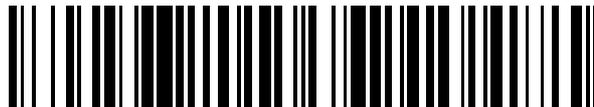


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 558 703**

51 Int. Cl.:

**A61K 39/00** (2006.01)

**A61K 39/085** (2006.01)

**C07K 14/31** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.12.2006 E 06830724 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.11.2015 EP 1962890**

54 Título: **Composición inmunógena**

30 Prioridad:

**21.12.2005 GB 0526038**

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

**08.02.2016**

73 Titular/es:

**GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A. (100.0%)  
RUE DE L'INSTITUT, 89  
1330 RIXENSART, BE**

72 Inventor/es:

**CASTADO, CINDY;  
NEYT, CECILE ANNE y  
POOLMAN, JAN**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

**ES 2 558 703 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

## Composición inmunógena

5 La presente invención se refiere al campo de las composiciones inmunógenas y de las vacunas estafilocócicas, a su elaboración y al uso de dichas composiciones en medicina. Más particularmente, se refiere a composiciones que comprenden un dominio de unión a la inmunoglobulina derivado de la proteína A de *S. aureus* y un dominio de inmunoglobulina derivado de la proteína Sbi. Se describen proteínas de fusión que comprenden un dominio de unión a la IgG procedente de la proteína A y un dominio de unión a la IgG de la Sbi, así como un polinucleótido que codifica para dicha proteína.

10 La proteína A es una proteína bien estudiada asociada a la pared celular de *S. aureus* que se une a las regiones Fc y Fab de la IgG de diversas especies. La proteína A consiste en cinco dominios consecutivos, todos con actividad de unión a la IgG, seguidos de una región que ancla la proteína a la pared celular (Lofdahl y col. 1983 Eur J Biochem 156; 637 - 643). Se ha investigado la proteína A como un componente para una vacuna para su uso en una vacuna contra la mastitis (Carter y Kerr J. Diary Sci 2003 86; 1177 - 1186).

15 Más recientemente se ha identificado la Sbi como una segunda proteína de unión a la IgG expresada por *S. aureus* (Zhang y col. 1998, Microbiology 144; 985 - 991 y Zhang y col. 1999, 145; 177 - 183). La proteína Sbi consiste en aproximadamente 436 aminoácidos y tiene una especificidad de unión a la inmunoglobulina similar a la de la proteína A. La proteína Sbi contiene dos dominios de unión a la IgG hacia el N terminal de la proteína, y un dominio de unión a la apolipoproteína H adicional hacia el C terminal de la Sbi (documento WO 99/24467).

20 Las infecciones por *S. aureus* se tratan con antibióticos, siendo la penicilina el fármaco de elección, mientras que la vancomicina se usa para las cepas clínicas resistentes a la metilicina. El porcentaje de cepas de estafilococos que muestran una resistencia de amplio espectro los antibióticos ha sido cada vez más prevalente desde los años 80 (Panlilo y col. 1992, Infect. Control. Hosp. Epidemiol. 13; 582), presentando una amenaza para la terapia antimicrobiana eficaz. Además, la reciente aparición de cepas de *S. aureus* resistentes a la vancomicina ha provocado el miedo de que aparezcan cepas de *S. aureus* resistentes a la metilicina y se diseminen, para las cuales no hay disponible ninguna terapia eficaz.

25 Se ha investigado una metodología alternativa del uso de anticuerpos contra los antígenos estafilocócicos en la inmunoterapia pasiva. La terapia que implica la administración de antiseros policlonales está en investigación (documento WO 00/15238, documento WO 00/12132).

30 Los intentos de proteger contra una bacteriemia por *S. aureus* en un modelo de rata lactante mediante el uso de varias dosis de un antiseros con la proteína estafilocócica A no tuvieron éxito. Incluso los mayores niveles de anticuerpo no redujeron significativamente la mortalidad, la bacteriemia ni la infección metastásica en los pulmones ni en el hígado (Greenberg y col. Infection and Immunity 57; 1113 - 1118 1989).

35 Permanece la necesidad de desarrollar una vacuna que proteja contra la enfermedad estafilocócica. La provisión de un procedimiento para el bloqueo de uno de los mecanismos de defensa estafilocócicos mejoraría la probabilidad de producir una composición inmunógena eficaz activa o pasiva.

40 Consecuentemente, se proporciona una composición inmunógena que comprende dos polipéptidos estafilocócicos diferentes aislados, comprendiendo cada uno un dominio de unión a la IgG, en la que los polipéptidos estafilocócicos aislados comprenden un polipéptido aislado de la proteína A procedente de *S. aureus* con una secuencia que es idéntica en al menos el 90 % a las SEC ID N°: 12 - 40, y un polipéptido aislado de la Sbi procedente de *S. aureus* que tiene una secuencia que es idéntica en al menos el 90 % a las SEC ID N°: 1 - 11.

45 La divulgación también proporciona un polipéptido que comprende: una parte de la proteína A que tiene una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el 90 % con una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste en las SEC ID N° 12 - 40 y una parte de la Sbi que tiene una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el 90 % con una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste en las SEC ID N° 1 - 11.

Dicho polipéptido comprende los dominios de unión de la IgG de cada una de las proteínas de unión a la IgG conocidas de *S. aureus*, y es una forma conveniente de introducir las secuencias de polipéptidos que permiten la creación de una respuesta inmunitaria contra ambas proteínas de unión a la IgG.

50 En un aspecto más de la invención se proporciona un polinucleótido que comprende una región que codifica para la proteína A que tiene una identidad de al menos el 90 % con una secuencia de polinucleótidos seleccionada de entre el grupo que consiste en las SEC ID N° 54 - 72 y una región que codifica para la Sbi que tiene una identidad de al menos el 90 % con una secuencia de polinucleótidos seleccionada de entre el grupo que consiste en las SEC ID N° 43 - 53.

55 En un aspecto más de la invención, se proporciona un procedimiento para la elaboración de la vacuna de la invención que comprende la etapa de la adición de un excipiente farmacéuticamente aceptable a una composición

que comprende un dominio de la IgG procedente de la proteína A y un dominio de la IgG procedente de la Sbi.

En un aspecto adicional de la invención, se proporciona una composición inmunógena de la invención para su uso en el tratamiento de la prevención de una enfermedad estafilocócica.

5 En un aspecto adicional de la invención, se proporciona un uso de la composición inmunógena de la invención en la preparación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de una enfermedad estafilocócica.

En un aspecto adicional de la divulgación, se proporciona un método para el tratamiento o la prevención de una enfermedad estafilocócica que comprende la administración de la composición inmunógena de la invención a un paciente en necesidad de la misma.

### **Descripción de las figuras**

10 Figura 1 - Dibujo esquemático de la proteína de fusión de Proteína A-Sbi.

Figura 2 - PAGE al 4 - 20 % teñido con azul de Coomassie que muestra la expresión de la proteína de fusión de Proteína A-Sbi. Los carriles 1 y 6 contienen los marcadores de peso molecular, el carril 2 contiene la *E. coli* AR58 antes de la inducción, el carril 3 contiene la *E. coli* AR58 después de 4 horas de inducción, el carril 4 contiene la *E. coli* AR58 transformada con el plásmido de la proteína A-Sbi antes de la inducción, el carril 5 contiene la *E. coli* AR58 transformada con la proteína A-Sbi después de una inducción de 4 horas.

15

Figura 3 - PAGE al 4 - 20 % teñido con azul de Coomassie que muestra la purificación de la proteína de fusión de Proteína A-Sbi. Los carriles 1 y 7 contienen los marcadores de peso molecular, el carril 2 contiene la fracción soluble antes de ser cargada en la columna Hi-Trap, el carril 3 contiene la fracción soluble de un cultivo no inducido, el carril 4 contiene 1 µg de la proteína purificada en la columna, el carril 5 contiene 0,5 µg de la proteína purificada en la columna, el carril 6 contiene 0,25 µg de la proteína purificada en la columna.

20

Figura 4 - Gráfica que muestra un seguimiento de la mortalidad después de una exposición a *S. aureus* 5 Reynolds (3 10E6) en ratones CD1. La línea marcada con triángulos muestra la supervivencia después de la inmunización con células completas inactivadas de *S. aureus* 5 Reynolds coadyuvadas con AIPO4. La línea marcada con rombos muestra la supervivencia después de la inmunización sólo con coadyuvante. La línea marcada con cruces muestra la supervivencia después de la inoculación con proteína A coadyuvada con AIPO4. La línea marcada con cuadrados muestra la supervivencia después de la inoculación con la proteína de fusión de Proteína A-Sbi coadyuvada con AIPO4.

25

Figura 5 - Alineaciones de los aminoácidos de las proteínas proteína A y Sbi procedentes de diferentes cepas de *S. aureus*.

### **Descripción detallada**

La presente solicitud desvela una composición inmunógena que comprende al menos o exactamente dos, tres, cuatro o cinco polipéptidos estafilocócicos diferentes, comprendiendo cada uno un dominio de unión a la IgG. Dicha composición inmunógena puede comprender adicionalmente antígenos adicionales que no comprenden un dominio de unión a la IgG.

35 Un polipéptido estafilocócico se define como un polipéptido que es expresado por una bacteria estafilocócica, por ejemplo, *S. aureus* o *S. epidermidis*. El polipéptido estafilocócico deriva de una cepa estafilocócica o es expresado recombinantemente en un sistema de expresión diferente, por ejemplo en *E. coli*. El polipéptido estafilocócico puede ser una proteína completa o un fragmento de una proteína completa que contiene un dominio de unión a la IgG.

40 Por diferente se entiende que los polipéptidos están codificados por genes individuales. En una forma de realización, los diferentes polipéptidos están presentes en forma de polipéptidos unidos no covalentemente (es decir, proteínas individuales o libres). En una forma de realización, los diferentes polipéptidos están presentes en forma de un conjugado reticulado covalentemente. En una forma de realización, los diferentes polipéptidos están presentes en forma de al menos una proteína de fusión.

45 Un dominio de unión a la IgG es un dominio que es capaz de unirse a la IgG. La interacción entre un antígeno y las regiones de CDR de los dominios Fv que normalmente interactúan con el antígeno contra el cual se crea el anticuerpo, están excluidos de esta definición. Un dominio de unión a la IgG normalmente interactúa con el dominio Fc o con regiones conservadas de los dominios Fab. Se ha analizado la unión del dominio individual de unión a las IgG de la proteína A a los dominios Fc y F(ab')<sub>2</sub> (Jansson y col. FEMS Immunology and Medical Microbiology 20; 69 - 78 1998). Opcionalmente, un dominio de unión a la IgG es capaz de unirse a un anticuerpo o a un fragmento del mismo (tal como Fc o Fab) con una afinidad de 0,1 - 1.000, de 1 - 500, de 1 - 100 o de 5 - 50 x 10<sup>-6</sup> M<sup>-1</sup> o de aproximadamente 10 x 10<sup>-6</sup> M<sup>-1</sup>.

50

Un dominio de unión a la IgG tiene normalmente una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos el 90 %, el 95 % o el 98 % a la de las SEC ID N°: 1, 2 o 12 - 21. Los fragmentos de las SEC ID N° 1, 2 o 12 - 21 que se unen a la IgG y/o que son capaces de generar una respuesta inmunitaria contra la proteína A o la Sbi, también se

consideran como proteínas de unión a la IgG de la divulgación.

La composición inmunógena de la invención comprende un polipéptido de la proteína A procedente de *S. aureus*.

El polipéptido de la proteína A tiene una secuencia que es idéntica en al menos el 90 %, el 95 %, el 98 % o el 100 % a la de las SEC ID N° 12 - 40.

- 5 En una forma de realización, el polipéptido de la proteína A está codificado por un polinucleótido que tiene una secuencia que es idéntica en al menos el 90 %, el 95 %, el 98 % o el 100 % a las SEC ID N°: 54 - 72.

10 La Proteína A es una proteína de 58 kDa que contiene aproximadamente o exactamente 524 aminoácidos (o aproximadamente o exactamente 509 aminoácidos en la proteína madura). Comprende 5 dominios de unión a las IgG (E, D, A, B y C) que están ubicados hacia el N terminal de la proteína según se muestra en la figura 1. Todos los dominios de las IgG de la proteína A comparten una identidad del 91 - 100 % (computada con el programa ClustalW).

15 En una forma de realización, el polipéptido de la proteína A o un fragmento del mismo comprende 1, 2, 3, 4 o 5 dominios de unión a la IgG. Por ejemplo, la composición inmunógena comprende los dominios de unión a la(s) IgG(s), E; D; A; B; C; E y D; D y A; A y B; B y C; E y A; E y B; E y C; D y B; D y C; A y C; E, D y A; D, A y B; A, B y C; E, D, A y B; D, A, B y C; o E, D, A, B y C. Las combinaciones que comprenden E y 1, 2, 3 o 4 dominios de unión adicionales a las IgG seleccionados de entre A, B, C y D están presentes en una forma de realización. Estas combinaciones de dominios de unión a las IgG están presentes en un único polipéptido o pueden estar presentes en 2, 3, 4 o 5 polipéptidos individuales. En una forma de realización, los dominios de la IgG tienen una secuencia de aminoácidos que comprende la secuencia de las SEC ID N°: 12 - 21. Cuando hay presentes múltiples dominios de unión de la proteína A a las IgG, la secuencia puede ser la de las SEC ID N°: 22 - 32.

20 Alternativamente, la secuencia del polipéptido de la proteína A es la totalidad o un fragmento de las SEC ID N° 33 - 40, o parientes que comparten una identidad de al menos el 90 %, el 95 %, el 98 % el 99 % con la secuencia de las SEC ID N°: 33 - 40 o el polipéptido codificado por las SEC ID N° 65 - 72 o variantes que comparten una identidad de al menos el 90 %, el 95 %, el 98 % o el 99 % con las SEC ID N°: 65 - 72. Dicho fragmento comprende al menos 1, 2, 3, 4 o 5 dominios de unión a la IgG. Dicho fragmento contiene opcionalmente al menos 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250 o 300 aminoácidos.

25 La secuencia del dominio de unión de la proteína A a las IgG está representada por las SEC ID N° 12 - 21 y el dominio de unión de la proteína A a las IgG tiene unas secuencias que son idénticas en al menos el 90 %, el 95 %, el 98 % o el 100 % a las SEC ID N° 12 - 21.

30 En una forma de realización, los fragmentos de la proteína A consisten esencialmente en la secuencia de aminoácidos de las SEC ID N° 12 - 32, o adicionalmente comprenden 1, 2, 3, 4, 5, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 aminoácidos adicionales en cualquiera de los extremos N y C terminales de los ID. SEC. 12 - 32. En una forma de realización, la secuencia adicional es la que se encuentra en la proteína A según se establece en las SEC ID N° 33 - 40 o en la Figura 4.

35 Se contemplan variantes específicas del polipéptido de la invención. En particular, el tercer aminoácido del dominio de unión de la proteína A a la IgG D puede ser K o N, el 24° aminoácido del dominio de unión de la proteína A a la IgG D puede ser E o A, el 46° aminoácido del dominio de unión de la proteína A a la IgG A puede ser A o S, el 53° aminoácido del dominio de unión de la proteína A a la IgG A puede ser D o E, el 23° aminoácido del dominio de unión de la proteína A a la IgG B puede ser N o T, el 40° aminoácido del dominio de unión de la proteína A a la IgG B puede ser Q o V, el 42° aminoácido del dominio de unión de la proteína A a la IgG B puede ser A o K, el 43° aminoácido del dominio de unión de la proteína A a la IgG B puede ser N o E y/o el 44° aminoácido del dominio de unión de la proteína A a la IgG B puede ser I o L.

En una forma de realización, se añadió un residuo de M N terminal a la secuencia de las SEC ID N° 1 - 32.

45 La composición inmunógena de la invención comprender un polipéptido de la Sbi procedente de *S. aureus* o un fragmento del mismo que contiene un dominio de unión a la IgG.

La Sbi es una proteína de aproximadamente 48 kDa, que contiene aproximadamente 436 aminoácidos. Hay presentes dos dominios de unión a la IgG hacia el N terminal de la proteína, y la Sbi comprende adicionalmente un dominio de unión a la apolipoproteína H ( $\beta$ 2-GPI) seguido de un dominio rico en prolina (véase la Figura C).

50 En una forma de realización, el polipéptido de la Sbi tiene una secuencia que es idéntica en al menos el 90 %, el 95 %, el 98 % o el 100 % a las SEC ID N°: 1 - 11 o un fragmento de la misma que contiene un dominio de unión a la IgG (que contiene opcionalmente 2 dominios de unión a la IgG). Dicho fragmento contiene opcionalmente al menos 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250 o 300 aminoácidos.

En una forma de realización, el polipéptido de la Sbi está codificado por un polinucleótido que tiene una secuencia que es idéntica en al menos el 90 %, el 95 %, el 98 % o el 100 % a las SEC ID N°: 43 - 53 o un fragmento de la

misma que codifica para un dominio de unión a la IgG (que codifica opcionalmente para 2 dominios de unión a la IgG).

5 Por ejemplo, algunos fragmentos de la Sbi consisten o comprenden en el dominio de unión N terminal a la IgG, el dominio de unión C-terminal a la IgG o ambos dominios de unión a la IgG. En una forma de realización, los fragmentos tienen unas secuencias de aminoácidos que son idénticas en al menos el 90 %, el 95 %, el 98 % o el 100 % a las SEC ID N° 1 - 4.

10 En una forma de realización, los fragmentos de la Sbi consisten esencialmente en la secuencia de aminoácidos de las SEC ID N° 1 - 4, pero adicionalmente comprenden 1, 2, 3, 4, 5, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 aminoácidos adicionales en cualquiera o ambos de los extremos N y C terminales de los ID. SEC. 1 - 4. En una forma de realización, la secuencia es la de la proteína Sbi según se establece en las SEC ID N° 5 - 11 y en la Figura 4.

Cuando hay presentes ambos dominios de unión a la IgG de la Sbi en una composición inmunógena, pueden estar presente en cadenas polipeptídicas individuales o en la misma cadena polipeptídica.

15 En una forma de realización, ambas proteínas A (o un fragmento de la misma que comprende un dominio de unión a la IgG) y Sbi (o un fragmento de la misma que comprende un dominio de unión a la IgG) están presentes en la composición inmunógena. Estos antígenos pueden estar presentes como proteínas individuales en la composición inmunógena, o pueden estar unidos covalentemente entre sí, por ejemplo, en forma de una proteína de fusión o mediante el uso de un reactivo de reticulación para unir los dos polipéptidos.

20 En una forma de realización, el polipéptido comprende parte de una proteína A y parte de una Sbi. Por ejemplo, la parte de la proteína A tiene una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el 90 %, el 95 %, el 98 % o el 100 % con una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste en la SEC ID N° 12 - 40 o un fragmento inmunógeno de la misma que comprende al menos un dominio de unión a la IgG y una parte de la Sbi que tiene una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el 90 %, el 95 %, el 98 % o el 100 % con una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste en la SEC ID N° 1 - 11 o un fragmento inmunógeno de la misma que comprende al menos un dominio de unión a la IgG.

25 En el contexto de una proteína de fusión o de un conjugado reticulado, puede incorporarse cualquiera de los fragmentos o variantes de la proteína A o Sbi como se ha descrito anteriormente.

En una forma de realización, el polipéptido es una proteína de fusión que contiene la parte N terminal de la proteína A hacia la parte de la Sbi. Alternativamente la proteína de fusión puede contener la parte N terminal de la Sbi hacia la parte de la proteína A.

30 El polipéptido de la invención opcionalmente comprende adicionalmente la(s) secuencia(s) de proteína(s) estafilocócica(s) adicional(es) opcionalmente seleccionada(s) de entre el grupo que consiste en la Ebh (documento WO 02/59148), la proteína de unión a la elastina (EbpS documento WO 98/38312), la EFB (FIB) (documento WO 94/06830), la ClfA (US6008341), la ClfB (documento WO 99/27109), la SdrC (documento WO 99/27109), la SdrG (documento WO 97/48727), la FnbA (incluyendo las variantes descritas en el documento WO 05/116064), la FbpA, 35 la IsaA/PisA (documento DE 199 17 098), la lsdA (documento WO 02/59148, documento WO 06/59247), la lsdB (documento WO 02/059148, incluyendo las variantes descritas en el documento WO 05/09379 y en el documento WO 05/09378), la lsdC (documento WO 06/59247), la HarA (documento WO 05/09378), la toxina alfa (Hla US4615884), la toxina alfa H35R mutante, la proteína de unión a la penicilina 4 (documento WO 06/33918), la SsaA (documento WO 05/115113), la Aap (documento WO 05/86663), la RAP (documento WO 99/32133), la AhpC y sus 40 variantes (documento WO 06/78680), la SasA (documento WO 06/121664).

En una forma de realización, el polipéptido tiene una secuencia polipeptídica que es idéntica en al menos el 90 %, el 95 %, el 98 % o el 100 % a la secuencia de las SEC ID N°: 41 o 42 o 76 o un fragmento de la misma que comprende un dominio de unión a la IgG, preferiblemente procedente de ambas proteínas A y Sbi.

