element or part is, subject to confirmation under Rule 20.6, incorporated by reference in this international application for the purposes of Rule 20.6.

Box No. VII INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

Choice of International Searching Authority (ISA) *(if more than one International Searching Authority is competent to carry out the international search, indicate the Authority chosen; the two-letter code may be used):*

ISA/ EP

Sheet No. 6

Box No. IX CHECK LIST; LANGUAGE OF FILING

This international application contains:

(a) **on paper**, the following number of sheets:

request (including declaration and supplemental sheets) : 6

description (excluding sequence listing and/or tables related thereto) : 27

claims : 1

abstract : 1

drawings : 2

Sub-total number of sheets : 37

sequence listing : 8

tables related thereto :

(for both, actual number of sheets if filed on paper, whether or not also filed in electronic form; see (c) below)

Total number of sheets : 45(b) ☐ **only in electronic form** (Section 801(a)(i))(i) ☐ sequence listing(ii) ☐ tables related thereto(c) ☐ **also in electronic form** (Section 801(a)(ii))(i) ☐ sequence listing(ii) ☐ tables related thereto**Type and number of carriers** (diskette, CD-ROM, CD-R or other) on which are contained the☒ sequence listing: CD-R☐ tables related thereto:

(additional copies to be indicated under items 9(ii) and/or 10(ii), in right column)

This international application is accompanied by the following item(s) (mark the applicable check-boxes below and indicate in right column the number of each item):

1. ☒ fee calculation sheet2. ☐ original separate power of attorney3. ☐ original general power of attorney4. ☒ copy of general power of attorney; reference number, if any: 15. ☐ statement explaining lack of signature6. ☐ priority document(s) identified in Box No. VI as item(s):7. ☐ translation of international application into (language):8. ☐ separate indications concerning deposited microorganism or other biological material9. ☒ sequence listing in electronic form (indicate type and number of carriers)(i) ☒ copy submitted for the purposes of international search under Rule 13ter only (and not as part of the international application):(ii) ☐ (only where check-box (b)(i) or (c)(i) is marked in left column) additional copies including, where applicable, the copy for the purposes of international search under Rule 13ter(iii) ☒ together with relevant statement as to the identity of the copy or copies with the sequence listing mentioned in left column: See sht 410. ☐ tables in electronic form related to sequence listing (indicate type and number of carriers)(i) ☐ copy submitted for the purposes of international search under Section 802(b-quater) only (and not as part of the international application)(ii) ☐ (only where check-box (b)(ii) or (c)(ii) is marked in left column) additional copies including, where applicable, the copy for the purposes of international search under Section 802(b-quater)(iii) ☐ together with relevant statement as to the identity of the copy or copies with the tables mentioned in left column11. ☐ copy of results of earlier search(es) (Rule 12bis.1(a))12. ☐ other (specify):**Figure of the drawings** which should accompany the abstract: 1**Language of filing** of the international application: English**Box No. X SIGNATURE OF APPLICANT, AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE**

Next to each signature, indicate the name of the person signing and the capacity in which the person signs (if such capacity is not obvious from reading the request).



MARSHALL, Cameron John

For receiving Office use only

1. Date of actual receipt of the purported international application:

17 OCTOBER 2008 / 17-10-2008

3. Corrected date of actual receipt due to later but timely received papers or drawings completing the purported international application:

4. Date of timely receipt of the required corrections under PCT Article 11(2):

5. International Searching Authority (if two or more are competent): ISA /

6. ☐ Transmittal of search copy delayed until search fee is paid

2. Drawings:

☐ received:☐ not received:

For International Bureau use only

Date of receipt of the record copy by the International Bureau:

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
23 April 2009 (23.04.2009)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2009/050586 A1

(51) International Patent Classification:
A61K 39/095 (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/IB2008/003283

(22) International Filing Date: 17 October 2008 (17.10.2008)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/999,590 19 October 2007 (19.10.2007) US

(71) Applicant (for all designated States except US): **NOVARTIS AG** [CH/CH]; Lichtstrasse 35, CH-4056 Basel (CH).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): **CONTORNI, Mario** [IT/IT]; Novartis Vaccines, Via Fiorentina 1, I-53100 Siena (IT). **KAZZAZ, Jina** [US/US]; Novartis Vaccines, 45 Sidney Street, Cambridge, MA 02139 (US). **O'HAGAN, Derek** [US/US]; Novartis Vaccines, 45 Sidney Street, Cambridge, MA 02139 (US). **SINGH, Manmohan** [IN/US]; Novartis Vaccines, 45 Sidney Street, Cambridge, MA 02139 (US). **UGOZZOLI, Mildred** [US/US]; Novartis Vaccines, 45 Sidney Street, Cambridge, MA 02139 (US).

(74) Agents: **MARSHALL, Cameron, John et al.**; Carpmiels & Ransford, 43-45 Bloomsbury Square, London WC1A 2RA (GB).

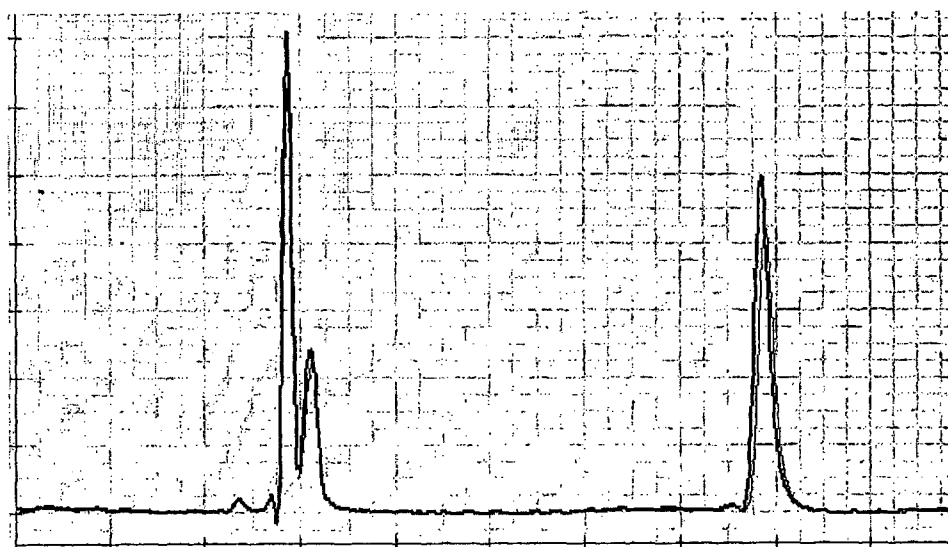
(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