45 En una forma de realización, el polipéptido es una proteína de fusión codificada por un polinucleótido que tiene una secuencia que es idéntica en al menos el 90 %, el 95 %, el 98 % o el 100 % a las SEC ID N°: 73 - 75 o un fragmento de la misma que comprende un dominio de unión a la IgG, preferiblemente procedente de ambas proteínas A y Sbi.

El grupo de SEC. 1 contiene las SEC ID N° 43 - 75.

El grupo de SEC. 2 contiene las SEC ID N° 1 - 42 y 76.

La presente invención también proporciona:

50 (a) un polipéptido aislado que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el 90 %, más preferiblemente de al menos el 95 %, lo más preferiblemente de al menos el 97, 98 o 99 % o una identidad exacta con la de cualquiera de las secuencias del Grupo de SEC. 2;

(b) un polipéptido codificado por un polinucleótido aislado que comprende una secuencia de polinucleótidos que tiene una identidad de al menos el 90 %, más preferiblemente una identidad de al menos el 95 %, incluso más

preferiblemente de al menos el 97, el 98 o el 99 % o una identidad exacta con cualquier secuencia del Grupo de SEC. 1 a lo largo de la longitud completa de la secuencia seleccionada del Grupo de SEC. 1; o

5 (c) un polipéptido codificado por un polinucleótido aislado que comprende una secuencia de polinucleótidos que codifica para un polipéptido que tiene preferiblemente una identidad de al menos el 90 %, más preferiblemente una identidad de al menos el 95 %, incluso más preferiblemente de al menos el 97 - 99 % o una identidad exacta con la secuencia de aminoácidos de cualquier secuencia del Grupo de SEC. 2.

10 La invención también proporciona un fragmento inmunógeno de un polipéptido de la invención, es decir, una porción contigua del polipéptido de la proteína A-Sbi que tiene la misma o sustancialmente la misma actividad inmunógena que el polipéptido que comprende la correspondiente secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el Grupo de SEC. 2; es decir, el fragmento (si fuera necesario cuando está acoplado a un portador) es capaz de provocar una respuesta inmunitaria que reconoce el polipéptido de la proteína A-Sbi. Dicho fragmento inmunógeno puede incluir, por ejemplo, el polipéptido de la proteína A-Sbi que carece de una secuencia líder N terminal, y/o un dominio transmembranal y/o un dominio de anclaje C terminal. En una forma de realización, el fragmento inmunógeno de la proteína A-Sbi de acuerdo con la invención comprende sustancialmente todo el dominio extracelular de un polipéptido que tiene una identidad de al menos que el 85 %, preferiblemente una identidad de al menos el 90 %, más preferiblemente una identidad de al menos el 95 %, lo más preferiblemente una identidad de al menos el 97, el 98 o el 99 %, con la de una secuencia seleccionada de entre el Grupo de SEC. 2 a lo largo de la longitud completa de dicha secuencia.

20 Un fragmento es un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos que es completamente igual que parte, pero no toda, de cualquiera de las secuencias de aminoácidos de cualquier polipéptido de la invención. Al igual que con los polipéptidos de la proteína A-Sbi, los fragmentos pueden ser "independientes" o estar comprendidos en un polipéptido mayor del cual forman una parte o una región, lo más preferiblemente en forma de una única región continua en un único polipéptido mayor.

25 En una forma de realización, algunos fragmentos, por ejemplo, los polipéptidos de truncamiento, tienen una porción de una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el Grupo de SEC. 2 o de entre variantes de los mismos, tales como series continuas de residuos que incluyen una secuencia de aminoácidos amino y/o carboxilo terminal. También son preferidas las formas de degradación de los polipéptidos de la invención producidas por o en una célula hospedadora. Son adicionalmente preferidos los fragmentos caracterizados por atributos estructurales o funcionales tales como los fragmentos que comprenden una hélice alfa y regiones formadoras de una hélice alfa, una lámina beta y regiones formadoras de una lámina beta, un giro y regiones formadoras de un giro, una espiral y regiones formadoras de una espiral, regiones hidrófilas, regiones hidrófobas, regiones anfipáticas alfa, regiones anfipáticas beta, regiones flexibles, regiones formadoras de superficie, regiones de unión al sustrato y regiones con un elevado índice antigénico.

35 En una forma de realización, los fragmentos incluyen un polipéptido aislado que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 15, 20, 30, 40, 50 o 100 aminoácidos contiguos procedentes de la secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el Grupo de SEC. 2 o un polipéptido aislado que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 15, 20, 30, 40, 50 o 100 aminoácidos contiguos truncados o delecionados procedentes de la secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el Grupo de SEC. 2.

40 La presente invención también incluye variantes de los polipéptidos mencionados anteriormente, esto es, polipéptidos que varían de los referentes por sustituciones conservativas de aminoácidos, mediante las cuales un residuo es sustituido por otro con unas características similares. Algunas sustituciones típicas son entre Ala, Val, Leu e Ile; entre Ser y Thr; entre los residuos ácidos Asp y Glu; entre Asn y Gln; y entre los residuos básicos Lys y Arg; o entre los residuos aromáticos Phe y Tyr.

45 Los polipéptidos de la presente invención pueden ser preparados de cualquier forma adecuada. Dichos polipéptidos incluyen polipéptidos naturales aislados, polipéptidos producidos recombinantemente, polipéptidos producidos sintéticamente o polipéptidos producidos mediante una combinación de estos procedimientos. Los medios para la preparación de dichos polipéptidos son bien comprendidos en la materia.

#### Polinucleótidos

50 La invención desvela cualquier polinucleótido que codifica para uno cualquiera de los polipéptidos de la invención como se ha descrito anteriormente.

55 Una forma de realización adicional de la invención es un polinucleótido que comprende una región que codifica para la proteína A que tiene una identidad de al menos el 90 %, el 95 %, el 98 %, el 99 % o el 100 % con una secuencia de polinucleótidos seleccionada de entre el grupo que consiste en las SEC ID N° 54 - 73 y una región que codifica para la Sbi que tiene una identidad de al menos el 90 %, el 95 %, el 98 %, el 99 % o el 100 % con una secuencia de polinucleótidos seleccionada de entre el grupo que consiste en las SEC ID N° 43 - 53.

En el caso de las SEC ID N°: 47 - 53 y los 65 - 72, las secuencias son de la proteína Sbi o de la proteína A completa, respectivamente. Los fragmentos de estas secuencias que codifican para al menos 1, 2, 3, 4 o 5 dominios de la IgG pueden ser considerados como la proteína A o Sbi que codifica para parte de los polinucleótidos de la invención.

- Se contemplan variantes específicas del polinucleótido de la invención. Por ejemplo, el fragmento contiene 1, 2, 3, 4 o 5 dominios de unión a la IgG según se representa en la Figura X. En particular, el tercer codón del dominio de unión de la proteína A a la IgG D puede codificar para K o N, el 24° codón del dominio de unión de la proteína A a la IgG D puede codificar para E o A, el 46° codón del dominio de unión de la proteína A a la IgG A puede codificar para A o S, el 53° codón del dominio de unión de la proteína A a la IgG A puede codificar para D o E, el 23° codón del dominio de unión de la proteína A a la IgG B puede codificar para N o T, el 40° codón del dominio de unión de la proteína A a la IgG B puede codificar para Q o V, el 42° codón del dominio de unión de la proteína A a la IgG B puede codificar para A o K, el 43° codón del dominio de unión de la proteína A a la IgG B puede codificar para N o E y/o el 44° codón del dominio de unión de la proteína A a la IgG B puede codificar para I o L.
- En una forma de realización de la divulgación, el polinucleótido codifica para una proteína de fusión que comprende una parte similar a la proteína A que tiene una identidad de al menos el 90 %, el 95 %, el 98 % o el 100 % con una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste en las SEC ID N° 12 - 21 y 32 - 40 o un fragmento inmunógeno de la misma que comprende al menos 1, 2, 3, 4 o 5 dominios de unión a la IgG y una parte similar a la Sbi que tiene una identidad de al menos el 90 %, el 95 %, el 98 % o el 100 % con una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste en las SEC ID N° 1 - 11, o un fragmento inmunógeno de la misma que comprende al menos un dominio de unión a la IgG.
- En una forma de realización el polinucleótido de la invención tiene una secuencia de polinucleótidos que tiene una identidad de al menos el 90 %, el 95 %, el 98 % o el 100 % con las SEC ID N° 73 o 74.
- En una forma de realización preferida de la invención el polinucleótido comprende una región que codifica para los polipéptidos de la proteína A-Sbi que comprende las secuencias establecidas en el Grupo de SEC.1 que incluyen el gen completo una variante o un fragmento del mismo.
- Los polinucleótidos de la invención no engloban un ADN genómico completo de una especie de estafilococo, por ejemplo, de *S. aureus* o de *S. epidermidis*.
- Como un aspecto adicional de la divulgación se proporcionan moléculas de ácidos nucleicos aisladas que codifican para, y/o que expresan, polipéptidos y polinucleótidos de la proteína A-Sbi, particularmente polipéptidos y polinucleótidos de la proteína A-Sbi de *S. aureus* o de *S. epidermidis*, incluyendo, por ejemplo, ARN no procesados, ARN de ribozimas, ARNm, ADNc, ADN B y Z. Algunas formas de realización adicionales de la invención incluyen polinucleótidos y polipéptidos útiles biológicamente, diagnósticamente, profilácticamente, clínicamente o terapéuticamente, y variantes de los mismos, y composiciones, preferiblemente composiciones inmunógenas, que comprenden los mismos.
- Otro aspecto de la divulgación se refiere a polinucleótidos aislados que codifican para los polipéptidos de la proteína A-Sbi que tienen una secuencia de aminoácidos deducida del Grupo de SEC. 2 y a polinucleótidos estrechamente relacionados con los mismos, y a variantes de los mismos.
- Una forma de realización de la divulgación se refiere a polipéptidos de la proteína A-Sbi procedentes de *S. aureus* o de *S. epidermidis* que comprenden o que consisten en una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el Grupo de SEC. 2 o una variante de los mismos.
- Mediante el uso de la información proporcionada en el presente documento, tal como una secuencia de polinucleótidos establecida en el Grupo de SEC. 1, puede obtenerse un polinucleótido de la invención que codifica para el polipéptido de la proteína A-Sbi mediante el uso de procedimientos habituales de clonación y cribado, tales como los usados para la clonación y la secuenciación de fragmentos de ADN cromosómico procedente de bacterias mediante el uso de *S. aureus* como material de partida, seguidos de la obtención de un clon completo. Por ejemplo, para la obtención de una secuencia de polinucleótidos de la invención, tal como una secuencia de polinucleótidos proporcionada en el Grupo de SEC. 1, normalmente se sondea una genoteca de clones de ADN cromosómico de una cepa estafilocócica diferente en *E. coli* o en algún otro hospedador adecuado, con un oligonucleótido radiomarcado, preferiblemente de 17-mer o más largo, derivado de una secuencia parcial. Los clones portadores del ADN idéntico al de la sonda pueden distinguirse mediante el uso de unas condiciones de hibridación rigurosas. Mediante la secuenciación de los clones individuales identificados mediante la hibridación con unos cebadores de secuenciación diseñados a partir del polipéptido o de la secuencia de polinucleótidos original, es posible extender a continuación la secuencia de polinucleótidos en ambas direcciones para determinar una secuencia génica completa. Convenientemente, dicha secuenciación se lleva a cabo, por ejemplo, mediante el uso de ADN bicatenario desnaturalizado preparado a partir de un clon de plásmido. Algunas técnicas adecuadas se describen en Maniatis, T., Fritsch, E. F. y Sambrook y col., MOLECULAR CLONING, A LABORATORY MANUAL, 2ª Ed.; Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, Nueva York (1989) (véase, en particular Screening By Hybridization 1.90 y Sequencing Denatured Double-Stranded DNA Templates 13.70). También puede llevarse a cabo una secuenciación directa del ADN genómico para obtener una secuencia génica completa.

Además, cada secuencia de ADN establecida en el Grupo de SEC. 1 contiene un marco abierto de lectura que codifica para una proteína que tiene aproximadamente el número de residuos de aminoácidos establecido en el Grupo de SEC. 2, con un peso molecular deducido que puede ser calculado mediante el uso de los valores de pesos

moleculares de los residuos de aminoácidos bien conocidos por los expertos en la materia.

Los polinucleótidos del Grupo de SEC. 1, entre el codón de inicio y el codón de terminación, codifican respectivamente para los polipéptidos del Grupo de SEC. 2. El número del nucleótido del codón de inicio y el primer nucleótido del codón de detención están recogidos en la tabla 3 para cada polinucleótido del Grupo de SEC. 1.

5 En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polinucleótido aislado que comprende o que consiste en:

10 (a) una secuencia de polinucleótidos que tiene una identidad de al menos el 90 %, más preferiblemente una identidad de al menos el 95 %, incluso más preferiblemente de al menos el 97, el 98 o el 99 % o una identidad exacta con cualquier secuencia del Grupo de SEC. 1 a lo largo de la longitud completa de la secuencia de polinucleótidos del Grupo de SEC. 1; o

(b) una secuencia de polinucleótidos que codifica para un polipéptido que tiene una identidad de al menos el 90 %, más preferiblemente una identidad de al menos el 95 %, incluso más preferiblemente de al menos el 97, el 98 o el 99 % o exacta al 100 % con cualquier secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el Grupo de SEC. 2, a lo largo de la longitud completa de la secuencia de aminoácidos del Grupo de SEC. 2.

15 Un polinucleótido que codifica para un polipéptido de la presente invención, incluyendo homólogos y ortólogos procedentes de especies distintas a *S. aureus*, puede obtenerse mediante un procedimiento que comprende las etapas de cribado de una biblioteca apropiada en unas condiciones de hibridación rigurosas (por ejemplo, mediante el uso de una temperatura en el intervalo de 45 - 65 °C y de una concentración de SDS de entre el 0,1 - 1 %) con una sonda marcada o detectable que consiste en, o que comprende, cualquier secuencia seleccionada de entre el Grupo de SEC. 1 o un fragmento de la misma; y aislar un gen completo y/o los clones genómicos que contienen dicha secuencia de polinucleótidos.

20 La divulgación proporciona una secuencia de polinucleótidos idéntica, a lo largo de su longitud total, a una secuencia codificante (marco abierto de lectura) establecida en el Grupo de SEC. 1. La divulgación también proporciona una secuencia codificante para un polipéptido maduro o para un fragmento del mismo, por sí misma, así como una secuencia codificante para un polipéptido maduro o para un fragmento de lectura con otra secuencia codificante, tal como una secuencia que codifica para una secuencia líder o secretora, una secuencia de una pre, o una pro o una preproteína. El polinucleótido de la invención también puede contener al menos una secuencia no codificante que incluye, por ejemplo, pero no se limita a, al menos una secuencia no codificante 5' y 3', tal como las secuencias transcritas pero no traducidas, señales de terminación (tales como señales de terminación dependientes de rho e independientes de rho), sitios de unión a ribosomas, secuencias de Kozak, secuencias que estabilizan el ARNm, intrones y señales de poliadenilación. La secuencia de polinucleótidos también puede comprender una secuencia codificante adicional que codifica para aminoácidos adicionales. Por ejemplo, puede codificarse una secuencia marcadora que facilita la purificación del polipéptido fusionado. En ciertas formas de realización de la divulgación, la secuencia marcadora es un péptido de hexahistidina, según se proporciona en el vector pQE (Qiagen, Inc.) y se describe en Gentz y col., Proc. Natl. Acad. Sci., EE.UU. 86: 821 - 824 (1989), o una etiqueta peptídica de HA (Wilson y col., Cell 37: 767 (1984), ambos de los cuales pueden ser útiles en la purificación de la secuencia del polipéptido fusionado con ellos. Los polinucleótidos de la divulgación también incluyen, pero no se limitan a, polinucleótidos que comprenden un gen estructural y sus secuencias naturalmente asociadas que controlan la expresión del gen.

35 El término "polinucleótido que codifica para un polipéptido" según se usa en el presente documento engloba polinucleótidos que incluyen una secuencia que codifica para un polipéptido de la invención, particularmente un polipéptido bacteriano, y más particularmente un polipéptido de *S. aureus*, que tiene una secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de las secuencias del Grupo de SEC. 2. El término también incluye polinucleótidos que incluyen una única región continua o regiones discontinuas que codifican para el polipéptido (por ejemplo, polinucleótidos interrumpidos con un fago integrado, una secuencia de inserción integrada, una secuencia de vector integrada, una secuencia de transposón integrada, o debido a una edición del ARN o a una reorganización del ADN genómico) junto con regiones adicionales, que también pueden contener secuencias codificantes y/o no codificantes.

40 La divulgación se refiere adicionalmente a variantes de los polinucleótidos descritos en el presente documento que codifican para variantes de unos polipéptidos que tienen una secuencia de aminoácidos deducida de cualquiera de las secuencias del Grupo de SEC. 2. Pueden usarse fragmentos de los polinucleótidos para, por ejemplo, sintetizar los polinucleótidos de la invención completos.

45 Algunas formas de realización adicionales particularmente preferidas son polinucleótidos que codifican para variantes de la proteína A-Sbi, que tienen la secuencia de aminoácidos de los polipéptidos de la proteína A-Sbi de cualquier secuencia del Grupo de SEC. 2 en las que varios, unos pocos, entre 5 y 10, entre 1 y 5, desde 1 hasta 3, 2, 1 o ningún residuo de aminoácido se ha sustituido, modificado, deletado y/o añadido, en cualquier combinación. De entre éstas son especialmente preferidas las sustituciones, adiciones y delecciones silenciosas, que no alteran las propiedades ni las actividades de los polipéptidos de la proteína A-Sbi.

Algunas formas de realización adicionales preferidas son polinucleótidos que son idénticos en al menos el 85 % a lo largo de su longitud completa a los polinucleótidos que codifican para los polipéptidos de la proteína A-Sbi que tienen una secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de las secuencias del Grupo de SEC. 2, y los polinucleótidos que son complementarios de dichos polinucleótidos. Alternativamente, los más preferidos son los polinucleótidos que comprenden una región que es idéntica en al menos el 90 % a lo largo de su longitud completa a los polinucleótidos que codifican para los polipéptidos de la proteína A-Sbi y a los polinucleótidos complementarios de los mismos. A este respecto, son particularmente preferidos los polinucleótidos idénticos en al menos el 95 % a lo largo de su longitud completa a los mismos. Adicionalmente, aquellos con al menos el 97 % son muy preferidos entre aquellos con al menos el 95 %, y entre éstos, aquellos con al menos el 98 % y al menos el 99 % son particularmente muy preferidos, siendo los más preferidos aquellos con al menos el 99 %.

Las formas de realización preferidas son polinucleótidos que codifican para polipéptidos que conservan sustancialmente la misma función o actividad biológica que los polipéptidos maduros codificados por unas secuencias de ADN seleccionadas de entre el Grupo de SEC. 1.

De acuerdo con ciertas formas de realización preferidas de esta divulgación se proporcionan polinucleótidos que hibridan, particularmente en condiciones rigurosas, con las secuencias de polinucleótidos de la proteína A-Sbi, tales como los polinucleótidos del Grupo de SEC. 1.

La divulgación se refiere adicionalmente a polinucleótidos que hibridan con las secuencias de polinucleótidos proporcionadas en el presente documento. A este respecto, la divulgación se refiere especialmente a los polinucleótidos que hibridan en unas condiciones rigurosas con los polinucleótidos descritos en el presente documento. Según se usa en el presente documento, los términos "condiciones rigurosas" y "condiciones de hibridación rigurosas" significan que la hibridación sólo se produce si hay una identidad de al menos el 95 % y preferiblemente de al menos el 97 % entre las secuencias. Un ejemplo específico de unas condiciones de hibridación rigurosas es una incubación de una noche a 42 °C en una solución que comprende: formamida al 50 %, 5x de SSC (NaCl 150 mM, citrato trisódico 15 mM), fosfato de sodio 50 mM (pH 7,6), 5x de solución de Denhardt, sulfato de dextrano al 10 % y 20 microgramos/ml de ADN de esperma de salmón recortado desnaturalizado, seguido del lavado del soporte de hibridación con 0,1x de SSC a aproximadamente 65 °C. Las condiciones de hibridación y de lavado son bien conocidas y están ejemplificadas en Sambrook, y col., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, segunda edición, Cold Spring Harbor, N.Y., (1989), particularmente en el capítulo 11 del mismo. La solución de hibridación también puede usarse con las secuencias de polinucleótidos proporcionadas por la divulgación.

La divulgación también proporciona un polinucleótido que consiste en, o que comprende, una secuencia de polinucleótidos obtenida mediante el cribado de una biblioteca apropiada que contiene el gen completo para una secuencia de polinucleótidos establecida en cualquiera de las secuencias del Grupo de SEC. 1 en unas condiciones de hibridación rigurosas con una sonda que tiene la secuencia de dicha secuencia de polinucleótidos establecida en las correspondientes secuencias del Grupo de SEC. 1 o un fragmento de la misma; y el aislamiento de dicha secuencia de polinucleótidos. Algunos fragmentos útiles para la obtención de dicho polinucleótido incluyen, por ejemplo, sondas y cebadores completamente descritos en cualquier parte del presente documento.

Como se ha analizado en cualquier parte del presente documento con respecto a los ensayos de polinucleótidos de la divulgación, por ejemplo, los polinucleótidos de la divulgación, pueden usarse como una sonda de hibridación para ARN, ADNc y ADN genómico, para aislar ADNc completos y clones genómicos que codifican para la proteína A-Sbi y para aislar ADNc y clones genómicos de otros genes que tienen una elevada identidad, particularmente una elevada identidad de secuencia, con las secuencias de la proteína A-Sbi. Dichas sondas comprenderán generalmente al menos 15 residuos de nucleótidos o pares de bases. Preferiblemente, dichas sondas tendrán al menos 30 residuos de nucleótidos o pares de bases, y pueden tener al menos 50 residuos de nucleótidos o pares de bases. Las sondas particularmente preferidas tendrán al menos 20 residuos de nucleótidos o pares de bases, y tendrán menos de 30 residuos de nucleótidos o pares de bases.

Una región codificante de los genes de la proteína A-Sbi puede ser aislada mediante un cribado mediante el uso de unas secuencias de ADN proporcionadas en el Grupo de SEC. 1 para sintetizar una sonda oligonucleotídica. Después se usa un oligonucleótido marcado que tiene una secuencia complementaria de la de un gen de la divulgación para cribar una genoteca de ADNc, de ADN genómico o de ARNm, para determinar con qué miembros de la genoteca hibrida la sonda.

Existen varios procedimientos disponibles y son bien conocidos por los expertos en la materia para la obtención de ADN completos, o de ADN cortos extendidos, por ejemplo, aquellos basados en el método de amplificación rápida de los extremos del ADNc (RACE) (véase, por ejemplo, Frohman, y col., PNAS EE.UU. 85: 8998 - 9002, 1988). Unas modificaciones recientes en la técnica, ejemplificadas por la tecnología Marathon™ (Clontech Laboratories Inc.), por ejemplo, han simplificado significativamente la búsqueda de ADNc más largos. En la tecnología Marathon™, se ha preparado ADNc a partir del ARNm extraído de un tejido elegido y una secuencia 'adaptadora' ligada a cada extremo. Después se lleva a cabo una amplificación de los ácidos nucleicos (PCR) para amplificar el extremo 5' "ausente" del ADN mediante el uso de una combinación de cebadores oligonucleotídicos específicos del gen y específicos del adaptador. Después se repite la reacción de PCR mediante el uso de cebadores "anidados", es decir, cebadores diseñados para hibridar dentro del producto amplificado (normalmente un cebador específico del

adaptador que hibrida 3' adicionales en la secuencia adaptadora, y un cebador específico del gen que hibrida 5' adicionales en la secuencia génica seleccionada). Los productos de esta reacción pueden ser analizados entonces mediante la secuenciación del ADN y construirse un ADN completo mediante la unión del producto directamente al ADN existente para dar una secuencia completa, o llevando a cabo una PCR completa por separado mediante el uso de la nueva información de la secuencia para el diseño del cebador 5'.

Los polinucleótidos y los polipéptidos de la divulgación pueden ser empleados, por ejemplo, como reactivos y materiales de investigación para el descubrimiento de tratamientos y el diagnóstico de enfermedades, particularmente de enfermedades humanas, como se analiza adicionalmente en el presente documento en relación con los ensayos de polinucleótidos.

Los polinucleótidos de la invención que son oligonucleótidos derivados de una secuencia del Grupo de SEC. 1 pueden usarse en los procedimientos del presente documento según se ha descrito, pero preferiblemente para una PCR, para la determinación de si los polinucleótidos identificados en el presente documento son o no son transcritos totalmente o en parte en las bacterias de un tejido infectado. Se reconoce que dichas secuencias también tendrán utilidad en el diagnóstico de la fase de una infección y del tipo de infección que ha producido el patógeno.

La divulgación también proporciona polinucleótidos que codifican para un polipéptido que es una proteína madura más aminoácidos amino o carboxilo terminales adicionales, o aminoácidos interiores del polipéptido maduro (cuando la forma madura tiene más de una cadena polipeptídica, por ejemplo). Dichas secuencias pueden jugar un papel en el procesado de una proteína a partir de un precursor en una forma madura, pueden permitir el transporte de la proteína, pueden prolongar o acortar la semivida de la proteína o pueden facilitar la manipulación de una proteína en un ensayo o en su producción, entre otras cosas. Como generalmente es el caso *in vivo*, los aminoácidos adicionales pueden ser procesados lejos de la proteína madura por las enzimas celulares.

Para todos y cada uno de los polinucleótidos de la divulgación se proporciona un polinucleótido complementario. Se prefiere que estos polinucleótidos complementarios sean totalmente complementarios de cada polinucleótido del que son complementarios.

Una proteína precursora, que tiene una forma madura del polipéptido fusionado con una o más prosequencias, puede ser una forma inactiva del polipéptido. Cuando se eliminan las prosequencias, generalmente dichos precursores inactivos se activan. Antes de la activación pueden eliminarse algunas o todas las prosequencias. Generalmente, dichos precursores se denominan proproteínas.

Además de las representaciones habituales de los nucleótidos A, G, C, T / U, también puede usarse el término "N" para la descripción de algunos de los polinucleótidos de la divulgación. "N" significa que puede aparecer cualquiera de los cuatro nucleótidos del ADN o ARN en dicha posición indicada de la secuencia del ADN o del ARN, excepto si se prefiere que N no sea un ácido nucleico que cuando se toma junto con posiciones de nucleótidos adyacentes, cuando son leídos en el marco de lectura correcto, tendrían el efecto de generar un codón de terminación prematuro en dicho marco de lectura.

En resumen, un polinucleótido de la divulgación puede codificar para una proteína madura, para una proteína madura más una secuencia líder (que puede denominarse preproteína), para un precursor de una proteína madura que tiene una o más prosequencias que no son las secuencias líder de una preproteína, o para una preproteína, que es un precursor de una proproteína, que tiene una secuencia líder y una o más prosequencias, que generalmente son eliminadas durante las etapas de procesado que producen las formas activa y madura del polipéptido.

De acuerdo con un aspecto de la invención, se proporciona el uso de un polinucleótido de la invención con fines terapéuticos o profilácticos, en particular una inmunización genética.

El uso de un polinucleótido de la invención en una inmunización genética empleará preferiblemente un procedimiento de administración adecuado, tal como la inyección directa del ADN del plásmido en los músculos (Wolff y col., Hum Mol Genet (1992) 1: 363, Manthorpe y col., Hum. Gene Ther. (1983) 4: 419), la administración del ADN complejo con portadores proteicos específicos (Wu y col., J Biol Chem. (1989) 264: 16985), la precipitación conjunta del ADN con fosfato de calcio (Benvenisty & Reshef, PNAS EE.UU., (1986) 83: 9551), la encapsulación del ADN en diversas formas de liposomas (Kaneda y col., Science (1989) 243: 375), el bombardeo con partículas (Tang y col., Nature (1992) 356:152, Eisenbraun y col., DNA Cell Biol (1993) 12: 791) y una infección *in vivo* mediante el uso de vectores retrovíricos clonados (Seeger y col., PNAS EE.UU. (1984) 81: 5849).

### **Vectores, células hospedadoras, sistemas de expresión**

La divulgación también se refiere a vectores que comprenden un polinucleótido o polinucleótidos de la divulgación, a células hospedadoras que son modificadas genéticamente con los vectores de la divulgación y a la producción de los polipéptidos de la divulgación mediante técnicas recombinantes. También pueden emplearse sistemas de traducción exentos de células para la producción de dichas proteínas mediante el uso de los ARN derivados de los constructos de ADN de la invención.

Los polipéptidos recombinantes de la presente invención pueden ser preparados mediante procedimientos bien conocidos por los expertos en la materia a partir de células hospedadoras modificadas genéticamente que comprenden sistemas de expresión. Consecuentemente, en un aspecto adicional, la presente divulgación se refiere a sistemas de expresión que comprenden un polinucleótido o polinucleótidos de la presente invención, a células hospedadoras que son modificadas genéticamente con dichos sistemas de expresión y a la producción de los polipéptidos de la invención mediante técnicas recombinantes.

Para la producción recombinante de los polipéptidos de la invención, las células hospedadoras pueden ser modificadas genéticamente para que incorporen los sistemas de expresión o porciones de los mismos, o los polinucleótidos de la invención. La introducción de un polinucleótido en una célula hospedadora puede llevarse a cabo mediante los procedimientos descritos en cualquier manual de laboratorio habitual, tal como en Davis, y col., BASIC METHODS IN MOLECULAR BIOLOGY, (1986) y Sambrook, y col., MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL, 2ª Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989), tales como transfección con fosfato de calcio, transfección mediada por DEAE-dextrano, transfección, microinyección, transfección mediada por lípidos catiónicos, electroporación, conjugación, transducción, carga de raspaduras, introducción balística e infección.

Algunos ejemplos representativos de hospedadores apropiados incluyen células bacterianas, tales como células de estreptococos, de estafilococos, de enterococos, de *E. coli*, de streptomyces, de cianobacterias, de *Bacillus subtilis*, de *Neisseria meningitidis*, de *Haemophilus influenzae* y de *Moraxella catarrhalis*; células fúngicas, tales como células de levadura, de *Kluveromyces*, de *Saccharomyces*, de *Pichia*, de un basidiomiceto, de *Candida albicans* y de *Aspergillus*; células de insecto tales como células de *Drosophila* S2 y de *Spodoptera* Sf9; células animales tales como células CHO, COS, HeLa, C127, 3T3, BHK, 293, CV-1 y de melanoma de Bowes; y células vegetales, tales como células de una gimnosperma o de una angiosperma.

Puede usarse una gran variedad de sistemas de expresión para la producción de los polipéptidos de la invención. Dichos vectores incluyen, entre otros, vectores de origen cromosómico, episómico y vírico, por ejemplo, vectores derivados de plásmidos bacterianos, de bacteriófagos, de transposones, de episomas de levadura, de elementos de inserción, de elementos cromosómicos de levadura, de virus tales como baculovirus, papova virus, tales como SV40, virus de la variolovacuna, adenovirus, virus de la viruela aviar, virus de la seudorrabia, picornavirus, retrovirus y alfavirus y vectores derivados de combinaciones de los mismos, tales como los obtenidos a partir de plásmidos y de elementos genéticos de bacteriófagos, tales como cósmidos y fagémidos. Los constructos de los sistemas de expresión pueden contener regiones de control que regulen y que produzcan la expresión. Generalmente, a este respecto puede usarse cualquier sistema o vector adecuado para mantener, propagar o expresar los polinucleótidos y/o para expresar un polipéptido en un hospedador para su expresión. La secuencia de ADN apropiada puede ser insertada en el sistema de expresión mediante cualquiera de una diversidad de técnicas bien conocidas y rutinarias, tales como, por ejemplo, las establecidas en Sambrook y col., MOLECULAR CLONING, A LABORATORY MANUAL, (*supra*).

En los sistemas de expresión recombinante en eucariotas, para la secreción de una proteína traducida en la luz del retículo endoplásmico, en el espacio periplásmico o en el entorno extracelular, pueden ser incorporadas las señales de secreción apropiadas en el polipéptido expresado. Estas señales pueden ser endógenas del polipéptido o pueden ser señales heterólogas.

Los polipéptidos de la presente invención pueden ser recuperados y purificados a partir de los cultivos de células recombinantes mediante procedimientos bien conocidos que incluyen una precipitación con sulfato de amonio o con etanol, una extracción ácida, una cromatografía de intercambio aniónico o catiónico, una cromatografía de fosfocelulosa, una cromatografía de interacciones hidrófobas, una cromatografía de afinidad, una cromatografía de hidroxilapatito y una cromatografía de lectina. Más preferiblemente, para la purificación se emplea una cromatografía de afinidad con iones metálicos (IMAC). Pueden emplearse técnicas bien conocidas para el replegado de las proteínas para la regeneración de la conformación activa cuando el polipéptido es desnaturalizado durante la síntesis intracelular, el aislamiento y la purificación.

El sistema de expresión también puede ser un microorganismo vivo recombinante, tal como un virus o una bacteria. El gen de interés puede ser insertado en el genoma de un virus o de una bacteria recombinante viva. La inoculación y la infección *in vivo* con este vector vivo darán lugar a la expresión *in vivo* del antígeno y a la inducción de respuestas inmunitarias. Algunos virus y bacterias usados con este fin son, por ejemplo: poxvirus (por ejemplo, virus de la variolovacuna, de la viruela aviar, de la viruela del canario), alfavirus (virus Sindbis, virus del bosque Semliki, virus de la encefalitis equina de Venezuela), adenovirus, virus adenoasociados, picornavirus (poliovirus, rinovirus), virus herpes (virus de la varicela zoster, etc), *Listeria*, *Salmonella*, *Shigella*, BCG, estreptococos. Estos virus y bacterias pueden ser virulentos o estar atenuados de diversas formas, con objeto de obtener vacunas de organismos vivos. Dichas vacunas de organismos vivos también forman parte de la invención.

#### **Composiciones inmunógenas que comprenden antígenos adicionales**

Las composiciones inmunógenas de la invención están opcionalmente combinadas con antígenos adicionales. La neutralización de las proteínas estafilocócicas de unión a la IgG puede permitir la generación de una respuesta

inmunitaria mejorada frente a antígenos adicionales.

En una forma de realización, la composición inmunógena de la invención comprende un antígeno estafilocócico adicional. En una forma de realización, el antígeno estafilocócico adicional deriva de *S. aureus* o de *S. epidermidis*. Algunos ejemplos de antígenos adicionales incluyen polisacáridos estafilocócicos tales como el polisacárido capsular de *S. aureus* de tipo 5, S el polisacárido capsular de *S. aureus* de tipo 8, la PNAG que opcionalmente está acetilada en menos del 50 %, del 40 %, del 30 %, del 20 % o del 10 %.

La mayoría de las cepas de *S. aureus* que causan infecciones en el ser humano contienen polisacáridos de Tipo 5 o de Tipo 8. Aproximadamente el 60 % de las cepas humanas son del Tipo 8 y aproximadamente el 30 % son del Tipo 5. Las estructuras de los antígenos polisacáridos capsulares de Tipo 5 y de Tipo 8 se describen en Moreau y col. Carbohydrate Res. 201; 285 (1990) y en Fournier y col. Infect. Immun. 45; 87 (1984). Ambas tienen FucNAc en sus unidades repetitivas, así como ManNAcA que pueden usarse para la introducción de un grupo sulfhidrido. Las estructuras se notificaron como:

De Tipo 5

→4)-β-D-ManNAcA(3OAc)-(1 → 4)-α-L-FucNAc(1 → 3)-β-D-FucNAc-(1 →

De Tipo 8

→3)-β-D-ManNAcA(4OAc)-(1 → 3)-α-L-FucNAc(1 → 3)-β-D-FucNAc-(1 →

Recientemente (Jones Carbohidrato Research 340, 1097 - 1106 (2005)) una espectroscopía de RMN revisó las estructuras como:

De Tipo 5

→4)-β-D-ManNAcA-(1 → 4)-α-L-FucNAc(3OAc)-(1 → 3)-β-D-FucNAc-(1 →

De Tipo 8

→3)-β-D-ManNAcA(4OAc)-(1 → 3)-α-L-FucNAc(1 → 3)-α-D-FucNAc(1 →

Los polisacáridos pueden ser extraídos a partir de la cepa apropiada de *S. aureus* mediante el uso de un procedimiento bien conocido por el artesano experto, por ejemplo, según se describe en el documento US6294177. Por ejemplo, el ATCC 12902 es una cepa *S. aureus* de Tipo 5 y el ATCC 12605 es una cepa *S. aureus* de Tipo 8.

En una forma de realización están presentes ambos polisacáridos capsulares de Tipo 5 y de Tipo 8 en la composición inmunógena de la invención. La composición inmunógena de la invención contiene alternativamente cualquier polisacárido de tipo 5 o de tipo 8.

Los polisacáridos tienen el tamaño natural, o alternativamente pueden ser dimensionados, por ejemplo, mediante una microfluidificación, una irradiación con ultrasonidos o mediante un tratamiento químico. La invención también cubre los oligosacáridos derivados de los polisacáridos de tipo 5 y 8 de *S. aureus*.

Los polisacáridos de tipo 5 y 8 incluidos en la composición inmunógena de la invención están preferiblemente conjugados con una proteína portadora, como se describe a continuación, o alternativamente, no están conjugados.

Las composiciones inmunógenas de la invención contienen alternativamente cualquier polisacárido de tipo 5 o de tipo 8.

La PNAG es una adhesina de polisacárido y está formada por un polímero de glucosamina unida por β-(1 → 6) sustituido con constituyentes de N-acetilo y de O-succinilo. Este polisacárido está presente tanto en *S. aureus* como en *S. epidermidis* (Joyce y col. 2003, Carbohydrate Research 338; 903; Maira-Litran y col. 2002, Infect. Immun. 70; 4433).

La PIA (o PNAG) puede tener diferentes tamaños que varían desde más de 400 kDa hasta entre 75 y 400 kDa hasta entre 10 y 75 kDa para los oligosacáridos formados por hasta 30 unidades repetitivas (de glucosamina unida por β-(1 → 6) sustituida con constituyentes de N-acetilo y de O-succinilo). En una composición inmunógena de la invención puede usarse cualquier tamaño de polisacárido o de oligosacárido de PIA, sin embargo se prefiere un tamaño de más de 40 kDa. El dimensionamiento puede conseguirse mediante cualquier procedimiento conocido en la materia, por ejemplo, mediante una microfluidificación, una irradiación con ultrasonidos o mediante una escisión química (documento WO 03/53462, documento EP497524, documento EP497525).

En una forma de realización, el intervalo de tamaños de la PIA (PNAG) es de 40 - 400 kDa, de 50 - 350 kDa, de 40 - 300 kDa, de 60 - 300 kDa, de 50 - 250 kDa o de 60 - 200 kDa.

La PIA (PNAG) puede tener diferentes grados de acetilación debida a la sustitución de los grupos amino por acetato. La PIA producida *in vitro* está prácticamente completamente sustituida en los grupos amino (95 - 100 %). Alternativamente, puede usarse una PIA desacetilada (PNAG) que tiene menos del 60 %, preferiblemente menos del 50 %, del 40 %, del 30 %, del 20 %, del 10 % de N-acetilación. Se prefiere el uso de una PIA desacetilada (PNAG) dado que los epítomos no acetilados de la PNAG son eficientes mediadores de la destrucción opsónica de bacterias

grampositivas, preferiblemente de *S. aureus* y/o de *S. epidermidis*. En una forma de realización, la PIA (PNAG) tiene un tamaño de entre 40 kDa y 300 kDa y está desacetilada, de forma que menos del 60 %, del 50 %, del 40 %, del 30 % o del 20 % de los grupos amino están acetilados.

5 El término PNAG desacetilada (dPNAG) se refiere a un polisacárido o a un oligosacárido de PNAG en el que menos del 60 %, del 50 %, del 40 %, del 30 %, del 20 % o del 10 % de los grupos amino están acetilados.

10 En una forma de realización, la PNAG es una desacetilada para formar una dPNAG mediante el tratamiento químico del polisacárido natural. Por ejemplo, la PNAG natural se trata con una solución básica de forma que el pH se eleva hasta por encima de 10. Por ejemplo, el PNAG se trata con NaOH, KOH o NH<sub>4</sub>OH entre 0,1 - 5 M, entre 0,2 - 4 M, entre 0,3 - 3 M, entre 0,5 - 2 M, entre 0,75 - 1,5 M o 1 M. El tratamiento es durante al menos 10 o 30 minutos, o 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15 o 20 horas a una temperatura de 20 - 100, de 25 - 80, de 30 - 60 o de 30 - 50 o de 35 - 45 °C. La dPNAG puede prepararse según se describe en el documento WO 04/43405.

El (los) polisacárido(s) incluido(s) en la composición inmunógena de la invención está(n) conjugado(s) preferiblemente con una proteína portadora como se describe a continuación, o alternativamente no están conjugados.

15 En una forma de realización, la composición inmunógena de la invención comprende los polisacáridos capsulares de Tipo 5 y 8 y PNAG.

En una forma de realización, la composición inmunógena de la invención comprende el antígeno 336 de *S. aureus* descrito en el documento US6294177.

20 El antígeno 336 comprende hexosamina unida por  $\beta$ , no contiene grupos O-acetilo y se une específicamente a los anticuerpos contra *S. aureus* de Tipo 336 depositados con el ATCC 55804. Está adicionalmente caracterizado en el documento US 2006/0228368.

En una forma de realización, el antígeno 336 es un polisacárido que tiene su tamaño natural, o alternativamente puede ser dimensionado, por ejemplo, mediante una microfluidificación, una irradiación con ultrasonidos o mediante un tratamiento químico. La invención también cubre los oligosacáridos derivados del antígeno 336.

25 El antígeno 336, cuando está incluido en la composición inmunógena de la invención, está preferiblemente conjugado con una proteína portadora como se describe a continuación, o alternativamente no está conjugado.

En una forma de realización, la proteína portadora se elige independientemente de entre el grupo que consiste en el toxoide del tétanos, el toxoide de la difteria, la CRM197, la proteína D, la toxina alfa, la SdrG, la ClfA, la IsdA, la IsdB, la IsdH, la proteína A, la Sbi y una proteína de fusión de proteína A-Sbi o fragmentos de las mismas.