[Continued on next page]

(54) Title: MENINGOCOCCAL VACCINE FORMULATIONS

Figure 1



(57) Abstract: A dual formulation for vaccines against *Neisseria meningitidis* serogroup B ('Men-B') comprises (i) an oil-in-water emulsion adjuvant and (ii) a Men-B immunogenic component in lyophilised form. The lyophilised Men-B antigens can be reconstituted into liquid adjuvanted form at the time of use ready for administration to a patient. This formulation has been found to give excellent result in terms of both stability and immunogenicity. The lyophilised component can also include one or more conjugated saccharides from *N. meningitidis* in serogroups A, C, W135 and/or Y.



Published:

- *with international search report*
- *before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments*

- *with sequence listing part of description published separately in electronic form and available upon request from the International Bureau*

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2008/003283

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61K39/095

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)
A61K

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)

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	GRANOFF D M ET AL: "MF59 adjuvant enhances antibody responses of infant baboons immunized with Haemophilus influenzae type b and Neisseria meningitidis group C oligosaccharide-CRM197 conjugate vaccine" INFECTION AND IMMUNITY, AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY. WASHINGTON, vol. 65, no. 5, 1 May 1997 (1997-05-01), pages 1710-1715, XP002081016 ISSN: 0019-9567 cited in the application the whole document ----- -/--	1-9

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family 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.

G document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

20 March 2009

Date of mailing of the international search report

30/03/2009

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040.
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Schneider, Patrick

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2008/003283

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	ARIGITA C ET AL: "Stability of mono- and trivalent meningococcal outer membrane vesicle vaccines" VACCINE, BUTTERWORTH SCIENTIFIC. GUILDFORD, GB, vol. 22, no. 5-6, 26 January 2004 (2004-01-26), pages 630-643, XP004485193 ISSN: 0264-410X the whole document -----	1-9
Y	WO 2007/100699 A (NOVARTIS AG [CH]; O'HAGAN DEREK T [US]; SINGH MANMOHAN [US]; WENDORF J) 7 September 2007 (2007-09-07) page 52; claims 1-61 -----	1-9
A	EP 1 741 443 A (CHIRON CORP [US]; STATENS INST FOR FOLKEHELSE [NO] NOVARTIS VACCINES &) 10 January 2007 (2007-01-10) the whole document -----	
A	SINGH M ET AL: "A preliminary evaluation of alternative adjuvants to alum using a range of established and new generation vaccine antigens" VACCINE, BUTTERWORTH SCIENTIFIC. GUILDFORD, GB, vol. 24, no. 10, 6 March 2006 (2006-03-06), pages 1680-1686, XP025151148 ISSN: 0264-410X [retrieved on 2006-03-06] the whole document -----	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/IB2008/003283

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2007100699	A	07-09-2007	AU 2007221154 A1	07-09-2007
			CA 2643322 A1	07-09-2007
			EP 1991204 A2	19-11-2008
EP 1741443	A	10-01-2007	NONE	

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION CONCERNING
SUBMISSION OR TRANSMITTAL
OF PRIORITY DOCUMENT

(PCT Administrative Instructions, Section 411)

To:

MARSHALL, Cameron, John
Carpmaels & Ransford
43-45 Bloomsbury Square
London WC1A 2RA
ROYAUME-UNI

Date of mailing (day/month/year) 14 January 2009 (14.01.2009)	
Applicant's or agent's file reference P051966WO	IMPORTANT NOTIFICATION
International application No. PCT/IB2008/003283	International filing date (day/month/year) 17 October 2008 (17.10.2008)
International publication date (day/month/year) Not yet published	Priority date (day/month/year) 19 October 2007 (19.10.2007)
Applicant NOVARTIS AG et al	

1. By means of this Form, which replaces any previously issued notification concerning submission or transmittal of priority documents, the applicant is hereby notified of the date of receipt by the International Bureau of the priority document(s) relating to all earlier application(s) whose priority is claimed. Unless otherwise indicated by the letters "NR", in the right-hand column or by an asterisk appearing next to a date of receipt, the priority document concerned was submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b).
2. (If applicable) The letters "NR" appearing in the right-hand column denote a priority document which, on the date of mailing of this Form, had not yet been received by the International Bureau under Rule 17.1(a) or (b). Where, under Rule 17.1(a), the priority document must be submitted by the applicant to the receiving Office or the International Bureau, but the applicant fails to submit the priority document within the applicable time limit under that Rule, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.
3. (If applicable) An asterisk (*) appearing next to a date of receipt, in the right-hand column, denotes a priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a) or (b) (the priority document was received after the time limit prescribed in Rule 17.1(a) or the request to prepare and transmit the priority document was submitted to the receiving Office after the applicable time limit under Rule 17.1(b)). Even though the priority document was not furnished in compliance with Rule 17.1(a) or (b), the International Bureau will nevertheless transmit a copy of the document to the designated Offices, for their consideration. In case such a copy is not accepted by the designated Office as the priority document, Rule 17.1(c) provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

Priority date	Priority application No.	Country or regional Office or PCT receiving Office	Date of receipt of priority document
19 October 2007 (19.10.2007)	60/999,590	US	09 January 2009 (09.01.2009)

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No. +41 22 338 82 70	Authorized officer Cecile Chatel e-mail RO.IB@WIPO.INT Telephone No. +41 22 338 92 22
---	--