30 En una forma de realización, los polisacáridos y la PNAG utilizados en la invención están unidos a una proteína portadora que proporciona ayuda para la activación inespecífica de los linfocitos T. Algunos ejemplos de estos portadores que son actualmente usados de forma habitual para la producción de polisacáridos inmunógenos incluyen los toxoides de la difteria y del tétanos (DT, DT crm197 y TT respectivamente), hemocianina de lapa californiana (KLH) y el derivado proteico purificado de la tuberculina (PPD), la proteína D de *Haemophilus influenzae*, pneumolisina, o fragmentos de cualquiera de las anteriores. Algunos fragmentos adecuados para su uso incluyen los segmentos que engloban los epítomos T-colaboradores. En particular, el fragmento D de la proteína contendrá preferiblemente el 1/3 N terminal de la proteína. La proteína D es una proteína de unión a la IgD de *Haemophilus influenzae* (documento EP 0 594 610 B1) y es un potencial inmunógeno.

40 A pesar del habitual uso de estos portadores y de su éxito en la inducción de respuestas de anticuerpos antipolisacárido, están asociados con varios inconvenientes. Por ejemplo, se sabe que las respuestas inmunitarias específicas del antígeno pueden ser suprimidas por la presencia de anticuerpos preexistentes dirigidos contra el portador, en este caso, la toxina del tétanos (Di John y col; Lancet, 16 de diciembre de 1989). En la población en general, un porcentaje muy alto de las personas tendrá una inmunidad preexistente frente a ambas DT y TT, ya que las personas son vacunadas de forma rutinaria con estos antígenos. En el Reino Unido, por ejemplo, el 95 % de los niños recibe la vacuna DTP que comprende tanto DT como TT. Otros autores han descrito el problema de la supresión del epítomo en las vacunas peptídicas en modelos animales (Sad y col, Immunology, 1991; 74: 223 - 227; Schutze y col, J. Immunol. 135: 4, 1985; 2319 - 2322).

50 Una proteína portadora estafilocócica alternativa es el toxoide alfa. La forma nativa puede ser conjugada con un polisacárido, dado que el proceso de conjugación reduce la toxicidad. Alternativamente se usa una toxina alfa genéticamente destoxificada, tal como las variantes His35Leu o His35Arg como portadores, dado que la toxicidad residual es menor. Alternativamente la toxina alfa es destoxificada químicamente mediante el tratamiento con un reactivo de reticulación, formaldehído o glutaraldehído. Una toxina alfa genéticamente destoxificada es opcionalmente destoxificada químicamente, preferiblemente mediante el tratamiento con un reactivo de reticulación, formaldehído o glutaraldehído, para reducir adicionalmente la toxicidad.

55

Los polisacáridos pueden ser unidos a la(s) proteína(s) portadora(s) mediante cualquier procedimiento conocido (por ejemplo, de Likhite, Patente de EE.UU. 4.372.945 de Armor y col., la Patente de EE.UU. 4.474.757, y Jennings y col., Patente de EE.UU. 4.356.170). Preferiblemente se lleva a cabo una química de conjugación con CDAP (véase el documento WO95/08348).

5 En el CDAP, se usa preferiblemente el reactivo de cianilación tetrafluoroborato de 1-ciano-dimetilaminopiridinio (CDAP) para la síntesis de conjugados de polisacárido-proteína. La reacción de cianilación puede llevarse a cabo en unas condiciones relativamente suaves, lo que evita la hidrólisis de los polisacáridos sensibles a las condiciones básicas. Esta síntesis permite el acoplamiento directo a una proteína portadora.

10 El polisacárido es solubilizado en agua o en una solución salina. El CDAP se disuelve en acetonitrilo y se añade inmediatamente a la solución del polisacárido. El CDAP reacciona con los grupos hidroxilo del polisacárido para formar un éster de cianato. Después de la etapa de activación, se añade la proteína portadora. Los grupos amino de la lisina reaccionan con el polisacárido activado para formar una unión covalente de isourea. Después de la reacción de acoplamiento, se añade entonces un gran exceso de glicina para inactivar los grupos funcionales activados residuales. El producto se hace pasar después a través de una columna de penetración en gel para la eliminación de la proteína portadora sin reaccionar y de los reactivos residuales.

15 En una forma de realización, la composición inmunógena de la invención comprende una proteína seleccionada de entre el grupo que consiste en la Ebh (documento WO 02/59148), la proteína de unión a la elastina (EbpS documento WO 98/38312), la EFB (FIB) (documento WO 94/06830), la ClfA (documento US6008341), la ClfB (documento WO 99/27109), la SdrC (documento WO 99/27109), la SdrG (documento WO 97/48727), la FnbA (incluyendo las variantes descritas en el documento WO 05/116064), la FbpA, la IsaA/PisA (documento DE 199 17 098), la LsdA (documento WO 02/59148, documento WO 06/59247), la LsdB (documento WO 02/059148, incluyendo las variantes descritas en el documento WO 05/09379 y en el documento WO 05/09378), la LsdC (documento WO 06/59247), la HarA (documento WO 05/09378), la toxina alfa (Hla documento US4615884), la toxina alfa H35R mutante, la proteína de unión a la penicilina 4 (documento WO 06/33918), la SsaA (documento WO 05/115113), la Aap (documento WO 05/86663), la RAP (documento WO 99/32133), la AhpC y variantes (documento WO 06/78680), la SasA (documento WO 06/121664).

En una forma de realización preferida, la composición inmunógena de la invención comprende adicionalmente varias proteínas iguales o mayores a 2, 3, 4, 5 o 6 seleccionadas de entre 2, 3 o 4 de los siguientes grupos:

- 30 • grupo a) - al menos una proteína de unión al componente estafilocócico extracelular o un fragmento de la misma seleccionada de entre el grupo que consiste en la Ebh, la proteína de unión a la elastina (EbpS), la EFB (FIB), la ClfA, la ClfB, la SdrC, la SdrG, la FnbA, la SsaA, la SasA, la Aap, la AhpC, la proteína de unión a la penicilina 4, la IsaA / PisA;
- grupo b) - al menos una proteína transportadora estafilocócica o un fragmento de la misma seleccionada de entre el grupo que consiste en la LsdA, la LsdB, la LsdC, la HarA;
- 35 • grupo c) - al menos un regulador estafilocócico de la virulencia, una toxina o un fragmento de los mismos seleccionado de entre el grupo que consiste en la toxina alfa (Hla), la toxina alfa H35R mutante, la RAP.

### Vacunas

Otro aspecto de la invención es una vacuna que comprende la composición inmunógena de la invención y un portador farmacéuticamente aceptable.

40 Otro aspecto de la divulgación se refiere a un procedimiento para la inducción de una respuesta inmunológica en un individuo, particularmente en un mamífero, preferiblemente en seres humanos, que comprende la inoculación del individuo con el polinucleótido y/o el polipéptido o la invención, o un fragmento o una variante de los mismos, o una combinación de los mismos como se ha descrito anteriormente, adecuados para la producción de anticuerpos y/o de una respuesta inmunitaria de los linfocitos T para proteger a dicho individuo frente a una infección, particularmente frente a una infección bacteriana, y lo más particularmente frente a una infección estafilocócica que incluye una infección por *S. aureus* y/o por *S. epidermidis*. También se proporcionan procedimientos mediante los cuales dicha respuesta inmunológica ralentiza la replicación bacteriana. Otro aspecto más de la divulgación se refiere a un procedimiento para la inducción de una respuesta inmunológica en un individuo que comprende la administración a dicho individuo de un vector de ácido nucleico, de una secuencia o de una ribozima para dirigir la expresión del polinucleótido y/o del polipéptido o la invención, o de un fragmento o una variante de los mismos, para la expresión del polinucleótido y/o del polipéptido de la invención, o de un fragmento o una variante de los mismos, o de una combinación de los mismos como se ha descrito anteriormente, *in vivo*, con objeto de inducir una respuesta inmunológica, tal como para la producción de anticuerpos y/o de una respuesta inmunitaria de los linfocitos T, incluyendo, por ejemplo, linfocitos T productores de citocinas o linfocitos T citotóxicos, para proteger a dicho individuo, preferiblemente un ser humano, frente a una enfermedad, tanto si la enfermedad ya se ha establecido en el individuo como si no. Un ejemplo de administración del gen es mediante su aceleración en las células deseadas en forma de un recubrimiento sobre partículas o de otra forma. Dicho vector de ácido nucleico puede comprender un ADN, un ARN, una ribozima, un ácido nucleico modificado, un híbrido de ADN / ARN, un complejo de ADN-proteína o un complejo de ARN-proteína.

- Un aspecto adicional de la invención se refiere a una composición inmunológica que, cuando es introducida en un individuo, preferiblemente en un ser humano, susceptible de ser inducido con una respuesta inmunológica, induce una respuesta inmunológica en dicho individuo frente a un polinucleótido y/o un polipéptido de la invención codificado a partir de la misma, o una combinación de los mismos como se ha descrito anteriormente, en la que la
- 5 composición comprende un polinucleótido y/o un polipéptido recombinante codificado a partir de la misma y/o que comprende ADN y/o ARN que codifica para, y expresa, un antígeno de dicho polinucleótido, un polipéptido codificado a partir de la misma, u otro polipéptido de la invención. La respuesta inmunológica puede usarse terapéuticamente o profilácticamente y puede tomar la forma de una inmunidad de anticuerpo y/o de una inmunidad celular, tal como la inmunidad celular que surge a partir de los linfocitos CTL o T CD4+.
- 10 Un polipéptido de la invención o un fragmento del mismo puede estar fusionado con una co-proteína o una fracción química que puede producir o no por sí misma anticuerpos, pero que es capaz de estabilizar la primera proteína y de producir una proteína fusionada o modificada que tendrá propiedades antigénicas y/o inmunógenas, y preferiblemente propiedades protectoras. Por lo tanto, la proteína fusionada recombinante comprende preferiblemente adicionalmente un co-proteína antigénica, tal como la lipoproteína D de *Haemophilus influenzae*, la
- 15 Glutación-S-transferasa (GST) o la beta-galactosidasa, o cualquier otra co-proteína relativamente grande que solubilice la proteína y facilite la producción y la purificación de la misma. Además, la co-proteína puede actuar como un adyuvante en el sentido de proporcionar una estimulación generalizada del sistema inmunitario del organismo que recibe la proteína. La coproteína puede estar unida tanto al amino como al carboxi terminal de la primera proteína.
- 20 En una composición de vacuna de acuerdo con la invención, puede haber presente un polipéptido y/o un polinucleótido, o un fragmento o un mimótopo, o una variante de los mismos, o una combinación de los mismos como se ha descrito anteriormente, en un vector, tal como los vectores recombinantes de microorganismos vivos descritos anteriormente, por ejemplo, vectores en bacterias vivas.
- 25 Esta divulgación también proporciona composiciones, particularmente composiciones de vacuna, y procedimientos que comprenden los polipéptidos y/o los polinucleótidos de la invención y secuencias inmunoestimulantes de ADN, tales como las descritas en Sato, Y. y col. Science 273: 352 (1996).
- En una forma de realización, la composición inmunógena de la invención se mezcla con un excipiente farmacéuticamente aceptable y/u opcionalmente con un coadyuvante.
- 30 Las vacunas de la presente invención están opcionalmente coadyuvadas. Algunos coadyuvantes adecuados incluyen una sal de aluminio tal como gel de hidróxido de aluminio (alum) o fosfato de aluminio, pero también puede ser una sal de calcio, de magnesio, de hierro o de cinc, o puede ser una suspensión insoluble de tirosina acilada, o azúcares acilados, polisacáridos derivatizados catiónicamente o aniónicamente, o polifosfazenos.
- Opcionalmente el coadyuvante es un inductor preferente de cualquier respuesta de tipo TH1 o TH2. Unos niveles elevados de las citocinas de tipo Th1 tienden a favorecer la inducción de las respuestas inmunitarias mediadas por
- 35 células frente a un antígeno dado, mientras que unos niveles elevados de las citocinas de tipo Th2 tienden a favorecer la inducción de respuestas inmunitarias humorales frente al antígeno.
- Es importante recordar que la distinción entre la respuesta inmunitaria de tipo Th1 y la de tipo Th2 no es absoluta. En realidad un individuo soportará una respuesta inmunitaria que se describe como predominantemente Th1 o como predominantemente Th2. Sin embargo, a menudo es conveniente considerar las familias de citocinas en los términos que se describen en los clones de linfocitos T CD4 +ve murinos por Mosmann y Coffman (Mosmann, T. R. y
- 40 Coffman, R. L. (1989) TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. Annual Review of Immunology, 7, págs. 145 - 173). Tradicionalmente, las respuestas de tipo Th1 están asociadas con la producción de INF- $\gamma$  y de citocinas IL-2 por parte de los linfocitos T. Otras citocinas que están directamente asociadas a menudo con la inducción de respuestas inmunitarias de tipo Th1 no son producidas por
- 45 los linfocitos T, tales como la IL-12. Por el contrario, las respuestas de tipo Th2 están asociadas con la secreción de IL-4, de IL-5, de IL-6, de IL-10. Algunos sistemas coadyuvantes adecuados que promueven una respuesta predominantemente Th1 incluyen: monofosforil lípido A o un derivado del mismo, particularmente monofosforil lípido A 3-des-O-acilado (3D-MPL) (para su preparación, véase el documento GB 2220211 A); y una combinación de monofosforil lípido A, preferiblemente de monofosforil lípido A 3-des-O-acilado, junto con una sal aluminio (por
- 50 ejemplo, fosfato de aluminio o hidróxido de aluminio) o con una emulsión de aceite en agua. En dichas combinaciones, el antígeno y el 3D-MPL están contenidos en las mismas estructuras particuladas, permitiendo una administración más eficaz de de las señales antigénicas e inmunoestimulantes. Algunos estudios han demostrado que el 3D-MPL es capaz de mejorar adicionalmente la inmunogenicidad de un antígeno adsorbido en alum [Thielen y col. Vaccine (1998) 16: 708 - 14; documento EP 689454-B1].
- 55 Un sistema mejorado implica la combinación de un monofosforil lípido A y un derivado de saponina, particularmente la combinación de QS21 y 3D-MPL, según se desvela en el documento WO 94/00153, o una composición menos reactogénica en la que el QS21 es inactivado con colesterol, según se desvela en el documento WO 96/33739. Una formulación coadyuvante particularmente potente que implica QS21, 3D-MPL y tocoferol en una emulsión de aceite en agua se describe en el documento WO 95/17210, y es una formulación preferida. Preferiblemente, la vacuna

- comprende adicionalmente una saponina, más preferiblemente QS21. La formulación también puede comprender una emulsión de aceite en agua y tocoferol (documento WO 95/17210). La presente invención también proporciona un procedimiento para la producción de una formulación de vacuna que comprende la mezcla de una proteína de la presente invención junto con un excipiente farmacéuticamente aceptable, tal como 3D-MPL. Los oligonucleótidos no metilados que contienen CpG (documento WO 96/02555) también son unos inductores preferentes de una respuesta TH1 y son adecuados para su uso en la presente invención.
- Las preparaciones de vacuna de la presente divulgación pueden usarse para la protección o el tratamiento de un mamífero susceptible a una infección, mediante la administración de dicha vacuna a través de una vía sistémica o mucosal. Estas administraciones pueden incluir una inyección a través de las vías intramuscular, intraperitoneal, intradérmica o subcutánea; o a través de una administración mucosal en el tracto oral / alimentario, respiratorio, genitourinario. Aunque la vacuna de la divulgación puede ser administrada como una dosis única, los componentes de la misma también pueden ser administrados conjuntamente al mismo tiempo o en momentos diferentes. Para una administración conjunta, el coadyuvante Th1 opcional puede estar presente en cualquiera o en todas las diferentes administraciones. Además de una única vía de administración, pueden usarse 2 vías de administración diferentes. Además, las vacunas de la divulgación pueden ser administradas IM para las dosis primovacuna e IN para las dosis de refuerzo.
- La cantidad de antígeno en cada dosis de vacuna se selecciona como una cantidad que induce una respuesta inmunoprotectora sin unos efectos secundarios adversos significativos en las vacunas típicas. Dicha cantidad variará dependiendo del inmunógeno específico que se emplee y de cómo esté presentado. Generalmente, se espera que para los antígenos de polisacáridos o de oligosacáridos, cada dosis comprenderá entre 0,1 - 100 µg de sacárido, entre 0,1 - 50 µg para los conjugados de sacárido, entre 0,1 - 10 µg, entre 1 - 10 µg o entre 1 y 5 µg es.
- El contenido en antígenos proteicos en la vacuna estará normalmente en el intervalo de entre 1 - 100 µg, preferiblemente de entre 5 - 50 µg, lo más normalmente en el intervalo de entre 5 - 25 µg. Después de una vacunación inicial, los sujetos pueden recibir una o varias inmunizaciones de refuerzo adecuadamente separadas.
- La preparación de vacunas se describe de forma general en Vaccine Design ("The subunit and adjuvant approach" (eds. Powell M. F. & Newman M. J.) (1995) Plenum Press Nueva York). La encapsulación en liposomas se describe en Fullerton, Patente de EE.UU. 4.235.877.
- Las vacunas de la presente invención pueden ser almacenadas en solución o liofilizadas. Opcionalmente la solución es liofilizada en presencia de un azúcar tal como sacarosa, trehalosa o lactosa. Opcionalmente están liofilizadas y son reconstituidas extemporáneamente antes de su uso. La liofilización puede dar como resultado una composición (vacuna) más estable.
- Un aspecto adicional de la invención se refiere a un procedimiento para la elaboración de la vacuna de la invención que comprende la etapa de la adición de un excipiente farmacéuticamente aceptable a la composición inmunógena de la invención.
- Un aspecto adicional de la invención se refiere a la composición inmunógena, al polipéptido o al polinucleótido de la invención para su uso en el tratamiento de la prevención de una enfermedad estafilocócica.
- Un aspecto adicional de la invención se refiere a un uso de la composición inmunógena, del polipéptido o del polinucleótido de la invención en la preparación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de una enfermedad estafilocócica.
- Un aspecto adicional de la divulgación se refiere a un procedimiento para el tratamiento o la prevención de una enfermedad estafilocócica que comprende la administración de la composición inmunógena, de la vacuna, del polipéptido o del polinucleótido de la invención a un paciente en necesidad de los mismos.
- La divulgación también engloba un procedimiento de tratamiento de una infección estafilocócica, particularmente de infecciones nosocomiales adquiridas en un hospital.
- La composición inmunógena o la vacuna de la invención es particularmente ventajosa para su uso en los casos de una cirugía programada. Dichos pacientes conocen la fecha de la cirugía por anticipado y podrían ser inoculados con antelación. Dado que no se sabe si el paciente estaba expuesto a una infección por *S. aureus* o por *S. epidermidis*, es preferible inocular una vacuna de la invención que proteja frente a ambos, como se ha descrito anteriormente. Preferiblemente se tratan adultos mayores de 16 años que esperan una cirugía programada con las composiciones inmunógenas y las vacunas de la invención.
- También es ventajoso inocular a los trabajadores sanitarios con la vacuna de la invención.
- Las preparaciones de vacuna de la presente invención pueden usarse para la protección o el tratamiento de un mamífero susceptible a una infección, mediante la administración de dicha vacuna a través de una vía sistémica o mucosal. Estas administraciones pueden incluir la inyección a través de las vías intramuscular, intraperitoneal, intradérmica o subcutánea; o a través de una administración mucosal en el tracto oral / alimentario, respiratorio,

genitourinario.

La cantidad de antígeno en cada dosis de vacuna se selecciona como una cantidad que induce una respuesta inmunoprotectora sin unos efectos secundarios adversos significativos en las vacunas típicas. Dicha cantidad variará dependiendo del inmunógeno específico que se emplee y de cómo esté presentado. El contenido en proteína de la vacuna estará normalmente en el intervalo de entre 1 - 100 µg, preferiblemente de entre 5 - 50 µg, lo más normalmente en el intervalo de entre 10 - 25 µg. Generalmente, se espera que cada dosis comprenda entre 0,1 - 100 µg de polisacárido cuando esté presente, preferiblemente entre 0,1 - 50 µg, preferiblemente entre 0,1 - 10 µg, de los cuales el intervalo más preferible es de entre 1 y 5 µg. La cantidad óptima para una vacuna en particular puede ser determinada mediante los estudios habituales que implican la observación de las respuestas inmunitarias apropiadas en sujetos. Después de una vacunación inicial, los sujetos pueden recibir una o varias inmunizaciones de refuerzo adecuadamente separadas.

Aunque las vacunas de la presente invención pueden ser administradas a través de cualquier vía, la administración de las vacunas descritas en la piel (ID) forma una forma de realización de la presente invención. La piel humana comprende cualquier cutícula "córnea", denominada estrato córneo, que está por encima de la epidermis. Por debajo de esta epidermis hay una capa denominada dermis, que a su vez está por encima del tejido subcutáneo. Los investigadores han demostrado que la inyección de una vacuna en la piel, y en particular en la dermis, estimula una respuesta inmunitaria, que también puede estar asociada con varias ventajas adicionales. La vacunación intradérmica con las vacunas descritas en el presente documento forma una característica preferida de la presente invención.

La técnica convencional de inyección intradérmica, el "procedimiento de mantoux", comprende las etapas de limpieza de la piel y después, estirando con una mano y con el bisel de una aguja de calibre estrecho (de calibre 26 - 31) hacia arriba, se inserta la aguja a un ángulo de entre 10 - 15°. Una vez que se ha insertado el bisel de la aguja, el cilindro de la aguja se baja y se hace avanzar mientras se proporciona una ligera presión para elevarlo bajo la piel. Después el líquido es inyectado muy lentamente, formando así una ampolla o burbuja en la superficie de la piel, seguido de una lenta retirada de la aguja.