**PCT
PETITORIO**

El abajo firmante solicita que la presente solicitud internacional sea procesada de acuerdo al Tratado de Cooperación en Materia de Patentes

Para uso de la Oficina receptora solamente

PCT/IB08/003283
No. de Solicitud Internacional
17 de Octubre de 2008
Fecha de presentación internacional
SOLICITUD INTERNACIONAL DEL PCT RO/US
Nombre de la oficina receptora y "Solicitud Internacional de PCT"
Referencia de archivo del solicitante o agente
(si se desea) (12 caracteres máximo) P051966WO

Cuadro No. 1 TITULO DE LA INVENCION	
FORMULACIONES DE VACUNA MENINGOCÓCICA	
Cuadro No. II SOLICITANTE	
☐ Esta persona es también inventor	
Nombre y dirección: (Apellido, seguido por nombre propio; para una entidad legal, designación oficial completa. La dirección debe incluir código postal y nombre del país. El país de la dirección indicada, en esté cuadro es el estado del solicitante (Es decir, el país) de residencia, si no se indica el estado de residencia, posteriormente).	No. de teléfono
NOVARTIS AG Lichtstrasse 35 4056 Basel Suiza	No. de facsímil
	Registro del Solicitante No. con la Oficina
	Dirección de Correo-e:
☐ Autorización por Correo electrónico: La marcación de este cuadro autoriza a la Oficina receptora, a la Autoridad de Búsqueda Internacional, a la Oficina Internacional y a la Autoridad de Examen Preliminar Internacional a usar la dirección de correo electrónico indicada en este cuadro para enviar, si así lo desea la Oficina o la Autoridad, copias por adelantado de las notificaciones con respecto a esta solicitud internacional. (Ver también notas a los cuadros II y III.)	
Estado (es decir, país) de nacionalidad: CH	Estado (es decir, país) de residencia: CH
Esta persona es solicitante ☐ todos los países designados ☒ todos los países designados excepto ☐ los Estados Unidos de los Estados Unidos de Norteamérica ☐ los países indicados en los Estados Unidos de Norteamérica solamente ☐ los países indicados en el cuadro complementario	
Cuadro No. III SOLICITANTES ADICIONALES Y/O INVENTORES (ADICIONALES)	
☒ Los solicitantes adicionales y/o inventores (adicionales) se indican en una hoja de continuación.	
Cuadro No. IV AGENTE O REPRESENTANTE COMUN; O DIRECCION PARA CORRESPONDENCIA	
La persona identificada posteriormente es/ha sido citada para actuar en nombre del(los) solicitante(s) ante las Autoridades Internacionales competentes como:	☒ agente ☐ representante común
Nombre y dirección: (Apellido, seguido por nombre propio; para una entidad legal, designación oficial completa. La dirección debe incluir código postal y nombre del país). MARSHALL, Cameron, John CARPMAELS & RANSFORD 43-45 BLOOMSBURY SQUARE LONDRES WC1A 2RA GB	No. de teléfono 020 7242 8692
	No. de facsímil 020 7405 4166
	No. de registro de agente con la oficina
☐ Autorización por Correo electrónico: La marcación de este cuadro autoriza a la Oficina receptora, a la Autoridad de Búsqueda Internacional, a la Oficina Internacional y a la Autoridad de Examen Preliminar Internacional a usar la dirección de correo electrónico indicada en este cuadro para enviar, si así lo desea la Oficina o la Autoridad, copias por adelantado de las notificaciones con respecto a esta solicitud internacional. (Ver también notas a los cuadros II y III.)	
☐ Marque este recuadro cuando ningún agente o representante común es/haya sido citado y el espacio anterior se usa en su lugar para indicar una dirección especial a la cual se debe enviar la correspondencia.	

Continuación del recuadro No. III SOLICITANTES ADICIONALES Y/O INVENTORES (ADICIONALES)			
Si ninguno de los subcuadros siguientes se utiliza, esta hoja no debe ser incluida en el petitorio			
Nombre y dirección: (Apellido, seguido por nombre propio; para una entidad legal, designación oficial completa. La dirección debe incluir código postal y nombre del país. El país de la dirección indicada, en esté cuadro es el estado del solicitante (Es decir, el país) de residencia, si no se indica el estado de residencia, posteriormente). CONTORNI, Mario NOVARTIS VACCINES VIA FIORENTINA 1 53100 SIENA ITALIA		Esta persona es: ☐ solicitante solamente ☒ solicitante e inventor ☐ inventor solamente (si se marca este cuadro, no llenar lo que sigue) Registro del Solicitante No. con la Oficina	
Estado (es decir, país) de nacionalidad: IT		Estado (es decir, país) de residencia: IT	
Esta persona es solicitante ☐ todos los países designados ☐ todos los países designados excepto ☒ los Estados Unidos de Norteamérica solamente ☐ los países indicados en para los propósitos de los Estados Unidos de Norteamérica el cuadro complementario			
Nombre y dirección: (Apellido, seguido por nombre propio; para una entidad legal, designación oficial completa. La dirección debe incluir código postal y nombre del país. El país de la dirección indicada, en esté cuadro es el estado del solicitante (Es decir, el país) de residencia, si no se indica el estado de residencia, posteriormente). KAZZAZ, Jina NOVARTIS VACCINES 45 SIDNEY STREET CAMBRIDGE MA 02139 EUA		Esta persona es: ☐ solicitante solamente ☒ solicitante e inventor ☐ inventor solamente (si se marca este cuadro, no llenar lo que sigue) Registro del Solicitante No. con la Oficina	
Estado (es decir, país) de nacionalidad: US		Estado (es decir, país) de residencia: US	
Esta persona es solicitante ☐ todos los países designados ☐ todos los países designados excepto ☒ los Estados Unidos de Norteamérica solamente ☐ los países indicados en para los propósitos de los Estados Unidos de Norteamérica el cuadro complementario			
Nombre y dirección: (Apellido, seguido por nombre propio; para una entidad legal, designación oficial completa. La dirección debe incluir código postal y nombre del país. El país de la dirección indicada, en esté cuadro es el estado del solicitante (Es decir, el país) de residencia, si no se indica el estado de residencia, posteriormente). O'HAGAN, Derek NOVARTIS VACCINES 45 SIDNEY STREET CAMBRIDGE MA 02139 EUA		Esta persona es: ☐ solicitante solamente ☒ solicitante e inventor ☐ Inventor solamente (si se marca este cuadro, no llenar lo que sigue) Registro del Solicitante No. con la Oficina	
Estado (es decir, país) de nacionalidad: US		Estado (es decir, país) de residencia: US	
Esta persona es solicitante ☐ todos los países designados ☐ todos los países designados excepto ☒ los Estados Unidos de Norteamérica solamente ☐ los países indicados en para los propósitos de los Estados Unidos de Norteamérica el cuadro complementario			
Nombre y dirección: (Apellido, seguido por nombre propio; para una entidad legal, designación oficial completa. La dirección debe incluir código postal y nombre del país. El país de la dirección indicada, en esté cuadro es el estado del solicitante (Es decir, el país) de residencia, si no se indica el estado de residencia, posteriormente). SINGH, Manmohan NOVARTIS VACCINES 45 SIDNEY STREET CAMBRIDGE MA 02139 EUA		Esta persona es: ☐ solicitante solamente ☒ solicitante e inventor ☐ inventor solamente (si se marca este cuadro, no llenar lo que sigue) Registro del Solicitante No. con la Oficina	
Estado (es decir, país) de nacionalidad: IN		Estado (es decir, país) de residencia: US	
Esta persona es solicitante ☐ todos los países designados ☐ todos los países designados excepto ☒ los Estados Unidos de Norteamérica solamente ☐ los países indicados en para los propósitos de los Estados Unidos de Norteamérica el cuadro complementario			
☒ Los solicitantes adicionales y/o inventores (adicionales) se indican en una hoja de continuación.			