Más recientemente se han descrito dispositivos que están diseñados específicamente para administrar agentes líquidos en o a través de la piel, por ejemplo, los dispositivos descritos en el documento WO 99/34850 y en el documento EP 1092444, también los dispositivos de inyección a chorro descritos, por ejemplo, en el documento WO 01/13977; en el documento US 5.480.381, en el documento US 5.599.302, en el documento US 5.334.144, en el documento US 5.993.412, en el documento US 5.649.912, en el documento US 5.569.189, en el documento US 5.704.911, en el documento US 5.383.851, en el documento US 5.893.397, en el documento US 5.466.220, en el documento US 5.339.163, en el documento US 5.312.335, en el documento US 5.503.627, en el documento US 5.064.413, en el documento US 5.520.639, en el documento US 4.596.556, en el documento US 4.790.824, en el documento US 4.941.880, en el documento US 4.940.460, en el documento WO 97/37705 y en el documento WO 97/13537. Algunos procedimientos alternativos de administración intradérmica de las preparaciones de vacuna pueden incluir jeringas y agujas convencionales o dispositivos diseñados para la administración balística de vacunas sólidas (documento WO 99/27961) o parches transdérmicos (documento WO 97/48440; documento WO 98/28037); o aplicados en la superficie de la piel (administración transdérmica o subcutánea, documento WO 98/20734; documento WO 98/28037).

Cuando las vacunas de la presente invención van a ser administradas en la piel, o más específicamente en la dermis, la vacuna está en un pequeño volumen de líquido, particularmente en un volumen de entre aproximadamente 0,05 ml y 0,2 ml.

El contenido en antígenos en las vacunas cutáneas o intradérmicas de la presente invención puede ser similar a las dosis convencionales encontradas en las vacunas intramusculares (véase anteriormente). Sin embargo, es una característica de las vacunas cutáneas o intradérmicas que las formulaciones pueden ser de "dosis baja". Consecuentemente, los antígenos proteicos de las vacunas de "dosis baja" están presentes preferiblemente en una cantidad tan pequeña como de entre 0,1 y 10 µg, preferiblemente de entre 0,1 y 5 µg por dosis; y los antígenos de polisacáridos (preferiblemente conjugados) pueden estar presentes en el intervalo de entre 0,01 - 1 µg, y preferiblemente de entre 0,01 y 0,5 µg de polisacárido por dosis.

Según se usa en el presente documento, el término "administración intradérmica" significa la administración de la vacuna en la región de la dermis de la piel. Sin embargo, la vacuna no estará ubicada necesariamente exclusivamente en la dermis. La dermis es la capa de la piel localizada entre aproximadamente 1,0 y aproximadamente 2,0 mm bajo la superficie de la piel humana, pero existe una cierta cantidad de variación entre los individuos y en diferentes partes del cuerpo. En general, puede esperarse alcanzar la dermis al penetrar 1,5 mm por debajo de la superficie de la piel. La dermis está ubicada entre el estrato córneo y la epidermis de la superficie, y la capa subcutánea inferior. Dependiendo del modo de administración, la vacuna puede ubicarse finalmente únicamente o principalmente en la dermis, o finalmente puede ser distribuida por la epidermis y la dermis.

Una forma de realización adicional de la divulgación es un procedimiento para la prevención o el tratamiento de una infección estafilocócica que comprende la etapa de la administración de la vacuna de la invención a un paciente en

necesidad de la misma, por ejemplo, a un paciente que espera una cirugía programada.

El término 'infección estafilocócica' engloba la infección causada por *S. aureus* y/o por *S. epidermidis* y por otras cepas estafilocócicas capaces de causar una infección en un mamífero, preferiblemente en un hospedador humano.

5 Con objeto de que esta invención sea mejor comprendida se establecen los siguientes ejemplos. Estos ejemplos tienen únicamente fines ilustrativos y no deben ser interpretados como limitantes del ámbito de la invención en modo alguno.

### Ejemplos

#### Ejemplo 1 Expresión recombinante en *E. coli* y purificación de la proteína de fusión de proteína A-Sbi

10 Se elaboró una proteína de fusión de 65 kDa de proteína A-Sbi mediante la fusión de un fragmento del gen de la proteína A con un fragmento del gen de la Sbi, su clonación en el vector de expresión TCMP14 y la expresión de la proteína de fusión en *E. coli*.

15 El fragmento de la proteína A de *S. aureus*, que codifica para un fragmento de la proteína A de 43 kDa, que incluía los cinco dominios de unión a la IgG, pero no incluía el péptido de señalización ni la región de anclaje a la pared C terminal, fue amplificado a partir de la cepa NCTC8325 DNA (ATCC35556D) en forma de un fragmento de 1.164 pares de bases. Los cebadores usados fueron:-

ggaattc **catatg** GCGCAACACGATGAAGCTC (incluyendo un sitio NdeI en negrita)

y

cgc **ggatcc** GCCGACATGTACTCCGTTACCATC (incluyendo un sitio BamHI en negrita)

20 El fragmento de la Sbi, que codifica para un fragmento de 20 kDa de la Sbi que incluye los dos dominios de unión a la IgG pero que excluye la  $\beta$ -2-glicoproteína 1 del dominio de unión a la IgG, fue amplificado a partir de la cepa NCTC8325 DNA (ATCC35556D) en forma de un fragmento de 522 pares de bases. Los cebadores usados fueron:

cgc **ggatcc**-AGTGAAAACACGCAACAACTTC (incluyendo un sitio BamHI en negrita)

y

25 gc **tctaga tta actagt** TGCTTTTTCAATTGAACTTTTTCTAC (incluyendo un sitio XbaI y un codón de detección, subrayado en negrita, y un sitio SpeI en negrita)

Los dos fragmentos se clonaron en un vector TCMP14 mediante el uso de los sitios de clonación NdeI, BamHI y SpeI, y se transformaron en *E. coli* AR58.

30 Se realizaron cultivos bacterianos (4 x 250 ml) a 30 °C en LBT + 50  $\mu$ g/ml de kanamicina. La expresión de la proteína se indujo a la temperatura de 42 °C durante cuatro horas. El cultivo bacteriano se centrifugó para formar sedimentos de células bacterianas y se conservaron a - 20 °C hasta la extracción. La Figura 2 muestra un PAGE al 4 - 20 % teñido con coomassie que muestra que se observa la expresión de la proteína A-Sbi en las células transformadas después de 4 horas a la temperatura de inducción. Aparece una nueva banda de 65 kDa en el carril 5 que contiene las bacterias incubadas 4 horas a la temperatura de inducción.

35 El sedimento bacteriano (correspondiente a 4 x 250 ml de cultivo bacteriano) se resuspendió en tampón de unión que contiene fosfato 20 mM (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> / NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), NaCl 500 mM, pH 7,4. Dado que las proteínas son sensibles a las proteasas, se añadió inhibidor de la proteasa (Pefablock 1 mM) a la suspensión. Después las bacterias se lisaron mediante 4 pases en la prensa francesa. El lisado se centrifugó durante 20 minutos a 13.000 rpm y se usó el sobrenadante para la purificación. Se usó una columna quelante Hi-Trap HP (5 ml) (Amersham Biosciences) para la purificación. El sobrenadante se cargó en la columna, que posteriormente se lavó con fosfato 20 mM (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> / NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), NaCl 500 mM, pH 7,4. La proteína de fusión unida eluyó después con un tampón de elución que contiene: fosfato 20 mM (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> / NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), NaCl 500 mM, imidazol 100 mM, pH 7,4. Después de la purificación, las fracciones eluidas se agruparon, se dializaron contra fosfato 50 mM (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> / NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), NaCl 150 mM, pH 7,4, se filtraron (0,22  $\mu$ m) y se cuantificaron mediante el uso del kit BCA™ Protein Assay (Pierce). El rendimiento de la purificación fue de 4,73 mg.

45 Se realizaron una SDS-PAGE y una inmunotransferencia Western sobre la proteína A-SBI purificada. La Figura 3 muestra un PAGE al 4 - 20 % teñido con coomassie. Había presente una banda pura de 65 kDa en las muestras de proteína purificada.

#### Ejemplo 2 Evaluación de la proteína de fusión de proteína A-SBI en un modelo de mortalidad de ratón inducida por una infección intraperitoneal por *S. aureus*

##### 50 Procedimiento

Se inmunizaron intramuscularmente grupos de 25 ratones hembras CD1 de 4 semanas de edad tres veces (los días 0, 14 y 28) con 8  $\mu$ g de la proteína A (ProtA) o de la proteína de fusión de ProtA-SBI, ambas coadyuvadas con AlPO<sub>4</sub>. Los ratones de control fueron inmunizados con la cantidad equivalente de coadyuvante de AlPO<sub>4</sub> o con

células completas inactivadas de *S. aureus* de serotipo 5 Reynolds ( $5 \times 10^8$  UFC) coadyuvadas con AIPO<sub>4</sub>. El día 42, los ratones fueron expuestos intraperitonealmente a 500 µl de la cepa 5 Reynolds de *S. aureus* ( $3 \times 10^6$  UFC) complementada con un 5 % de mucina. Se observó la mortalidad de los ratones hasta 4 días después de la exposición.

## 5 Resultados

Los resultados se muestran en la Figura 4. Como se esperaba, no se observó ninguna protección en los ratones inmunizados sólo con AIPO<sub>4</sub>. Se observó una protección muy buena en el grupo de control positivo con el homólogo de células totales inactivadas. No se observa ninguna protección después de la inmunización con la ProtA. Aunque no es estadísticamente significativo, se obtuvo un aumento en el índice de supervivencia del 24 % en los ratones inmunizados con el constructo de ProtA-SBI.

## Conclusión

La inmunización con la combinación de los dominios de la IgG de la proteína A y de la Sbi en la proteína de fusión era capaz de proporcionar una mayor protección que la inmunización sólo con la proteína A. La protección frente a una infección por *S. aureus* inducida por la inmunización con la proteína de fusión de proteína A-SBI en este modelo sugiere que este antígeno puede ser usado junto con otros candidatos con objeto de obtener una vacuna eficaz contra *S. aureus*.

### Ejemplo 3 Análisis bioinformático de las secuencias de la proteína A y de Sbi

Se compararon las secuencias de Sbi de las cepas de *S. aureus* Col, Mu50, NCTC8325, N315, Mw2, MRSA252 y MSSA476 y se calculó el porcentaje de identidad mediante el uso del programa ClustalW. El alineamiento se muestra en la Figura 5, y se encontró que las secuencias comparten una identidad del 92 - 100 %.

Los dominios de unión a la IgG fueron identificados según se muestra en la Tabla 1.

Cepa	Dominio	Comienzo (aa)	Fin (aa)	Comienzo (nT)	Fin (nT)
NCTC8325	Dom1	43	94	127	282
	Dom2	95	148	283	444
Mu50	Dom1	45	96	133	288
	Dom2	97	150	289	450
N315	Dom1	43	94	127	282
	Dom2	95	148	283	444
Mw2	Dom1	43	94	127	282
	Dom2	95	148	283	444
Col	Dom1	43	94	127	282
	Dom2	95	148	283	444
MRSA252	Dom1	43	94	127	282
	Dom2	95	148	283	444
MSSA476	Dom1	43	94	127	282
	Dom2	95	148	283	444

Se compararon las secuencias de la proteína A de las cepas de *S. aureus* Col, Mu50, NCTC8325, N315, Mw2, MRSA252 y MSSA476 y se calculó el porcentaje de identidad mediante el uso del programa ClustalW. El alineamiento se muestra en la Figura 4, y se encontró que las secuencias comparten una identidad del 91 - 100 %. Los dominios de unión a la IgG están identificados en la Tabla 2.

Cepa	Dominio	Comienzo (aa)	Fin (aa)	Comienzo (nT)	Fin (nT)
NCTC8325	Dom1	35	88	103	264
	Dom2	96	149	286	447
	Dom3	154	207	460	621
	Dom4	212	265	634	795
	Dom5	270	323	808	969

(continuación)

Cepa	Dominio	Comienzo (aa)	Fin (aa)	Comienzo (nT)	Fin (nT)
<b>Mu50</b>	Dom1	35	88	103	264
	Dom2	96	149	286	447
	Dom3	154	207	460	621
	Dom4	212	265	634	795
<b>N315</b>	Dom1	35	88	103	264
	Dom2	96	149	286	447
	Dom3	154	207	460	621
	Dom4	212	265	634	795
<b>Mw2</b>	Dom1	35	88	103	264
	Dom2	96	149	286	447
	Dom3	154	207	460	621
	Dom4	212	265	634	795
	Dom5	270	323	808	969
<b>COL</b>	Dom1	35	88	103	264
	Dom2	96	149	286	447
	Dom3	154	207	460	621
	Dom4	212	265	634	795
	Dom5	270	323	808	969
<b>MRSA252</b>	Dom1	35	88	103	264
	Dom2	96	149	286	447
	Dom3	154	207	460	621
	Dom4	212	265	634	795
	Dom5	270	323	808	969
<b>MSSA476</b>	Dom1	35	88	103	264
	Dom2	96	149	286	447
	Dom3	154	207	460	621
	Dom4	212	265	634	795
	Dom5	270	323	808	969
<b>V8</b>	Dom1	47	100	139	300
	Dom2	108	161	336	483
	Dom3	166	219	496	657
	Dom4	224	277	670	831

**Ejemplo 4 Construcción de una proteína de fusión que contiene ProtA-SdrG-Sbi (± 150 kDa)**

5 Se clonó el gen *sdrG* en el constructo de la proteína A - Sbi descrito en el Ejemplo 1, mediante la inserción del *sdrG* en el sitio *BamHI* entre el gen de la ProtA y el gen de la Sbi para formar un constructo de ProtA-SdrG-Sbi.

El SdrG fue amplificado mediante una PCR a partir del ADN genómico de la cepa 12228 de *S. epidermidis* mediante el uso de los siguientes cebadores:

Cebador 1: fus SdrG28 - 01 (**BamHI**).  
CGCGGATCCGA GAAGAATTCAG TA CAAGAC

10 Cebador 2: fus SdrG28 - 02 (**BamHI**).  
CGCGGAT CCTT CGT CAT CATAGTAT CCGTTATC

El constructo resultante tenía la secuencia de la SEC ID N°: 75. Este constructo se usó para expresar la proteína de fusión de proteína A-SdrG-Sbi mediante el uso del protocolo descrito en el ejemplo 1. La expresión dio como resultado una proteína de 150 kDa de la proteína de proteína A-SdrG-Sbi que fue visualizada mediante un análisis

con un gel de poliacrilamida al 4 - 20 % y una tinción con azul de coomassie, o mediante una inmunotransferencia western mediante el uso de un anticuerpo anti-etiqueta de His.

Secuencias

SEC ID N° 1 dominio 1 de Sbi

5 TQNNYVTDQQKAFYQVLHLKGITEEQRNQYIKTLREHPERAQEVFSESLKDS

SEC ID N° 2 dominio 2 de Sbi

KNPDRRVAQQNAFYNVLKNDNLTEQEKNNYIAQIKENPDRSQQVWVESVQSSKA

SEC ID N° 3 dominios 1 y 2 de SBI

TQNNYVTDQQKAFYQVLHLKGITEEQRNQYIKTLREHPERAQEVFSESLKDSKN  
PDRRVAQQNAFYNVLKNDNLTEQEKNNYIAQIKENPDRSQQVWVESVQSSKA

10 SEC ID N° 4 parte de la Sbi de la proteína de fusión

SENTQQTSTKHQTTQNNYVTDQQKAFYQVLHLKGITEEQRNQYIKTLREHPERAQEVFSE  
SLKDSKNPDRRVAQQNAFYNVLKNDNLTEQEKNNYIAQIKENPDRSQQVWVESVQSSKAK  
ERQNIENADKAIKDFQDNKAPHDKSAAYEANSKLPKDLRDKNRNFVEKVSIEKA

SEC ID N° 5 Col de Sbi

MKNKYISKLLVGAATITLATMISNGEAKASENTQQTSTKHQTTQNNYVTDQQKAFYQVLH  
LKGITEEQRNQYIKTLREHPERAQEVFSESLKDSKNPDRRVAQQNAFYNVLKNDNLTEQE  
KNNYIAQIKENPDRSQQVWVESVQSSKAKERQNIENADKAIKDFQDNKAPHDKSAAYEAN  
SKLPKDLRDKNRNFVEKVSIEKAIVRHDERVKSANDAI SKLNEKDSIENRRLAQREVNKA  
PMDVKEHLQKQLDALVAQKDAEKKVAPKVEAPQIQSPQIEKPKVESPKVEVPQIQSPKVE  
VPQSKLLGYYQSLKDSFNQYGYKYLTDYKSYKEKYDTAKYYNTYKYKGAIDQTVLTVL  
GSGSKSYIQPLKVDDKNGYLAKSYAQVRNYVTESINTGKVLVTFYQNPTLVKTAIKAQET  
ASSIKNTLSNLLSFWK

SEC ID N° 6 Mu50 de Sbi

MHMKNKYISKLLVGAATITLATMISNGEAKASENTQQTSTKHQTTQNNYVTDQQKAFYQV  
LHLKGITEEQRNQYIKTLREHPERAQEVFSESLKDSKNPDRRVAQQNAFYNVLKNDNLTE  
QEKNNYIAQIKENPDRSQQVWVESVQSSKAKERQNIENADKAIKDFQDNKAPHDKSAAYE  
ANSKLPKDLRDKNRNFVEKVSIEKAIVRHDERVKSANDAI SKLNEKDSIENRRLAQREVN  
KAPMDVKEHLQKQLDALVAQKDAEKKVAPKVEAPQIQSPQIEKPKAESPKVEVPQSKLLG  
YYQSLKDSFNQYGYKYLTDYKSYKEKYDTAKYYNTYKYKGAIDQTVLTVLTVLTVLTVL  
QPLKVDDKNGYLAKSYAQVRNYVTESINTGKVLVTFYQNPTLVKTAIKAQETASSIKNTL  
SNLLSFWK

15

SEC ID N° 7 MRSA252 de sbi

MKNKYISKLLVGAATITLATMISNGEAKASENTQQTSTKHQTTQNNYVTDQQKAFYQVLH  
LKGITEEQRNQYIKTLREHPERAQEVFSESLKDSKNPDRRVAQQNAFYNVLKNDNLTEQE  
KNNYIAQIKENPDRSQQVWVESVQSSKAKERQNIENADKAIKDFQDNKAPHDKSAAYEAN  
SKLPKDLRDKNRNFVEKVSIEKAIVRHDERVKSANDAI SKLNEKDSIENRRLAQREVNKA  
PMDVQKHLQKQLDALVAQKDAEKKVAPKVEAPQIQSPQIEKPKAESPKVEVPQIQSPKVE  
VPQSKLLGYYQSLKDSFNQYGYKYLTDYKSYKEKYDTAKYYNKKYQYKGLIDKTVLTTI  
GSGYGSYIKPLEVSKESGNLAKSYAQVRNYVTESINTGKVLVAFYQKPELVKTAIKAQET

ATTFKNALTGIFKSFWK

SEC ID N° 8 MSSA476 de sbi

MKNKYISKLLVGAATITLATMISNGEAKASENTQQTSTKHQTTQNNYVTDQOKAFYQVLH  
LKGITEEQRNQYIKTLREHPERAQEVFSESLKDSKNPDRRVAQQNAFYNVLKNDNLTEQE  
KNNYIAQIKENPDRSQQVWVESVQSSKAKERQNIENADKAIKDFQDNKAPHDKSAA YEAN  
SKLPKDLRDKNNRFVEKVSIEKAIVRHDERVKSANDAISKLVKDSIENRRLAQREVNKA  
PMDVKEHLQKQLDALVAQKDAEKKVAPKVEAPQIQSPQIEKPKAESPKVEVPQIQSPKVE  
VPQSKLLGYYQSLKDSFN YGYKYLTDTYKSYKEKYDTAKYYYNTYYKYKGAIDKAVLTL  
GDGSKSYIQPLKVDDKNGYLAKSYAQVRNYVTESINTGKVLTYTFYQNP TLVKTAIKAQET  
ASSIKNTITGLFNSFWK

SEC ID N° 9 MW2 de sbi

MKNKYISKLLVGAATITLATMISNGEAKASENTQQTSTKHQTTQNNYVTDQOKAFYQVLH  
LKGITEEQRNQYIKTLREHPERAQEVFSESLKDSKNPDRRVAQQNAFYNVLKNDNLTEQE  
KNNYIAQIKENPDRSQQVWVESVQSSKAKERQNIENADKAIKDFQDNKAPHDKSAA YEAN  
SKLPKDLRDKNNRFVEKVSIEKAIVRHDERVKSANDAISKLVKDSIENRRLAQREVNKA  
PMDVKEHLQKQLDALVAQKDAEKKVAPKVEAPQIQSPQIEKPKAESPKVEVPQIQSPKVE  
VPQSKLLGYYQSLKDSFN YGYKYLTDTYKSYKEKYDTAKYYYNTYYKYKGAIDKAVLTL  
GDGSKSYIQPLKVDDKNGYLAKSYAQVRNYVTESINTGKVLTYTFYQNP TLVKTAIKAQET  
ASSIKNTITGLFNSFWK