Continuación del recuadro No. III SOLICITANTES ADICIONALES Y/O INVENTORES (ADICIONALES)	
Si ninguno de los subcuadros siguientes se utiliza, esta hoja no debe ser incluida en el petitorio	
Nombre y dirección: (Apellido, seguido por nombre propio; para una entidad legal, designación oficial completa. La dirección debe incluir código postal y nombre del país. El país de la dirección indicada, en este cuadro es el estado del solicitante (Es decir, el país) de residencia, si no se indica el estado de residencia, posteriormente). UGOZZOLI, Mildred NOVARTIS VACCINES 45 SIDNEY STREET CAMBRIDGE MA 02139 EUA	Esta persona es: ☐ solicitante solamente ☒ solicitante e inventor ☐ inventor solamente (si se marca este cuadro, no llenar lo que sigue) Registro del Solicitante No. con la Oficina
Estado (es decir, país) de nacionalidad: US	Estado (es decir, país) de residencia: US
Esta persona es solicitante ☐ todos los países designados ☐ todos los países designados excepto ☒ los Estados Unidos de Norteamérica solamente ☐ los países indicados en para los propósitos de los Estados Unidos de Norteamérica el cuadro complementario	
Nombre y dirección: (Apellido, seguido por nombre propio; para una entidad legal, designación oficial completa. La dirección debe incluir código postal y nombre del país. El país de la dirección indicada, en este cuadro es el estado del solicitante (Es decir, el país) de residencia, si no se indica el estado de residencia, posteriormente).	Esta persona es: ☐ solicitante solamente ☐ solicitante e inventor ☐ inventor solamente (si se marca este cuadro, no llenar lo que sigue) Registro del Solicitante No. con la Oficina
Estado (es decir, país) de nacionalidad:	Estado (es decir, país) de residencia:
Esta persona es solicitante ☐ todos los países designados ☐ todos los países designados excepto ☐ los Estados Unidos de Norteamérica solamente ☐ los países indicados en para los propósitos de los Estados Unidos de Norteamérica el cuadro complementario	
Nombre y dirección: (Apellido, seguido por nombre propio; para una entidad legal, designación oficial completa. La dirección debe incluir código postal y nombre del país. El país de la dirección indicada, en este cuadro es el estado del solicitante (Es decir, el país) de residencia, si no se indica el estado de residencia, posteriormente).	Esta persona es: ☐ solicitante solamente ☐ solicitante e inventor ☐ inventor solamente (si se marca este cuadro, no llenar lo que sigue) Registro del Solicitante No. con la Oficina
Estado (es decir, país) de nacionalidad:	Estado (es decir, país) de residencia:
Esta persona es solicitante ☐ todos los países designados ☐ todos los países designados excepto ☐ los Estados Unidos de Norteamérica solamente ☐ los países indicados en para los propósitos de los Estados Unidos de Norteamérica el cuadro complementario	
Nombre y dirección: (Apellido, seguido por nombre propio; para una entidad legal, designación oficial completa. La dirección debe incluir código postal y nombre del país. El país de la dirección indicada, en este cuadro es el estado del solicitante (Es decir, el país) de residencia, si no se indica el estado de residencia, posteriormente).	Esta persona es: ☐ solicitante solamente ☐ solicitante e inventor ☐ inventor solamente (si se marca este cuadro, no llenar lo que sigue) Registro del Solicitante No. con la Oficina
Estado (es decir, país) de nacionalidad:	Estado (es decir, país) de residencia:
Esta persona es solicitante ☐ todos los países designados ☐ todos los países designados excepto ☐ los Estados Unidos de Norteamérica solamente ☐ los países indicados en para los propósitos de los Estados Unidos de Norteamérica el cuadro complementario	
Nombre y dirección: (Apellido, seguido por nombre propio; para una entidad legal, designación oficial completa. La dirección debe incluir código postal y nombre del país. El país de la dirección indicada, en este cuadro es el estado del solicitante (Es decir, el país) de residencia, si no se indica el estado de residencia, posteriormente).	Esta persona es: ☐ solicitante solamente ☐ solicitante e inventor ☐ inventor solamente (si se marca este cuadro, no llenar lo que sigue) Registro del Solicitante No. con la Oficina
Estado (es decir, país) de nacionalidad:	Estado (es decir, país) de residencia:
Esta persona es solicitante ☐ todos los países designados ☐ todos los países designados excepto ☐ los Estados Unidos de Norteamérica solamente ☐ los países indicados en para los propósitos de los Estados Unidos de Norteamérica el cuadro complementario	

Cuadro complementario. Si no se utiliza el cuadro complementario, esta hoja no necesita ser incluida en el petitorio

1. Si en alguno de los cuadros, el espacio es insuficiente para proveer toda la información en particular:

(i) si más de dos personas están involucradas como solicitantes y/o inventores y no está disponible "hoja de continuación": en tal caso, escriba "Continuación de cuadro III" e indique para cada persona adicional el mismo tipo de información como se requiera en el cuadro No. III

(ii) si en el cuadro II o en cualquiera de los subcuadros del cuadro III, la indicación se verifica "los países indicados en el cuadro complementario": en tal caso, escriba "Continuación del cuadro No. II" o "Continuación del cuadro III" o "Continuación de los cuadros No. II y No. III" (como pueda ser el caso), indique el nombre del(los) solicitante(s) involucrado(s) y, enseguida de (cada) tal nombre, el(los) país(es) (y/o, en donde sea aplicable, ARIPO, patente europea o patente OAPI) para los propósitos de los cuales la persona nombrada es solicitante;

(iii) si en el cuadro II o en cualquiera de los subcuadros del cuadro III, el inventor o el inventor/solicitante no es inventor para los propósitos de todos los países designados o para los propósitos de los Estados Unidos de Norteamérica: en tal caso, escriba "Continuación del cuadro II" o "Continuación del cuadro No. III" o "Continuación de los cuadros II y III" (como pueda ser el caso), indique el nombre del(los) inventor(es) y enseguida de (cada) tal nombre, el(los) país(es) (y/o en donde sea aplicable, patente ARIPO, patente europea o patente OAPI) para los propósitos de los cuales la persona nombrada es inventor;

(iv) si, además del(los) agente(s) indicado(s) en el cuadro No. IV, hay agentes adicionales: en tal caso, escriba "Continuación del cuadro No. IV" e indique para cada agente adicional el mismo tipo de información como se requiere en el cuadro No. IV;

(v) si en el cuadro V, el nombre de algún país (o OAPI) está acompañado por la indicación "patente de adición," o "certificado de adición," o si en el cuadro V, el nombre de los Estados Unidos de Norteamérica está acompañado por una indicación "Continuación" o "Continuación en parte": en tal caso, escriba "Continuación del cuadro No. V" y el nombre de cada país involucrado (o OAPI) y después el nombre de cada país (o OAPI), el número del título original o solicitud original y la fecha de concesión del título de la patente o presentación de la solicitud original

(vi) si hay más de tres solicitudes anteriores cuya prioridad es reivindicada: en tal caso, escriba "Continuación del cuadro No. VI" e indique para cada solicitud anterior original el mismo tipo de información como se requiere en el cuadro No. VI.

2. Si el solicitante reclama, con respecto a la Oficina designada, los beneficios de las estipulaciones de la ley nacional concerniente a descripciones no injustas o excepciones a la ley de novedad:

3. si el solicitante reivindica, con respecto a cualquier oficina designada, los beneficios de las cláusulas de la ley nacional concierne a descripciones no perjudiciales o excepciones a la carencia de novedad: en tal caso, escriba "Declaración concerniente con descripciones no injustas o excepciones a la carencia de novedad" y proporcione aquella declaración posteriormente.

Continuación del recuadro IV:

HOWICK, Nicholas Keith
FISHER, Adrian John
MERCER, Christopher Paul
HALLYBONE, Huw George
HOWARD, Paul Nicholas
JACKSON, Richard Eric
JAMES, Anthony Christopher W.P.
COCKERTON, Bruce Roger
MARSHALL, Cameron John
GOODFELLOW, Hugh Robin
TUNSTALL, Christopher Stephen
KIRSCH, Susan Edith
SMALL, Gary James
WARNER, James Alexander
BULLETT, Rachel Margaret

Todos de Carpmals & Ransford
43 – 45 Bloomsbury Square
Londres WC1A 2RA
Reino Unido

Tel: 0207 242 8692

Fax: 0207 405 4166

El listado de secuencias en forma electrónica es idéntico en
Contenido al listado de secuencias escrito

Cuadro No. V DESIGNACIONES

La presentación de este petitorio constituye de acuerdo con la Regla 4.9(a), la designación de todos los Estados Contratantes unidos por el PCT en la fecha de presentación internacional, para la concesión de cualquier clase de protección disponible y, donde se aplica para la otorgación tanto de patentes regionales como nacionales.

Sin embargo

☐ DE Alemania no se designa para ninguna clase de protección nacional

☐ JP Japón no se designa para ninguna clase de protección nacional

☐ KR República de Corea no se designa para ninguna clase de protección nacional

☐ RU Federación Rusa no se designa para ninguna clase de protección nacional

(Los cuadro anteriores puede ser usados para excluir (irrevocablemente) las designaciones relacionadas a fin de evitar el cese del efecto, bajo la ley nacional, de una solicitud nacional anterior de la cual se reclama la prioridad. Ver Notas de Cuadro No. V en cuanto a las consecuencias de estas cláusulas en las leyes nacionales en estos y otros Estados.).