5 SEC ID N° 10 N315 de sbi

MKNKYISKLLVGAATITLATMISNGEAKASENTQQTSTKHQTTQNNYVTDQOKAFYQVLH  
LKGITEEQRNQYIKTLREHPERAQEVFSESLKDSKNPDRRVAQQNAFYNVLKNDNLTEQE  
KNNYIAQIKENPDRSQQVWVESVQSSKAKERQNIENADKAIKDFQDNKAPHDKSAA YEAN  
SKLPKDLRDKNNRFVEKVSIEKAIVRHDERVKSANDAISKLVKDSIENRRLAQREVNKA  
PMDVKEHLQKQLDALVAQKDAEKKVAPKVEAPQIQSPQIEKPKAESPKVEVPQIQSPKVE  
VPQSKLLGYYQSLKDSFN YGYKYLTDTYKSYKEKYDTAKYYYNTYYKYKGAIDQTVLTVL  
GSGSKSYIQPLKVDDKNGYLAKSYAQVRNYVTESINTGKVLTYTFYQNP TLVKTAIKAQET  
ASSIKNTLSNLLSFWK

SEC ID N° 11 NCTC8325 de sbi

MKNKYISKLLVGAATITLATMISNGEAKASENTQQTSTKHQTTQNNYVTDQOKAFYQVLH  
LKGITEEQRNQYIKTLREHPERAQEVFSESLKDSKNPDRRVAQQNAFYNVLKNDNLTEQE  
KNNYIAQIKENPDRSQQVWVESVQSSKAKERQNIENADKAIKDFQDNKAPHDKSAA YEAN  
SKLPKDLRDKNNRFVEKVSIEKAIVRHDERVKSANDAISKLVKDSIENRRLAQREVNKA  
PMDVKEHLQKQLDALVAQKDAEKKVAPKVEAPQIQSPQIEKPKVESPKVEVPQIQSPKVE  
VPQSKLLGYYQSLKDSFN YGYKYLTDTYKSYKEKYDTAKYYYNTYYKYKGAIDQTVLTVL  
GSGSKSYIQPLKVDDKNGYLAKSYAQVRNYVTESINTGKVLTYTFYQNP TLVKTAIKAQET  
ASSIKNTLSNLLSFWK

SEC ID N° 12 dominio 1 de SPA

10 NAAQHDEAQQNAFYQVLNMPNLNADQRNGFIQSLKDDPSQSANVLGEAQKLND

SEC ID N° 13 dominio 2 de SPA (V8)

QQNKFNKDQQSAFYEILNMPNLNEEQRNGFIQSLKDDPSQSTNVLGEAKKLNES

SEC ID N° 14 dominio 2 (Mu50)

QQNNFNKDQQSAFYEILNMPNLNEAQRNGFIQSLKDDPSQSTNVLGEAKKLNES

15 SEC ID N° 15 dominio 3 (MRSA)

ADNNFNKEQQNAFYEILNMPNLNEEQRNGFIQSLKDDPSQSANLLAEAKKLNES

SEC ID N° 16 dominio 3 (V8)

ADNNFNKEQQNAFYEILNMPNLNEEQRNGFIQSLKDDPSQSANLLAEAKKLNDA

SEC ID N° 17 dominio 3 (MU50)

ADNNFNKEQQNAFYEILNMPNLNEEQRNGFIQSLKDDPSQSANLLSEAKKLNES

5 SEC ID N° 18 dominio 4 (MRSA)

ADNKFNKEQQNAFYEILHLPNLNEEQRNGFIQSLKDDPSQSANLLAEAKKLNDA

SEC ID N° 19 dominio 4 (V8)

ADNKFNKEQQNAFYEILHLPNLTEEQRNGFIQSLKDDPSVSKEILAEAKKLNDA

SEC ID N° 20 dominio 4 (MU50)

10 ADNKFNKEQQNAFYEILHLPNLNEEQRNGFIQSLKDDPSVSKEILAEAKKLNDA

SEC ID N° 21 dominio 5

ADNKFNKEQQNAFYEILHLPNLTEEQRNGFIQSLKDDPSVSKEILAEAKKLNDA

SEC ID N° 22 dominios 1 + 2

MAQHDEAQONAFYQVLNMPNLNADQRNGFIQSLKDDPSQSANVLGEAQKLNDSQ  
APKADAQQNNFNKDQQSAFYEILNMPNLNEAQRNGFIQSLKDDPSQSTNVLGEA  
KKLNES

15 SEC ID N° 23 dominios 2 - 3

QQNNFNKDQQSAFYEILNMPNLNEAQRNGFIQSLKDDPSQSTNVLGEA  
KKLNESQAPKADNNFNKEQQNAFYEILNMPNLNEEQRNGFIQSLKDDPSQSANL  
LSEAKKLNES

SEC ID N° 24 dominios 3 - 4

ADNNFNKEQQNAFYEILNMPNLNEEQRNGFIQSLKDDPSQSANL  
LSEAKKLNESQAPKADNKFNKEQQNAFYEILHLPNLNEEQRNGFIQSLKDDPSQ

SANLLAEAKKLNDA

SEC ID N° 25 dominios 4 - 5

ADNKFNKEQQNAFYEILHLPNLNEEQRNGFIQSLKDDPSQ  
SANLLAEAKKLNDAQAPKADNKFNKEQQNAFYEILHLPNLTEEQRNGFIQSLKDDPSVSKEILAEAKKLNDQA

20

SEC ID N° 26 dominios 1 - 3

MAQHDEAQONAFYQVLNMPNLNADQRNGFIQSLKDDPSQSANVLGEAQKLNDSQ  
APKADAQQNNFNKDQQSAFYEILNMPNLNEAQRNGFIQSLKDDPSQSTNVLGEA  
KKLNESQAPKADNNFNKEQQNAFYEILNMPNLNEEQRNGFIQSLKDDPSQSANL  
LSEAKKLNES

SEC ID N° 27 dominios 2 - 4

QQNNFNKDQQSAFYEILNMPNLNEAQRNGFIQSLKDDPSQSTNVLGEA  
KKLINESQAPKADNNFNKEQQNAFYEILNMPNLNEEQRNGFIQSLKDDPSQSANL  
LSEAKKLINESQAPKADNKFNKEQQNAFYEILHLPNLNEEQRNGFIQSLKDDPSQ  
SANLLAEAKKLNDA

SEC ID N° 28 dominios 3 - 5

QAPKADNNFNKEQQNAFYEILNMPNLNEEQRNGFIQSLKDDPSQSANL  
LSEAKKLINESQAPKADNKFNKEQQNAFYEILHLPNLNEEQRNGFIQSLKDDPSQ  
SANLLAEAKKLNDAQAPKADNKFNKEQQNAFYEILHLPNLTEEQRNGFIQSLKD  
DPSVSKEILAEAKKLNDAQA

5 SEC ID N° 29 dominios 1 - 4

AQHDEAQQNAFYQVLNMPNLNADQRNGFIQSLKDDPSQSANVLGEAQKLNDSQ  
APKADAQQNNFNKDQQSAFYEILNMPNLNEAQRNGFIQSLKDDPSQSTNVLGEA  
KKLINESQAPKADNNFNKEQQNAFYEILNMPNLNEEQRNGFIQSLKDDPSQSANL  
LSEAKKLINESQAPKADNKFNKEQQNAFYEILHLPNLNEEQRNGFIQSLKDDPSQ  
SANLLAEAKKLNDA

SEC ID N° 30 dominios 2 - 5

QQNNFNKDQQSAFYEILNMPNLNEAQRNGFIQSLKDDPSQSTNVLGEA  
KKLINESQAPKADNNFNKEQQNAFYEILNMPNLNEEQRNGFIQSLKDDPSQSANL  
LSEAKKLINESQAPKADNKFNKEQQNAFYEILHLPNLNEEQRNGFIQSLKDDPSQ  
SANLLAEAKKLNDAQAPKADNKFNKEQQNAFYEILHLPNLTEEQRNGFIQSLKD  
DPSVSKEILAEAKKLNDAQA

SEC ID N° 31 dominios 1 - 5

AQHDEAQQNAFYQVLNMPNLNADQRNGFIQSLKDDPSQSANVLGEAQKLNDSQ  
  
APKADAQQNNFNKDQQSAFYEILNMPNLNEAQRNGFIQSLKDDPSQSTNVLGEA  
KKLINESQAPKADNNFNKEQQNAFYEILNMPNLNEEQRNGFIQSLKDDPSQSANL  
LSEAKKLINESQAPKADNKFNKEQQNAFYEILHLPNLNEEQRNGFIQSLKDDPSQ  
SANLLAEAKKLNDAQAPKADNKFNKEQQNAFYEILHLPNLTEEQRNGFIQSLKD  
DPSVSKEILAEAKKLNDAQA

10

SEC ID N° 32 parte de la proteína A de la proteína de fusión

MAQHDEAQQNAFYQVLNMPNLNADQRNGFIQSLKDDPSQSANVLGEAQKLNDSQ  
 APKADAQQNNFNKDQQSAFYEILNMPNLNEAQRNGFIQSLKDDPSQSTNVLGEA  
 KKLNESQAPKADNMFNKEQQNAFYEILNMPNLNEEQRNGFIQSLKDDPSQSANL  
 LSEAKKLNESQAPKADNMFNKEQQNAFYEILHLPNLNEEQRNGFIQSLKDDPSQ  
 SANLLAEAKKLNDAQAPKADNMFNKEQQNAFYEILHLPNLTEEQRNGFIQSLK  
 DPSVSKEILAEAKKLNDAQAPKEEDNKKPGKEDNKKPGKEDNKKPGKEDNKKP  
 GEDNKKPGKEDGNKPGKEDNKKPGKEDGNKPGKEDNKKPGKEDGNKPGKEDGNK  
 PGKEDGNVHVG

SEC ID N° 33 NCTC8425 de SPA

MKKKNIYSIRKLGVGIASVTLGTLISGGVTPAANAAQHDEAQQNAFYQVLNMPNLNADQ  
 RNGFIQSLKDDPSQSANVLGEAQKLNDSQAPKADAQQNNFNKDQQSAFYEILNMPNLNEA  
 QRNGFIQSLKDDPSQSTNVLGEAKKLNESQAPKADNMFNKEQQNAFYEILNMPNLNEEQR  
 NGFIQSLKDDPSQSANLLSEAKKLNESQAPKADNMFNKEQQNAFYEILHLPNLNEEQRNG  
 FIQSLKDDPSQSANLLAEAKKLNDAQAPKADNMFNKEQQNAFYEILHLPNLTEEQRNGFI  
 QSLKDDPSVSKEILAEAKKLNDAQAPKEEDNKKPGKEDNKKPGKEDNKKPGKEDNKKP  
 GEDNKKPGKEDGNKPGKEDNKKPGKEDGNKPGKEDNKKPGKEDGNKPGKEDGNKPGKEDGN  
 GVVHVKPGDVTVDIAKANGTTADKIAADNKLADKNMIKPGQELVVDKKQAPANHADANKAQ  
 ALPETGEENPFIGTTVFGGLSLALGAALLAGRRREL

5 SEC ID N° 34 Mu50 de SPA

MKKKNIYSIRKLGVGIASVTLGTLISGGVTPAANAAQHDEAQQNAFYQVLNMPNLNADQ  
 RNGFIQSLKDDPSQSANVLGEAQKLNDSQAPKADAQQNNFNKDQQSAFYEILNMPNLNEA  
 QRNGFIQSLKDDPSQSTNVLGEAKKLNESQAPKADNMFNKEQQNAFYEILNMPNLNEEQR  
 NGFIQSLKDDPSQSANLLSEAKKLNESQAPKADNMFNKEQQNAFYEILHLPNLNEEQRNG  
 FIQSLKDDPSVSKEILAEAKKLNDAQAPKEEDNKKPGKEDGNKPGKEDGNKPGKEDNKKP  
 GKEDGNKPGKEDNKKPGKEDGNKPGKEDNKKPGKEDGNKPGKEDGNKPGKEDGNVHVVK  
 PGDVTVDIAKANGTTADKIAADNKLADKNMIKPGQELVVDKKQAPANHADANKAQALPETG  
 EENPFIGTTVFGGLSLALGAALLAGRRREL

SEC ID N° 35 N315 de SPA

MKKKNIYSIRKLGVGIASVTLGTLISGGVTPAANAAQHDEAQQNAFYQVLNMPNLNADQ  
 RNGFIQSLKDDPSQSANVLGEAQKLNDSQAPKADAQQNNFNKDQQSAFYEILNMPNLNEA  
 QRNGFIQSLKDDPSQSTNVLGEAKKLNESQAPKADNMFNKEQQNAFYEILNMPNLNEEQR  
 NGFIQSLKDDPSQSANLLSEAKKLNESQAPKADNMFNKEQQNAFYEILHLPNLNEEQRNG  
 FIQSLKDDPSVSKEILAEAKKLNDAQAPKEEDNKKPGKEDGNKPGKEDGNKPGKEDNKKP  
 GKEDGNKPGKEDNKKPGKEDGNKPGKEDNKKPGKEDGNKPGKEDGNKPGKEDGNVHVVK  
 PGDVTVDIAKANGTTADKIAADNKLADKNMIKPGQELVVDKKQAPANHADANKAQALPETG  
 EENPFIGTTVFGGLSLALGAALLAGRRREL

SEC ID N° 36 MW2 de SPA

MKKKNIYSIRKLGVGIASVTLGTLISGGVTPAANAAQHDEAQQNAFYQVLNMPNLNADQ  
 RNGFIQSLKDDPSQSANVLGEAQKLNDSQAPKADAQQNNFNKDQQSAFYEILNMPNLNEA  
 QRNGFIQSLKDDPSQSTNVLGEAKKLNESQAPKADNMFNKEQQNAFYEILNMPNLNEEQR  
 NGFIQSLKDDPSQSANLLSEAKKLNESQAPKADNMFNKEQQNAFYEILHLPNLNEEQRNG  
 FIQSLKDDPSQSANLLAEAKKLNDAQAPKADNMFNKEQQNAFYEILHLPNLTEEQRNGFI  
 QSLKDDPSVSKEILAEAKKLNDAQAPKEEDNKKPGKEDGNKPGKEDGNKPGKEDNKKP  
 GEDNKKPGKEDNKKPGKEDGNKPGKEDNKKPGKEDGNVHVVKPGDVTVDIAKANGTTADK  
 IAADNKLADKNMIKPGQELVVDKKQAPANHADANKAQALPETGEENPFIGTTVFGGLSLAL  
 GAALLAGRRREL

10

SEC ID N° 37 Col de SPA

LKKKNIYSIRKLGVGIASVTLGTLTLLISGGVTPAANAAQHDEAQQNAFYQVLNMPNLNADQ  
RNGFIQSLKDDPSQSANVLGEAQKLNDQAPKADAQQNNFNKDQQSIFYEILNMPNLNEA  
QRNGFIQSLKDDPSQSTNVLGEAKKLNESQAPKADNNFNKEQQNAFYEILNMPNLNEEQR  
NGFIQSLKDDPSQSANLLSEAKKLNESQAPKADNKNFNKEQQNAFYEILHLPNLNEEQRNG  
FIQSLKDDPSQSANLLAEAKKLNDQAPKADNKNFNKEQQNAFYEILHLPNLTEEQRNGFI  
QSLKDDPSVSKEILAEAKKLNDQAPKEEDNNKPGKEDNNKPGKEDNNKPGKEDNNKPGK  
EDGNKPGKEDNKKPGKEDGNKPGKEDNKKPGKEDGNKPGKEDGNKPGKEDGNKPGKEDGNVHVVKPG  
DTVNDIAKANGTTADKIAADNKLADKNMIKPGQELVVDKQKQPANHADANKAQAALPETGEE  
NPFIGTTVFGGLSLALGAALLAGRRREL

SEC ID N° 38 MRSA252

LKKKNIYSIRKLGVGIASVTLGTLTLLISGGVTPAANAAQHDEAQQNAFYQVLNMPNLNADQ  
RNGFIQSLKDDPSQSANVLGEAQKLNDQAPKADAQQNKFNDQQSIFYEILNMPNLNEE  
QRNGFIQSLKDDPSQSTNVLGEAKKLNESQAPKADNNFNKEQQNAFYEILNMPNLNEEQR  
NGFIQSLKDDPSQSANLLAEAKKLNESQAPKADNKNFNKEQQNAFYEILHLPNLNEEQRNG  
FIQSLKDDPSQSANLLAEAKKLNDQAPKADNKNFNKEQQNAFYEILHLPNLTEEQRNGFI  
QSLKDDPSVSKEILAEAKKLNDQAPKEEDNNKPGKEDNNKPGKEDGNKPGKEDNKKPGK  
EDGNKPGKEDNKKPGKEDGNKPGKEDGNKPGKEDGNKPGKEDGNKPGKEDGNKPGKEDGN  
GVHVVKPGDTVNDIAKANGTTADKIAADNKLADKNMIKPGQELVVDKQKQPANHADANKAQ  
ALPETGEENPFIGTTVFGGLSLALGAALLAGRRREL

5 SEC ID N° 39 MSSA476 de SPA

LKKKNIYSIRKLGVGIASVTLGTLTLLISGGVTPAANAAQHDEAQQNAFYQVLNMPNLNADQ  
RNGFIQSLKDDPSQSANVLGEAQKLNDQAPKADAQQNNFNKDQQSIFYEILNMPNLNEA  
QRNGFIQSLKDDPSQSTNVLGEAKKLNESQAPKADNNFNKEQQNAFYEILNMPNLNEEQR  
NGFIQSLKDDPSQSANLLSEAKKLNESQAPKADNKNFNKEQQNAFYEILHLPNLNEEQRNG  
FIQSLKDDPSQSANLLAEAKKLNDQAPKADNKNFNKEQQNAFYEILHLPNLTEEQRNGFI  
QSLKDDPSVSKEILAEAKKLNDQAPKEEDNNKPGKEDGNKPGKEDGNKPGKEDNNKPGK  
EDGNKPGKEDNKKPGKEDGNKPGKEDNKKPGKEDGNKPGKEDGNKPGKEDGNKPGKEDGNV  
IAADNKLADKNMIKPGQELVVDKQKQPANHADANKAQAALPETGEENPFIGTTVFGGLSLAL  
GAALLAGRRREL

SEC ID N° 40 V8 de SPA

MMTLQIHTGGINLKKKNIYSIRKLGVGIASVTLGTLTLLISGGVTPAANAAQHDEAQQNAFY  
QVLNMPNLNADQRNGFIQSLKDDPSQSANVLGEAQKLNDQAPKADAQQNKFNDQQSIFYEILNMPNLNEEQRNGFIQSLKDDPSQSTNVLGEAKKLNESQAPKADNNFNKEQQNAFYEILNMPNLNEEQRNGFIQSLKDDPSQSANLLAEAKKLNDQAPKADNKNFNKEQQNAFYEILHLPNLTEEQRNGFIQSLKDDPSVSKEILAEAKKLNDQAPKEEDNNKPGKEDNNKPGKEDGNKPGKEDNKKPGKEDGNKPGKEDGNKPGKEDGNVHVVKPGDTVNDIAKANGTTADKIAVDNKLADKNMIKPGQELVVDKQKQPANHADANKAQAALPETGEENPFIGTTVFGGLSLALGAALLAGRRREL

SEC ID N° 41 proteína de fusión

MAQHDEAQQNAFYQVLNMPNLNADQRNGFIQSLKDDPSQSANVLGEAQLNDSQAPKADA
QQNNFNKDQQSAFYEILNMPNLNEAQRNGFIQSLKDDPSQSTNVLGEAKKLNESQAPKAD
NNFNKEQQNAFYEILNMPNLNEEQRNGFIQSLKDDPSQSANLLSEAKKLNESQAPKADNK
FNKEQQNAFYEILHLPNLNEEQRNGFIQSLKDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPKADNKNFN
KEQQNAFYEILHLPNLTEEQRNGFIQSLKDDPSVSKEILAEAKKLNDQAQPKEDNNKPG
KEDNNKPGKEDNNKPGKEDNNKPGKEDNNKPGKEDGNKPGKEDNKKPGKEDGNKPGKEDN
KKPGKEDGNKPGKEDGNKPGKEDGNVHVGGSSSENTQQTSTKHQTTQNNYVTDQQKAFYQ
VLHLKGI TEEQRNQYIKTLREHPERAQEVFSESLKDSKNPDRRVAQQNAFYNVLKNNDLNT
EQEKNNYIAQIKENPDRSQQVWVESVQSSKAKERQNIENADKAIKDFQDNKAPHDKSAAY
EANSKLPKDLRDKNNRFVEKVSIEKA