Cuadro No. VI REIVINDICACIÓN DE PRIORIDAD

Fecha de presentación (día, mes, año)	No. de solicitud	Donde la solicitud anterior es:		
		solicitud nacional país o miembro de la WTO	Solicitud regional* Oficina regional	Solicitud Internacional: Oficina Receptora
Ítem (1) 19 de Octubre de 2007 (19.10.2007)	60/999590	US		
Ítem (2)				
Ítem (3)				
Ítem (4)				

☒ Las reivindicaciones de prioridad adicionales indican en el cuadro complementario

Se pide a la oficina receptora para preparar y transmitir a la oficina internacional una copia certificada de las solicitudes anteriores (sólo si la solicitud anterior presento con la oficina que para los propósitos de esta solicitud internacional es la oficina receptora) identificada como:

☐ todos los puntos ☐ punto (1) ☐ punto (2) ☐ punto (3) ☐ punto (4) ☐ punto (5) ☒ otros, ver cuadro complementario

Restaurar el derecho de prioridad: se pide a la oficina receptora que restaure el derecho de prioridad para las solicitudes anteriores identificadas anteriormente o en cuadro complementario como puntos (____). (Ver también las notas al Cuadro No. VI; Se debe proporcionar Información adicional para soportar una petición de restaurar el derecho de prioridad):

Incorporación por referencia: donde un elemento de la solicitud internacional referida en el Artículo 11(1)(iii)(d) o (e) o una parte de la descripción, reivindicaciones o figuras referidas en la Regla 20.5(a) no este contenido de otro modo en esta solicitud internacional pero esté contenido completamente en una solicitud anterior cuya prioridad se reivindique en la fecha en la cual uno o más elementos referidos en el Artículo 11(1)(iii) se recibieron primero por la oficina receptora, ese elemento aparte es, se somete a, confirmación de acuerdo con la Regla 20.6 incorporado como referencia en esta solicitud internacional para los propósitos de la Regla 20.6

Cuadro No. VII AUTORIDAD DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Elección de la Autoridad de Búsqueda Internacional (ISA) (Si dos o más Autoridades de Búsqueda Internacional son competentes para llevar a cabo la búsqueda internacional, indique la Autoridad escogida; se puede utilizar el código de dos letras):

ISA/EP

Cuadro No. IX LISTA DE VERIFICACIÓN; IDIOMA DE PRESENTACIÓN		
Esta solicitud internacional contiene: (a) el siguiente número de hojas en forma papel: petitorio (incluyendo hoja de declaración) : 6 descripción (excluyendo parte de listado de secuencias y/o tablas que se relacionan a la misma) : 27 reivindicaciones : 1 resumen : 1 dibujos : 2 Sub-total de número de hojas : 37 Listado de secuencias : 8 Parte de listado de secuencias de las descripción (número real de hojas si se presento en papel, si no ya sea también presentadas en forma libre por computadora o no; ver (b) posterior) : Número total de hojas : 45 (b) ☐ únicamente forma leible por computadora (Sección 801 (a)(ii)) (i) ☐ listados de secuencia (ii) ☐ tablas relacionadas a esto (c) ☐ además forma leible por computadora (Sección 801 (a)(ii)) (i) ☐ listados de secuencia (ii) ☐ tablas relacionadas a esto Tipo y número de portadores (disquete, CD-ROM, CD-R u otros) en los cuales este contenido ☒ listados de secuencia <u>CD-R</u> ☐ tablas relacionadas a esto (copias adicionales que se indican bajo el punto 9(ii) y/o 10(ii), en la columna derecha):	Esta solicitud internacional está acompañada por los siguientes artículos (marcar los cuadro de verificación aplicables a continuación e indicar en la columna derecha el número de cada punto): 1. ☒ hoja de cálculos de las tasas : 1 2. ☐ poder de abogado, separado , original : 3. ☐ poder de abogado general, original : 4. ☒ poder de abogado, general, copia; número de referencia; si lo hay : 1 5. ☐ declaración que explica la carencia de firma: 6. ☐ documentos de prioridad identificados en el cuadro No. VI como punto(s): 7. ☐ traducción de la solicitud internacional en (idioma); 8. ☐ indicaciones separadas que se refieren a los microorganismos depositados u otro material biológico 9. ☒ listado de secuencia en forma libre por computadora (indicar también tipo y número de potadores) (disquete, CD-ROM, CD-R u otros)) (i) ☒ copia presentada para los propósitos de la búsqueda internacional de acuerdo con la Regla 13 únicamente (y no como parte de la solicitud internacional) (ii) ☐ (sólo donde se marque el cuadro de verificación (b) (i) o (c)(ii) en la columna izquierda) copias adicionales incluyen, donde sea aplicable, la copia para los propósitos de la búsqueda internacional de acuerdo con la Regla 13 (iii) ☒ junto con declaración pertinente en cuanto a la identidad de la copia o copias de la parte listado de secuencias mencionada en la columna izquierda :ver hoja 4 10. ☐ tablas en la forma leible por computadora relacionadas al listado de secuencias (indicar tipo y numero de portadores) (i) ☐ copia presentada para los propósitos de la búsqueda internacional de acuerdo con la Sección 802(b-cuarta) únicamente (y no como parte de la solicitud internacional) (ii) ☐ (sólo donde se marque el cuadro de verificación (b) (ii) o (c)(ii) en la columna izquierda) copias adicionales incluyen, donde sea aplicable, la copia para los propósitos de la búsqueda internacional de acuerdo con la Sección 802(b-cuarta) (iii) ☐ junto con declaración pertinente en cuanto a la identidad de la copia o copias de la parte listado de secuencias mencionada en la columna izquierda 11 ☐ copia de los resultados de búsquedas anteriores (Regla 12bis.1(a)) : 12 ☐ otros (especificar):	Número de puntos
Figura de los dibujos que debe el resumen: 1	Idioma de presentación de la solicitud Internacional: Inglés	
Cuadro No. IX FIRMA DEL SOLICITANTE O AGENTE O REPRESENTANTE COMÚN <i>A continuación firmar, indicar el nombre de la persona que firme la capacidad en la cual firma la persona (si esta capacidad no es obvia de la lectura del petitorio)</i>		
(rúbrica) MARSHALL, Cameron John		