SEC ID N° 42 proteína de fusión completa

MAQHDEAQQNAFYQVLNMPNLNADQRNGFIQSLKDDPSQSANVLGEAQLNDSQAPKADA
QQNNFNKDQQSAFYEILNMPNLNEAQRNGFIQSLKDDPSQSTNVLGEAKKLNESQAPKAD
NNFNKEQQNAFYEILNMPNLNEEQRNGFIQSLKDDPSQSANLLSEAKKLNESQAPKADNK
FNKEQQNAFYEILHLPNLNEEQRNGFIQSLKDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPKADNKNFN
KEQQNAFYEILHLPNLTEEQRNGFIQSLKDDPSVSKEILAEAKKLNDQAQPKEDNNKPG
KEDNNKPGKEDNNKPGKEDNNKPGKEDNNKPGKEDGNKPGKEDNKKPGKEDGNKPGKEDN
KKPGKEDGNKPGKEDGNKPGKEDGNVHVGGSSSENTQQTSTKHQTTQNNYVTDQQKAFYQ
VLHLKGI TEEQRNQYIKTLREHPERAQEVFSESLKDSKNPDRRVAQQNAFYNVLKNNDLNT
EQEKNNYIAQIKENPDRSQQVWVESVQSSKAKERQNIENADKAIKDFQDNKAPHDKSAAY
EANSKLPKDLRDKNNRFVEKVSIEKATSGHHHHH

5 SEC ID N° 43 dominio 1 de Sbi

ACTCAAAACAACACTACGTAACAGATCAACAAAAAGCTTTTTATCAAGTATTACATCTAAAAG
GTATCACAGAAGAACAACGTAACCAATACATCAAAACATTACGCGAACACCCAGAACGTGC
ACAAGAAGTATTCTCTGAATCACTTAAAGACAGC

SEC ID N° 44 dominio 2 de Sbi

AAGAACCCAGACCGACGTGTTGCACAACAAAACGCTTTTTACAATGTTCTTAAAAATGATA
ACTTAACTGAACAAGAAAAAATAATTACATTGCACAAATTAAGAAAACCCCTGATAGAAG
CCAACAAGTTTGGGTAGAATCAGTACAATCTTCTAAAGCT

SEC ID N° 45 dominios 1 y 2 de Sbi

ACTCAAAACAACACTACGTAACAGATCAACAAAAAGCTTTTTATCAAGTATTACATCTAAAAG
GTATCACAGAAGAACAACGTAACCAATACATCAAAACATTACGCGAACACCCAGAACGTGC
ACAAGAAGTATTCTCTGAATCACTTAAAGACAGCAAGAACCCAGACCGACGTGTTGCACAA
CAAAACGCTTTTTACAATGTTCTTAAAAATGATAACTTAACTGAACAAGAAAAAATAATT
ACATTGCACAAATTAAGAAAACCCCTGATAGAAGCCAACAAGTTTGGGTAGAATCAGTACA

ATCTTCTAAAGCT

SEC ID N° 46 parte de la sbi de la proteína de fusión

AGTGAAAACACGCAACAACTTCAACTAAGCACCAAACTCAAACAACCTACGTAACAG  
 ATCAACAAAAAGCTTTTTATCAAGTATTACATCTAAAAGGTATCACAGAAGAACAACGTAA  
 CCAATACATCAAACATTACGCGAACACCCAGAACGTGCACAAGAAGTATTCTCTGAATCA  
 CTTAAAGACAGCAAGAACCAGACCGACGTGTTGCACAACAAAACGCTTTTTACAATGTTT  
 TAAAAATGATAACTTAACTGAACAAGAAAAAATAATTACATTGCACAAATTAAGAAAA  
 CCCTGATAGAAGCCAACAAGTTTGGGTAGAATCAGTACAATCTTCTAAAGCTAAAGAACGT  
 CAAAATATTGAAAATGCGGATAAAGCAATTAAGATTTCCAAGATAACAAAGCACCACACG  
 ATAAATCAGCAGCATATGAAGCTAACTCAAATTAACCTAAAGATTTACGTGATAAAAACAA  
 CCGCTTTGTAGAAAAAGTTTCAATTGAAAAAGCA

SEC ID N° 47 Col de Sbi

ATGAAAAATAAATATATCTCGAAGTTGCTAGTTGGGGCAGCAACAATTACGTTAGCTACA  
 ATGATTTCAAATGGGGAAGCAAAGCGAGTGAAAACACGCAACAACTTCAACTAAGCAC  
 CAAACAACCTCAAACAACCTACGTAACAGATCAACAAAAAGCTTTTTATCAAGTATTACAT  
 CTAAAAGGTATCACAGAAGAACAACGTAACCAATACATCAAACATTACGCGAACACCCA  
 GAACGTGCACAAGAAGTATTCTCTGAATCACTTAAAGACAGCAAGAACCAGACCGACGT  
 GTTGCACAACAAAACGCTTTTTACAATGTTCTTAAAAATGATAACTTAACTGAACAAGAA  
 AAAATAATTACATTGCACAAATTAAGAAAAACCCTGATAGAAGCCAACAAGTTTGGGTA  
 GAATCAGTACAATCTTCTAAAGCTAAAGAAGCTCAAATATTGAAAATGCGGATAAAGCA  
 ATTAAGATTTCCAAGATAACAAAGCACCACACGATAAATCAGCAGCATATGAAGCTAAC  
 TCAAATTAACCTAAAGATTTACGTGATAAAAAACAACCGCTTTGTAGAAAAAGTTTCAATT  
 GAAAAAGCAATCGTTCGTGATGAGCGTGTGAAATCAGCAAATGATGCAATCTCAAAA  
 TTAAATGAAAAGATTCAATTGAAAACAGACGTTTAGCACAACGTGAAGTTAACAAAGCA  
 CCTATGGATGTAAGAGCATTACAGAAACAATTAGACGCATTAGTTGCTCAAAAAGAT  
 GCTGAAAAGAAAGTGGCGCCAAAAGTTGAGGCTCCTCAAATTAATCACCACAAATTGAA  
 AACCTAAAGTAGAATCACCAAAAGTTGAAGTCCCTCAAATTAATCACCAAAAGTTGAG  
 GTTCCTCAATCTAAATTAATTAGGTTACTACCAATCATTAAAAGATTCAATTAACATATGGT  
 TACAAGTATTTAACAGATACTTATAAAAGCTATAAAGAAAAATATGATACAGCAAAGTAC  
 TACTATAATACGTACTATAAATACAAAGGTGCGATTGATCAAACAGTATTAACAGTACTA  
 GGTAGTGGTTCTAAATCTTACATCCAACCATGAAAAGTTGATGATAAAAAACGGCTACTTA  
 GCTAAATCATATGCACAAGTAAGAACTATGTAACCTGAGTCAATCAATACTGGTAAAGTA  
 TTATATACTTTCTACCAAAACCCAACATTAGTAAAAACAGCTATTAAAGCTCAAGAACT  
 GCATCATCAATCAAATAACATTAAGTAATTTATTATCATTCTGAAAATAA

SEC ID N° 48 Mu50 de Sbi

ATACACATGAAAAATAAATATATCTCGAAGTTGCTAGTTGGGGCAGCAACAATTACTTTA  
GCTACAATGATTTCAAATGGGGAAGCAAAGCGAGTGAAAACACGCAACAACTTCAACT  
AAGCACCAAACTCAAACAACCTACGTAACAGATCAACAAAAAGCTTTTTATCAAGTA  
TTACATCTAAAAGGTATCACAGAAGAACAACGTAACCAATACATCAAAACATTACGCGAA  
CACCCAGAACGTGCACAAGAAGTATTCTCTGAATCACTTAAAGACAGCAAGAACCAGAC  
CGACGTGTTGCACAACAAAACGCTTTTTACAATGTTCTTAAAAATGATAACTTAACTGAA  
CAAGAAAAAATAATTACATTCACAAAATTAAGAAAACCCTGATAGAAGCCAACAAGTT  
TGGGTAGAATCAGTACAATCTTCTAAAGCTAAAGAACGTCAAAATATTGAAAATGCGGAT  
AAAGCAATTAAAGATTTCCAAGATAACAAGCACCACACGATAAATCAGCAGCATATGAA  
GCTAACTCAAATTACCTAAAGATTTACGCGATAAAAAATAACCGCTTTGTAGAAAAAGTT  
TCAATTGAAAAAGCAATCGTTCGTTCATGATGAGCGTGTGAAATCAGCAAATGATGCAATC  
TCAAATTAATGAAAAAGATTCAATTGAAAACAGACGTTTAGCACAACGTGAAGTTAAC  
AAAGCACCTATGGATGTAAAAGAGCATTTACAGAAAACAATTAGACGCATTAGTAGCTCAA  
AAAGATGCTGAAAAGAAAGTGGCGCCAAAAGTTGAGGCTCCTCAAATTCATCACCACAA

ATTGAAAAACCTAAAGCAGAATCACCAAAAGTTGAAGTCCCTCAATCTAAATTATTAGGT  
TACTACCAATCATTAAAAGATTCATTTAACTATGGTTACAAGTATTTAACAGATACTTAT  
AAAAGCTATAAAGAAAAATATGATACAGCAAAGTACTACTATAATACGTACTATAAATAC  
AAAGGTGCGATTGATCAAACAGTATTAACAGTACTAGGTAGTGGTTCTAAATCTTACATC  
CAACCATTGAAAGTTGATGATAAAAACGGCTACTTAGCTAAATCATATGCACAAGTAAGA  
AACTATGTAACCTGAGTCAATCAATACTGGTAAAGTATTATATACTTTCTACCAAAACCCA  
ACATTAGTAAAAACAGCTATTAAGCTCAAGAACTGCATCATCAATCAAAAATACATTA  
AGTAATTTATTATCATTCTGGAAATAA

SEC ID N° 49 MRSA252 de Sbi

ATGAAAAATAAATATATCTCGAAGTTGCTAGTTGGGGCAGCAACAATTACTTTAGCTACA  
ATGATTTCAAATGGGGAAGCAAAGCGAGTGAAAACACGCAACAACTTCAACTAAGCAC  
CAAACAACCTCAAACAACCTACGTAACAGATCAACAAAAAGCTTTTTATCAAGTATTACAT  
CTAAAAGGTATCACAGAAGAACAACGTAACCAATACATCAAAACATTACGCGAACACCCA  
GAACGTGCACAAGAAGTATTCTCTGAATCACTTAAAGACAGCAAGAACCAGACCGACGT  
GTTGCACAACAAAACGCTTTTTACAATGTTCTTAAAAATGATAACTTAACTGAACAAGAA  
AAAAATAATTACATTCACAAAATTAAGAAAACCCTGATAGAAGCCAACAAGTTTGGGTA  
GAATCAGTACAATCTTCTAAAGCTAAAGAACGTCAAAATATTGAAAATGCGGATAAAGCA  
ATTAAGATTTCCAAGATAACAAGCACCACACGATAAATCAGCAGCATATGAAGCTAAC  
TCAAAATTACCTAAAGATTTACGTGATAAAAAATAACCGCTTTGTAGAAAAAGTTTCAATT  
GAAAAAGCAATCGTTCGTTCATGATGAGCGTGTGAAATCAGCAAATGATGCAATCTCAAAA  
TTAAATGAAAAAGATTCAATTGAAAACAGACGTTTAGCACAACGTGAAGTTAATAAAGCA  
CCTATGGATGTACAAAAGCATTACAGAAAACAATTAGACGCATTAGTAGCTCAAAAAGAT  
GCTGAAAAGAAAGTGGCGCCAAAAGTTGAGGCTCCTCAAATTCATCACCAAAAGTTGAG  
GTTCCCTCAATCTAAATTTATTAGGTTACTACCAATCATTAAAAGATTCATTTAACTATGGT  
TACAAGTATTTAACAGATACTTATAAAGCTATAAAGAAAAATATGATACAGCAAAGTAC  
TACTATAATAAATATTACCAATATAAAGGTTTGATTGATAAAAACAGTTTAACTATC  
GGTAGTGGCTATGGTTCATACATTAACCTCTTGAAGTAAGCAAAGAAAAGCGGGAACCTTA  
GCTAAATCATATGCACAAGTAAGAACTATGTAACCTGAGTCAATCAACACTGGTAAAGTG  
TTATACGCATTCTACCAAAACAGAAATTAGTAAAAACAGCTATTAAGCTCAAGAAACA  
GCAACAACCTTCAAACGCTTTAACAGGCATATTCAAATCATTCTGGAAATAA

SEC ID N° 50 MSSA476 de Sbi

ATGAAAAATAAATATATCTCGAAGTTGCTAGTTGGGGCAGCAACAATTACTTTAGCTACA  
ATGATTTCAAATGGGGAAGCAAAGCGAGTGAAAACACGCAACAACTTCAACTAAGCAC  
CAAACAACCTAAAACAACTACGTAACAGATCAACAAAAAGCTTTTTATCAAGTATTACAT  
CTAAAAGGTATCACAGAAGAACAACGTAACCAATACATCAAAACATTACGCGAACACCCA  
GAACGTGCACAAGAAGTATTCTCTGAATCACTTAAAGACAGCAAGAACCCAGACCGACGT  
GTTGCACAACAAAACGCTTTTTACAATGTTCTTAAAAATGATAACTTAACTGAACAAGAA  
AAAAATAATTACATTGCACAAATTAAGAAAACCCCTGATAGAAGCCAACAAGTTTGGGTA  
GAATCAGTACAATCTTCTAAAGCTAAAGAACGTCAAAATATTGAAAATGCGGATAAAGCA  
ATTAAGATTTCCAAGATAACAAAGCACCACAGATAAATCAGCAGCATATGAAGCTAAC  
TCAAAATTACCTAAAGATTTACGTGATAAAAAATAACCGCTTTGTAGAAAAAGTTTCAATT  
GAAAAGCAATCGTTCGTCAATGATGAGCGTGTGAAATCAGCAAATGATGCAATCTCAAAA  
TTAAATGTAAAAGATTCAATTGAAAACAGACGTTTAGCACAACGTGAAGTTAACAAAGCA  
CCTATGGATGTAAAAGAGCATTACAGAAACAATTAGACGCATTAGTAGCTCAAAAAGAT  
GCTGAAAAGAAAAGTGGCGCCAAAAGTTGAGGCTCCTCAAATTCAATCACCAAAAATTGAA  
AAACCTAAAGCAGAATCACCAAAAAGTTGAAGTCCCTCAAATCCAATCACCAAAAAGTTGAG  
GTTCTCAATCTAAATTATTAGGTTACTACCAATCATTAAAAGATTCAATTAACTATGGT  
TACAAGTATTTAACAGATACTTATAAAAGCTATAAAGAAAAATATGATACAGCAAAGTAC  
TACTATAATACGTACTATAAATACAAAGGTGCGATTGACAAAGCTGTATTAACCTTACTT  
GGCGATGGTTCTAAATCTTATATCCAACCATTGAAAGTTGATGATAAAAAATGGCTATTTA  
GCTAAATCATATGCACAAGTAAGAACTATGTAAGTGAAGTCAATCAATACTGGTAAAGTA  
TTATATACTTTCTACCAAAACCCAACATTAGTAAAAACAGCTATTAAGCTCAAGAACT  
GCATCATCAATCAAAAATACAATAACTGGATTATTTAACTCATTCTGGAAATAA

SEC ID N° 51 MW2 de Sbi

ATGAAAAATAAATATATCTCGAAGTTGCTAGTTGGGGCAGCAACAATTACTTTAGCTACA  
ATGATTTCAAATGGGGAAGCAAAGCGAGTGAAAACACGCAACAACTTCAACTAAGCAC  
CAAACAACCTAAAACAACTACGTAACAGATCAACAAAAAGCTTTTTATCAAGTATTACAT  
CTAAAAGGTATCACAGAAGAACAACGTAACCAATACATCAAAACATTACGCGAACACCCA  
GAACGTGCACAAGAAGTATTCTCTGAATCACTTAAAGACAGCAAGAACCCAGACCGACGT  
GTTGCACAACAAAACGCTTTTTACAATGTTCTTAAAAATGATAACTTAACTGAACAAGAA  
AAAAATAATTACATTGCACAAATTAAGAAAACCCCTGATAGAAGCCAACAAGTTTGGGTA  
GAATCAGTACAATCTTCTAAAGCTAAAGAACGTCAAAATATTGAAAATGCGGATAAAGCA  
ATTAAGATTTCCAAGATAACAAAGCACCACAGATAAATCAGCAGCATATGAAGCTAAC  
TCAAAATTACCTAAAGATTTACGTGATAAAAAATAACCGCTTTGTAGAAAAAGTTTCAATT  
GAAAAGCAATCGTTCGTCAATGATGAGCGTGTGAAATCAGCAAATGATGCAATCTCAAAA  
TTAAATGTAAAAGATTCAATTGAAAACAGACGTTTAGCACAACGTGAAGTTAACAAAGCA  
CCTATGGATGTAAAAGAGCATTACAGAAACAATTAGACGCATTAGTAGCTCAAAAAGAT  
GCTGAAAAGAAAAGTGGCGCCAAAAGTTGAGGCTCCTCAAATTCAATCACCAAAAATTGAA  
AAACCTAAAGCAGAATCACCAAAAAGTTGAAGTCCCTCAAATCCAATCACCAAAAAGTTGAG  
GTTCTCAATCTAAATTATTAGGTTACTACCAATCATTAAAAGATTCAATTAACTATGGT  
TACAAGTATTTAACAGATACTTATAAAAGCTATAAAGAAAAATATGATACAGCAAAGTAC  
TACTATAATACGTACTATAAATACAAAGGTGCGATTGACAAAGCTGTATTAACCTTACTT  
GGCGATGGTTCTAAATCTTATATCCAACCATTGAAAGTTGATGATAAAAAATGGCTATTTA  
GCTAAATCATATGCACAAGTAAGAACTATGTAAGTGAAGTCAATCAATACTGGTAAAGTA  
TTATATACTTTCTACCAAAACCCAACATTAGTAAAAACAGCTATTAAGCTCAAGAACT  
GCATCATCAATCAAAAATACAATAACTGGATTATTTAACTCATTCTGGAAATAA

SEC ID N° 52 N315 de Sbi

ATGAAAAATAAATATATCTCGAAGTTGCTAGTTGGGGCAGCAACAATTACTTTAGCTACA.  
 ATGATTTCAAATGGGGAAGCAAAGCGAGTGAAAACACGCAACAACTTCAACTAAGCAC  
 CAAACAACCTCAAACAACCTACGTAACAGATCAACAAAAAGCTTTTTATCAAGTATTACAT  
 CTA AAAAGGTATCACAGAAGAACAACGTAACCAATACATCAAAACATTACGCGAACACCCA  
 GAACGTGCACAAGAAGTATTCTCTGAATCACTTAAAGACAGCAAGAACCCAGACCGACGT  
 GTTGCACAACAAAACGCTTTTTACAATGTTCTTAAAAATGATAACTTAACTGAACAAGAA  
 AAAAAATAATTACATTGCACA AATTAAAGAAAACCCCTGATAGAAGCCAACAAGTTTGGGTA  
 GAATCAGTACAATCTTCTAAAGCTAAAGAACGTCAAAATATTGAAAATGCGGATAAAGCA  
 ATTAAGATTTCCAAGATAACAAAGCACCACACGATAAATCAGCAGCATATGAAGCTAAC  
 TCAAAATTACCTAAAGATTTACGCGATAAAAATAACCGCTTTGTAGAAAAAGTTTCAATT  
 GAAAAAGCAATCGTTCGTTCATGATGAGCGTGTGAAATCAGCAAATGATGCAATCTCAAAA  
 TTAAATGAAAAAGATTCAATTGAAAACAGACGTTTAGCACAACGTGAAGTTAACAAAGCA  
 CCTATGGATGTAAAAGAGCATTACAGAAACAATTAGACGCATTAGTAGCTCAAAAAGAT  
 GCTGAAAAGAAAAGTGGCGCCAAAAGTTGAGGCTCCTCAAATCAATCACCACAAAATTGAA  
 AAACCTAAAGCAGAATCACCAAAAGTTGAAGTCCCTCAAATCCAATCACCAAAAGTTGAG  
 GTTCTCAATCTAAATTATTAGGTTACTACCAATCATTAAAAGATTCAATTAACCTATGGT  
 TACAAGTATTTAACAGATACTTATAAAAAGCTATAAAGAAAAATATGATACAGCAAAGTAC  
 TACTATAATACGTACTATAAATACAAAGGTGCGATTGATCAAACAGTATTAACAGTACTA  
 GGTAGTGGTTCTAAATCTTACATCCAACATTGAAAGTTGATGATAAAAAACGGCTACTTA  
 GCTAAATCATATGCACAAGTAAGAAACTATGTAAGTCAATCAATACTGGTAAAGTA  
 TTATATACTTTCTACCAAACCCAACATTAGTAAAAACAGCTATTAAGCTCAAGAACT  
 GCATCATCAATCAAAAATACATTAAGTAATTTATTATCATTCTGGAAATAA

SEC ID N° 53 NCTC8325 de Sbi

ATGAAAAATAAATATATCTCGAAGTTGCTAGTTGGGGCAGCAACAATTACGTTAGCTACA  
 ATGATTTCAAATGGGGAAGCAAAGCGAGTGAAAACACGCAACAACTTCAACTAAGCAC  
 CAAACAACCTCAAACAACCTACGTAACAGATCAACAAAAAGCTTTTTATCAAGTATTACAT  
 CTA AAAAGGTATCACAGAAGAACAACGTAACCAATACATCAAAACATTACGCGAACACCCA  
 GAACGTGCACAAGAAGTATTCTCTGAATCACTTAAAGACAGCAAGAACCCAGACCGACGT  
 GTTGCACAACAAAACGCTTTTTACAATGTTCTTAAAAATGATAACTTAACTGAACAAGAA  
 AAAAAATAATTACATTGCACA AATTAAAGAAAACCCCTGATAGAAGCCAACAAGTTTGGGTA