Para uso de la Oficina receptora solamente	
1. Fecha del recibo real de la solicitud internacional alegada: 17 de Octubre de 2008 (17-10-2008)	2. Dibujos ☐ recibidos: ☐ no recibidos:
3. Fecha corregida del vencimiento del recibo real a los documentos o dibujos recibidos posteriormente pero a tiempo que complementan la solicitud internacional alegada:	
4. Fecha del recibo a tiempo de las correcciones requeridas bajo el artículo 11(2) del PCT:	
5. Autoridad de Búsqueda Internacional especificada por la solicitante: ISA/	6. ☐ Transmisión de copia de búsqueda retardada hasta que la cuota de búsqueda sea pagada

Para uso de la Oficina Internacional solamente	
Fecha del recibo de la copia de registro por la Oficina Internacional:	
Forma PCT/RO/101 (última hoja) (Julio de 2008)	

Véanse notas a la forma de petitorio

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA BAJO EL TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA PROPIEDAD INTELECTUAL
Oficina Internacional

OMP
PCT



(43) Fecha de Publicación Internacional:
23 de Abril de 2009 (23. 04.2009)

(10) Número de Publicación Internacional:
WO 2009/050586 A1

(51) Clasificación Internacional de Patentes:
A61K 39/095 (2006.01)

Ransford, 43-45 Bloomsbury Square, London WC1A 2RA (GB).

(21) Número de Solicitud Internacional: PCT/IB2008/003283

(22) Fecha de Presentación Internacional:
17 de Octubre de 2008 (17.10.2008)

(25) Idioma Presentado: Inglés

(26) Idioma de Publicación: Inglés

(30) Fecha de Prioridad:
60/999,590 19 de Octubre de 2007 (19.10.2007) US

(71) Solicitante: (para todos los Estados designados excepto US):
NOVARTIS AG [CH/CH]; Lichtstrasse 35, CH-4056 Basel (CH).

(72) Inventor: e

(75) Inventor/Solicitante: (para US únicamente): **CONTORNI, Mario** [IT/IT]; Novartis Vaccines, Via Fiorentina 1, I-53100 Siena (IT). **KAZZAZ, Jina** [US/US]; Novartis Vaccines, 45 Sidney Street, Cambridge, MA 02139 (US). **O'HAGAN, Derek** [US/US]; Novartis Vaccines, 45 Sidney Street, Cambridge, MA 02139 (US). **SINGH, Manmohan** [IN/US]; Novartis Vaccines, 45 Sidney Street, Cambridge, MA 02139 (US). **UGOZZOLI, Mildred** [US/US]; Novartis Vaccines, 45 Sidney Street, Cambridge, MA 02139 (US).

(81) Estados Designados: (a menos que se indique de otro modo, para cada caso de protección nacional disponible): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

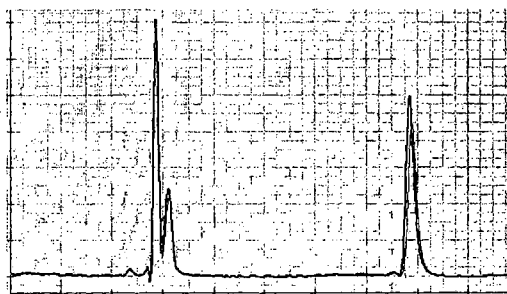
(84) Estados Designados: (a menos que se indique de otro modo, para cada caso de protección regional disponible): patente ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), patente Eurasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), patente Europea (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), patente OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(74) Agente: MARSHALL, Cameron, John et al.; Carpmaels &

[Continúa en la próxima página]

(54) Título: FORMULACIONES DE VACUNA MENINGOCOCICA

Figura 1



(57) Resumen:

Una formulación dual para vacunas contra el serogrupo B de Neisseria meningitidis ("Men-B") comprende (i) un adyuvante de emulsión de aceite en agua y (ii) un componente inmunogénico de Men-B en forma liofilizada. Los antígenos liofilizados de Men-B se pueden reconstituir en forma líquida con adyuvante en el momento de uso listo para administración a un paciente. Se ha encontrado que esta formulación da excelentes resultados en términos tanto de estabilidad como de inmunogenicidad. El componente liofilizado también puede incluir uno o más sacáridos conjugados de N. meningitidis en los serogrupos A, C, W135 y/o Y.

WO 2009/050586 A1

107



Publicada:

- con el reporte de búsqueda internacional
- antes de la expiración del tiempo límite para enmendar las reivindicaciones y para ser vueltas a publicar en el caso de la recepción de las enmiendas
- con parte de listado de secuencias de la descripción publicada de forma separada en forma electrónica y disponible a petición de la Oficina Internacional

'REPORTE DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

No. de Solicitud Internacional
PCT/IB2008/003283

A. CLASIFICACION DEL ASUNTO RELACIONADO INV. A61K 39/095			
De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (IPC) o tanto la clasificación nacional como la IPC.			
B. CAMPOS BUSCADOS			
Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido por los símbolos de clasificación) A61K			
Documentación buscada diferente de la documentación mínima, al grado que estos documentos se incluyen en los campos buscados.			
Base de datos, electrónica, consultada durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos, donde se puede practicar, términos de búsqueda usados). EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data			
C. DOCUMENTOS QUE SE CONSIDERAN PERTINENTES			
Categoría*	Citación del documento, con indicación, donde es apropiado, de los pasajes pertinentes	Pertinente para la reivindicación No.	
Y	GRANOFF D M ET AL: "MF59 adjuvant enhances antibody responses of infant baboons immunized with Haemophilus influenzae type b and Neisseria meningitidis group C oligosaccharide-CRM197 conjugate vaccine" INFECTION AND IMMUNITY, AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, WASHINGTON, vol. 65, no. 5, 01 de Mayo de 1997 (1997-05-01), páginas 1710-1715, XP002081016 ISSN: 0019-9567 citado en la solicitud el documento completo	1-9	
☒ Documentos adicionales se listan en la continuación del cuadro C.		☒ Los miembros de la familia de patentes se listan en el anexo	
* Categoría especial de los documentos citados:			
"A"	documento que define el estado general de la técnica, que no se considera que es de pertinencia particular	"T"	documento posterior publicado después de la fecha de presentación internacional o la fecha de prioridad, y que no provoca conflicto con la solicitud, pero se cita para entender el principio o teoría que trata la invención
"E"	Documento anterior, pero publicado en o después de la fecha de presentación internacional	"X"	documento de pertinencia particular; la invención reivindicada no se puede considerar nueva o no se puede considerar que comprende un actividad inventiva cuando el documento se toma solo
"L"	documento que puede crear dudas de la reivindicación(es) de prioridad o que se cita para establecer la fecha de publicación de otra citación u otra razón especial (como se especifique)	"Y"	documento de pertinencia particular; la invención reivindicada no se puede considerar que comprende un actividad inventiva cuando el documento se combina con uno o más de estos documentos, estas combinaciones son obvias para una persona experta en la técnica
"O"	documento que se refiere a una descripción oral, uso, exhibición u otro medio	"&"	documento miembro de la familia de patentes
"P"	documento publicado antes de la fecha de presentación internacional, pero después de la fecha de prioridad reivindicada		
Fecha de la actual terminación de la búsqueda internacional 20 de Marzo de 2009		Fecha de envío del reporte de búsqueda internacional 30/03/2009	
Nombre y dirección de envío de la ISA/ Oficina Europea de Patentes, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+ 31-70) 340-3016		Funcionario autorizado Schneider, Patrick	

REPORTE DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

No. Solicitud Internacional
PCT/IB2008/003283

DOCUMENTOS QUE SE CONSIDERAN PERTINENTES (continuación)		
Categoría*	Citación del documento, con indicación, donde es apropiado, de los pasajes pertinentes	Pertinente para la Reivindicación No.
Y	ARIGITA C ET AL: “Stability of mono- and trivalent meningococcal outer membrane vesicle vaccines” VACCINE, BUTTERWORTH SCIENTIFIC, GUILDFORD, GB, vol. 22, no. 5-6 26 de Enero de 2004 (2004-01-26), paginas 630-643, XP004485193 ISSN: 0264-410X el documento completo	1-9
Y	WO 2007/100699 A (NOVARTIS AG [CH]; O’HAGAN DEREK T [US]; MANMOHAN [US]; WENDORF J) 07 de Septiembre de 2007 (2007-09-07) página 52; reivindicaciones 1-61	1-9
A	EP 1 741 443 A (CHIRON CORP [US]; STATENS INST FOR FOLKEHELSE [NO] NOVARTIS VACCINES &) 10 de Enero de 2007 (2007-01-10) el documento completo	
A	SINGH M ET AL: “A preliminary evaluation of alternative adjuvants to alum using a range of established and new generation vaccine antigens” VACCINE, BUTTERWORTH SCIENTIFIC, GUILDFORD, GB, vol. 24, no. 10, 06 de marzo de 2006 (2006-03-06), paginas 1680-1686, XP025151148 ISSN: 0264-410X [recuperado el 2006-03-06] el documento completo	

REPORTE DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL
 Información sobre los miembros de familia de patentes

Solicitud Internacional No.:
PCT/IB2008/003283

Documento de la patente citado en el reporte de búsqueda	Fecha de publicación	Miembros de la familia de patentes	Fecha de publicación
WO 2007100699	A 07-09-2007	AU 2007221154 A1	07-09-2007
		CA 2643322 A1	07-09-2007
		EP 1991204 A2	19-11-2008
EP 1741443	A 10-01-2007	NINGUNO	



No. 10-052816- -00000-0000

Fecha: 2010-05-04 15:11:09
Tra. 11 PATENTEIYII
Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Eve: 378 FASENACIONALI
Folios: 111

PATENTE DE INVENCION ☐

MODELO DE UTILIDAD ☐

Art 33 Decisión 486/00

☐

Indicación que se solicita una patente.

☐

Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud

☐

Descripción de la invención

☐

Dibujos de ser estos pertinentes

☐

Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)

Completa ☐

Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☒

MODELO DE UTILIDAD PCT ☐

Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

☒

Indicación que se solicita una PCT

☒

Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)

☒

Dibujos de ser estos pertinentes

☒

Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)

Completa ☒

Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

☐

Indicación que se solicita Diseño industrial

☐

Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud

☐

Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño

☐

Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa ☐

Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

☐

Indicación que se solicita un esquema de trazado

☐

Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud

☐

Representación gráfica de un esquema de trazado

☐

Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa ☐

Incompleta ☐



Bogotá D.C.,
2020

Doctor(a)
RODRIGUEZ D' ALEMAN DILIA MARIA
Apoderado(a) y/o Representante de
NOVARTIS AG

REFERENCIA	Radicación No.	10 052816
	Solicitud internacional	PCT/IB2008/003283
	Fecha inicio fase nacional	09/05/2010
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	

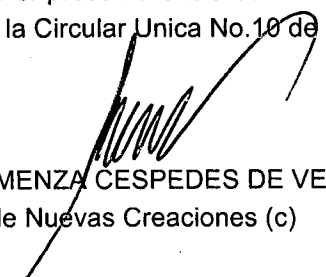
107126

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante, conforme a lo establecido por el artículo 26 literal k) de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina. Cuando se trate de documentos otorgados en el extranjero, estos deberán legalizarse de conformidad con lo dispuesto por los artículos 259 y 260 del Código de Procedimiento Civil. Cuando se trate de las declaraciones a que hace referencia la Regla 4.17 ii) del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes PCT., el alcance de las tales declaraciones se determinará según indiquen claramente una cesión de derechos del inventor al solicitante o su causante, de conformidad con lo dispuesto en el numeral 5.2.15 del Capítulo Quinto, Título X de la Circular Única de Superintendencia de Industria y Comercio.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única No. 10 de 2001.


ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Directora de Nuevas Creaciones (c)

04 JUN 2010

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha _____
adpa11