GAATCAGTACAATCTTCTAAAGCTAAAGAACGTCAAAATATTGAAAATGCGGATAAAGCA  
 ATTAAGATTTCCAAGATAACAAAGCACCACACGATAAATCAGCAGCATATGAAGCTAAC  
 TCAAAATTACCTAAAGATTTACGTGATAAAAACAACCGCTTTGTAGAAAAAGTTTCAATT  
 GAAAAAGCAATCGTTCGTTCATGATGAGCGTGTGAAATCAGCAAATGATGCAATCTCAAAA  
 TTAAATGAAAAAGATTCAATTGAAAACAGACGTTTAGCACAACGTGAAGTTAACAAAGCA  
 CCTATGGATGTAAAAGAGCATTACAGAAACAATTAGACGCATTAGTTGCTCAAAAAGAT  
 GCTGAAAAGAAAAGTGGCGCCAAAAGTTGAGGCTCCTCAAATCAATCACCACAAATTGAA  
 AAACCTAAAGTAGAATCACCAAAAGTTGAAGTCCCTCAAATCAATCACCAAAAGTTGAG  
 GTTCTCAATCTAAATTATTAGGTTACTACCAATCATTAAAAGATTCAATTAACCTATGGT  
 TACAAGTATTTAACAGATACTTATAAAAAGCTATAAAGAAAAATATGATACAGCAAAGTAC  
 TACTATAATACGTACTATAAATACAAAGGTGCGATTGATCAAACAGTATTAACAGTACTA  
 GGTAGTGGTTCTAAATCTTACATCCAACATTGAAAGTTGATGATAAAAAACGGCTACTTA  
 GCTAAATCATATGCACAAGTAAGAAACTATGTAAGTCAATCAATACTGGTAAAGTA  
 TTATATACTTTCTACCAAACCCAACATTAGTAAAAACAGCTATTAAGCTCAAGAACT  
 GCATCATCAATCAAAAATACATTAAGTAATTTATTATCATTCTGGAAATAA

5

SEC ID N° 54 dominio 1 de SPA

AATGCTGCGCAACACGATGAAGCTCAACAAAATGCTTTTTATCAAGTCTTAAATATGCCT  
 AACTTAAATGCTGATCAACGCAATGGTTTTATCCAAGCCTTAAAGATGATCCAAGCCAA  
 AGTGCTAACGTTTTAGGTGAAGCTCAAAAACCTTAATGACTCT

SEC ID N° 55 dominio 2 de SPA (V8)

CAACAAAGATCAACAAGCGCCTTCTATGAAATCTTGAACATGCCTAACTTAAACGAAGA  
GCAACGCAATGGTTTCATTCAAAGTCTTAAAGACGATCCAAGCCAAAGCACTAACGTTTT  
AGGTGAAGCTAAAAAATTAACGAATCT

SEC ID N° 56 dominio 2 (Mu50)

CAACAAAATAACTTCAACAAAGATCAACAAAGCGCCTTCTATGAAATCTTGAACATGCCT  
AACTTAAACGAAGCGCAACGTAACGGCTTTCATTCAAAGTCTTAAAGACGACCCAAGCCAA  
AGCACTAATGTTTTAGGTGAAGCTAAAAAATTAACGAATCT

5 SEC ID N° 57 dominio 3 (MRSA)

GCTGACAACAATTTCAACAAAGAACAACAAAATGCTTTCTATGAAATCTTGAACATGCCT  
AACTTGAACGAAGAACAACGCAATGGTTTCATCCAAAGCTTAAAAGATGACCCAAGTCAA  
AGTGCTAACCTTTTAGCAGAAGCTAAAAAGTTAAATGAATCT

SEC ID N° 58 dominio 3 (V8)

GCTGACAACAATTTCAACAAAGAACAACAAAATGCTTTCTATGAAATCTTGAACATGCCT  
AACTTGAACGAAGAACAACGCAATGGTTTCATCCAAAGCTTAAAAGATGACCCAAGTCAA  
AGTGCTAACCTTTTAGCAGAAGCTAAAAAGCTAAATGATGCA

SEC ID N° 59 dominio 3 (MU50)

GCTGATAACAATTTCAACAAAGAACAACAAAATGCTTTCTATGAAATCTTGAATATGCCT  
AACTTAAACGAAGAACAACGCAATGGTTTCATCCAAAGCTTAAAAGATGACCCAAGCCAA  
AGTGCTAACCTATTGTGAGAAGCTAAAAAGTTAAATGAATCT

10

SEC ID N° 60 dominio 4 (MRSA)

GCTGATAACAATTTCAACAAAGAACAACAAAATGCTTTCTATGAAATCTTACATTTACCT  
AACTTAAATGAAGAACAACGCAATGGTTTCATCCAAAGCTTAAAAGATGACCCAAGCCAA  
AGCGCTAACCTTTTAGCAGAAGCTAAAAAGCTAAATGATGCA

SEC ID N° 61 dominio 4 (V8)

GCTGACAACAATTTCAACAAAGAACAACAAAATGCTTTCTATGAAATTTTACATTTACCT  
AACTTAACTGAAGAACAACGTAACGGCTTTCATCCAAAGCCTTAAAGACGATCCTTCAGTG  
AGCAAAGAAATTTTAGCAGAAGCTAAAAAGCTAAACGATGCT

15 SEC ID N° 62 dominio 4 (MU50)

GCGGATAACAATTTCAACAAAGAACAACAAAATGCTTTCTATGAAATCTTACATTTACCT  
AACTTAAACGAAGAACAACGTAACGGCTTTCATCCAAAGCCTTAAAGACGATCCTTCAGTG  
AGCAAAGAAATTTTAGCAGAAGCTAAAAAGCTAAACGATGCT

SEC ID N° 63 dominio 5

GCTGACAACAATTTCAACAAAGAACAACAAAATGCTTTCTATGAAATTTTACATTTACCT  
AACTTAACTGAAGAACAACGTAACGGCTTTCATCCAAAGCCTTAAAGACGATCCTTCAGTG  
AGCAAAGAAATTTTAGCAGAAGCTAAAAAGCTAAACGATGCT

SEC ID N° 64 parte de la proteína A de la proteína de fusión

ATGGCGCAACACGATGAAGCTCAACAAAATGCTTTTTATCAAGTCTTAAATATGCCTAAC  
 TTAAATGCTGATCAACGCAATGGTTTTATCCAAAGCCTTAAAGATGATCCAAGCCAAAGT  
 GCTAACGTTTTAGGTGAAGCTCAAAAATTAATGACTCTCAAGCTCCAAAAGCTGATGCG  
 CAACAAAATAACTTCAACAAAGATCAACAAAAGCGCCTTCTATGAAATCTTGAACATGCCT  
 AACTTAAACGAAGCGCAACGTAACGGCTTCATTCAAAGTCTTAAAGACGACCCAAGCCAA  
 AGCACTAACGTTTTAGGTGAAGCTAAAAAATTAACGAATCTCAAGCACCGAAAGCTGAT  
 AACAAATTTCAACAAAGAACAACAAAATGCTTTCTATGAAATCTTGAATATGCCTAACTTA  
 AACGAAGAACAACGCAATGGTTTTCATCCAAAGCTTAAAAGATGACCCAAGCCAAAGTGCT  
 AACCTATTGTGTCAGAAGCTAAAAAGTTAAATGAATCTCAAGCACCGAAAGCGGATAACAAA  
 TTCAACAAAGAACAACAAAATGCTTTCTATGAAATCTTACATTTACCTAACTTAAACGAA  
 GAACAACGCAATGGTTTTCATCCAAAGCCTAAAAGATGACCCAAGCCAAAGCGCTAACCTT  
 TTAGCAGAAGCTAAAAAGCTAAATGATGCTCAAGCACCAAAGCTGACAACAAATTTCAAC  
 AAAGAACAACAAAATGCTTTCTATGAAATTTTACATTTACCTAACTTAACTGAAGAACA  
 CGTAACGGCTTCATCCAAAGCCTTAAAGACGATCCTTCAGTGAGCAAAGAAATTTTAGCA  
 GAAGCTAAAAAGCTAAACGATGCTCAAGCACCAAAGAGGAAGACAATAACAAGCCTGGC  
 AAAGAAGACAATAACAAGCCTGGCAAAGAAGACAACAACAAGCCTGGTAAAGAAGACAAC  
 AACAAAGCCTGGTAAAGAAGACAACAACAAGCCTGGCAAAGAAGACGGCAACAAGCCTGGT  
 AAAGAAGACAACAACAAAACCTGGTAAAGAAGATGGCAACAAGCCTGGTAAAGAAGACAAC  
 AAAAAACCTGGTAAAGAAGACGGCAAACAAGCCTGGCAAAGAAGATGGCAACAACCTGGT  
 AAAGAAGATGGTAAACGGAGTACATGTGGC

SEC ID N° 65 NCTC8325 de SPA

TTGAAAAAGAAAAACATTTATTCAATTCGTAACCTAGGTGTAGGTATTGCATCTGTAAC  
 TTAGGTACATTACTTATATCTGGTGGCGTAACACCTGCTGCAAATGCTGCGCAACACGAT  
 GAAGCTCAACAAAATGCTTTTTATCAAGTCTTAAATATGCCTAACTTAAATGCTGATCAA  
 CGCAATGGTTTTATCCAAAGCCTTAAAGATGATCCAAGCCAAAGTGCTAACGTTTTAGGT  
  
 GAAGCTCAAAAATTAATGACTCTCAAGCTCCAAAAGCTGATGCGCAACAAAATAACTTC  
 AACAAAGATCAACAAAGCGCCTTCTATGAAATCTTGAACATGCCTAACTTAAACGAAGCG  
 CAACGTAACGGCTTCATTCAAAGTCTTAAAGACGACCCAAGCCAAAGCACTAACGTTTTA  
 GGTGAAGCTAAAAAATTAACGAATCTCAAGCACCGAAAGCTGATAACAATTTCAACAAA  
 GAACAACAAAATGCTTTCTATGAAATCTTGAATATGCCTAACTTAAACGAAGAACAACGC  
 AATGGTTTCATCCAAAGCTTAAAAGATGACCCAAGCCAAAGTGCTAACCTATTGTGAGAA  
 GCTAAAAAGTTAAATGAATCTCAAGCACCGAAAGCGGATAACAAAATTTCAACAAAGAACA  
 CAAAATGCTTTCTATGAAATCTTACATTTACCTAACTTAAACGAAGAACAACGCAATGGT  
 TTCATCCAAAGCCTAAAAGATGACCCAAGCCAAAGCGCTAACCTTTTAGCAGAAGCTAAA  
 AAGCTAAATGATGCTCAAGCACCAAAGCTGACAACAAATTTCAACAAAGAACAACAATAAT  
 GCTTTCTATGAAATTTTACATTTACCTAACTTAACTGAAGAACAACGTAACGGCTTCATC  
 CAAAGCCTTAAAGACGATCCTTCAGTGAGCAAAGAAATTTTAGCAGAAGCTAAAAAGCTA  
 AACGATGCTCAAGCACCAAAGAGGAAGACAATAACAAGCCTGGCAAAGAAGACAATAAC  
 AAGCCTGGCAAAGAAGACAACAACAAGCCTGGTAAAGAAGACAACAACAAGCCTGGTAAA  
 GAAGCTAAACAACAAGCCTGGCAAAGAAGACGGCAAACAAGCCTGGTAAAGAAGACAACA  
 AAACCTGGTAAAGAAGATGGCAACAAGCCTGGTAAAGAAGACAACAACAAAACCTGGTAAA  
 GAAGACGGCAACAAGCCTGGCAAAGAAGATGGCAACAACCTGGTAAAGAAGATGGTAAC  
 GGAGTACATGTCGTTAAACCTGGTGATACAGTAAATGACATTGCAAAAAGCAAACGGCACT  
 ACTGCTGACAAAATGCTGTCAGATAAGAAATGACTGATAAAAAACATGATCAAACCTGGT  
 CAAGAACTTGTGTTGATAAGAAGCAACCAGCAAACCATGCAGATGCTAACAAAGCTCAA  
 GCATTACCAGAACTGGTGAAGAAAATCCATTCATCGGTACAACCTGTATTTGGTGGATTA  
 TCATTAGCCTTAGGTGCAGCGTTATTAGCTGGACGTCGTCGCGAACTATAA

SEC ID N° 66 Mu50 de SPA

TTGAAAAAGAAAAACATTTATTCAATTCGTAAACTAGGTGTAGGTATTGCATCTGTAAC  
TTAGGTACATTACTTATATCTGGTGGCGTAACACCTGCTGCAAATGCTGCGCAACACGAT  
GAAGCTCAACAAAATGCTTTTTATCAAGTGTTAAATATGCCTAACTTAAACGCTGATCAA  
CGTAATGGTTTTATCCAAAGCCTTAAAGATGATCCAAGCCAAAGTGCTAACGTTTTAGGT  
GAAGCTCAAAAACCTTAATGACTCTCAAGCTCCAAAAGCTGATGCGCAACAAAATAACTTC  
AACAAAGATCAACAAAGCGCCTTCTATGAAATCTTGAACATGCCTAACTTAAACGAAGCG  
CAACGTAACGGCTTCATTCAAAGTCTTAAAGACGACCCAAGCCAAAGCACTAATGTTTTA  
GGTGAAGCTAAAAATTAACGAATCTCAAGCACCGAAAGCTGATAACAATTTCAACAAA  
GAACAACAAAATGCTTTCTATGAAATCTTGAATATGCCTAACTTAAACGAAGAACAACGC  
AATGGTTTTATCCAAAGCTTAAAGATGACCCAAGCCAAAGTGCTAACCTATTGTGAGAA  
GCTAAAAAGTTAAATGAATCTCAAGCACCGAAAGCGGATAACAAATTCACAAAGAACA  
CAAAATGCTTTCTATGAAATCTTACATTTACCTAACTTAAACGAAGAACAACGTAACGGC  
TTCATCCAAAGCCTTAAAGACGATCCTTCAGTGAGCAAAGAAATTTAGCAGAAGCTAAA  
AAGCTAAACGATGCTCAAGCACCAAAAGAGGAAGACAACAAAAAACCTGGTAAAGAAGAC  
GGCAACAAACCTGGCAAAGAAGACGGCAACAAGCCTGGTAAAGAAGACAACAAAAACCT  
GGTAAAGAAGACGGCAACAAGCCTGGTAAAGAAGACAACAACAACCTGGCAAAGAAGAC  
GGCAACAAGCCTGGTAAAGAAGACAACAACAAGCCTGGTAAAGAAGACGGCAACAAGCCT  
GGTAAAGAAGACGGCAACAACCTGGTAAAGAAGACGGCAACGGAGTACATGTGTTAAA  
CCTGGTGATACAGTAAATGACATTGCAAAAAGCAAACGGCACTACTGCTGACAAAATTGCT  
GCAGATAACAAATTAGCTGATAAAAAACATGATCAAACCTGGTCAAGAACTTGTGTTGAT  
AAGAAGCAACCAGCAAACCATGCAGATGCTAACAAAGCTCAAGCATTACCAGAAACTGGT  
GAAGAAAATCCATTCATCGGTACAACCTGTATTTGGTGGATTATCATTAGCCTTAGGTGCA  
CGTTATTAGCTGGACGTCGTCGCGAACTATAA

SEC ID N° 67 N315 de SPA

TTGAAAAAGAAAAACATTTATTCAATTCGTAAACTAGGTGTAGGTATTGCATCTGTAAC  
TTAGGTACATTACTTATATCTGGTGGCGTAACACCTGCTGCAAATGCTGCGCAACACGAT  
GAAGCTCAACAAAATGCTTTTTATCAAGTGTTAAATATGCCTAACTTAAACGCTGATCAA  
CGTAATGGTTTTATCCAAAGCCTTAAAGATGATCCAAGCCAAAGTGCTAACGTTTTAGGT  
GAAGCTCAAAAACCTTAATGACTCTCAAGCTCCAAAAGCTGATGCGCAACAAAATAACTTC  
AACAAAGATCAACAAAGCGCCTTCTATGAAATCTTGAACATGCCTAACTTAAACGAAGCG

CAACGTAACGGCTTCATTCAAAGTCTTAAAGACGACCCAAGCCAAAGCACTAATGTTTTA  
GGTGAAGCTAAAAATTAACGAATCTCAAGCACCGAAAGCTGATAACAATTTCAACAAA  
GAACAACAAAATGCTTTCTATGAAATCTTGAATATGCCTAACTTAAACGAAGAACAACGC  
AATGGTTTTATCCAAAGCTTAAAGATGACCCAAGCCAAAGTGCTAACCTATTGTGAGAA  
GCTAAAAAGTTAAATGAATCTCAAGCACCGAAAGCGGATAACAAATTCACAAAGAACA  
CAAAATGCTTTCTATGAAATCTTACATTTACCTAACTTAAACGAAGAACAACGTAACGGC  
TTCATCCAAAGCCTTAAAGACGATCCTTCAGTGAGCAAAGAAATTTAGCAGAAGCTAAA  
AAGCTAAACGATGCTCAAGCACCAAAAGAGGAAGACAACAAAAAACCTGGTAAAGAAGAC  
GGCAACAACCTGGCAAAGAAGACGGCAACAAGCCTGGTAAAGAAGACAACAACAACCTGG  
GGCAAACAAGCCTGGTAAAGAAGACAACAACAAGCCTGGTAAAGAAGACGGCAACAAGCCT  
GGTAAAGAAGACGGCAACAACCTGGTAAAGAAGACGGCAACGGAGTACATGTGTTAAA  
CCTGGTGATACAGTAAATGACATTGCAAAAAGCAAACGGCACTACTGCTGACAAAATTGCT  
GCAGATAACAAATTAGCTGATAAAAAACATGATCAAACCTGGTCAAGAACTTGTGTTGAT  
AAGAAGCAACCAGCAAACCATGCAGATGCTAACAAAGCTCAAGCATTACCAGAAACTGGT  
GAAGAAAATCCATTCATCGGTACAACCTGTATTTGGTGGATTATCATTAGCCTTAGGTGCA  
CGTTATTAGCTGGACGTCGTCGCGAACTATAA

SEC ID N° 68 MW2 de SPA

TTGAAAAAGAAAAACATTTATTCAATTTCGTAAGCTAGGTGTAGGTATTGCATCTGTAAC  
 TTAGGTACATTACTTATATCTGGTGGCGTAACACCTGCTGCAAATGCTGCGCAACACGAT  
 GAAGCTCAACAAAAATGCTTTTTATCAAGTGTTAAATATGCCTAACTTAAACGCTGATCAA  
 CGTAATGGTTTTATCCAAAGCCTTAAAGATGATCCAAGCCAAAAGTGCTAACGTTTTAGGT  
 GAAGCTCAAAAACCTTAATGACTCTCAAGCTCCAAAAGCTGATGCGCAACAAAATAACTTC  
 AACAAAGATCAACAAAGCGCCTTCTATGAAATCTTGAACATGCCTAACTTAAACGAAGCG  
 CAACGCAATGGTTTTATTCAAAGTCTTAAAGACGATCCAAGCCAAAGCACTAACGTTTTTA  
 GGTGAAGCTAAAAAATTAACGAATCTCAAGCACCGAAAGCTGACAACAATTTCAACAAA  
 GAACAACAAAATGCTTTCTATGAAATCTTGAACATGCCTAACTTGAACGAAGAACAACGC  
 AATGGTTTCATCCAAAGCTTAAAGATGACCCAAGTCAAAGTGCCTAACCTATTGTCAGAA  
 GCTAAAAAGTTAAATGAATCTCAAGCACCGAAAGCGGATAACAAAATTCACAAAGAACAA  
 CAAAATGCTTTCTATGAAATCTTACATTTACCTAACTTAAACGAAGAACAACGCAATGGT  
 TTCATCCAAAGCTTAAAGATGACCCAAGCCAAAGCGCTAACCTTTTAGCAGAAGCTAAA  
 AAGCTAAATGATGCACAAGCACAAAAGCTGACAACAAAATTCACAAAGAACAACAAAAT  
 GCTTTCATGAAATTTTACATTTACCTAACTTAACTGAAGAACAACGTAACGGCTTCATC  
 CAAAGCCTTAAAGACGATCCTTCAGTGAGCAAAGAAATTTTAGCAGAAGCTAAAAAGCTA  
 AACGATGCTCAAGCACCAAAGAGGAAGACAACAACAAAACCTGGTAAAGAAGACGGCAAC  
 AAACCTGGCAAAGAAGACGCAACAACAAACCTGGCAAAGAAGACAACAACAAAGCTGGCAA  
 GAAGACGGCAACAACCTGGTAAAGAAGACAACAACAAAACCTGGTAAAGAAGATGGCAAC  
 AAGCCTGGCAAAGAAGACAACAACAAACCTGGTAAAGAAGACGGCAACCGGAGTACATGTC  
 GTTAAACCTGGTGATACAGTAAATGACATTGCAAAGCAAACGGCACTACTGCTGACAAA  
 ATTGCTGCAGATAACAATTAGCTGATAAAAACATGATCAAACCTGGTCAAGAACTTGTT  
 GTTGATAAGAAGCAACCAGCAAACCATGCAGATGCTAACAAAGCTCAAGCATTACCAGAA  
 ACTGGTGAAGAAAATCCATTTCATTGGTACAACCTGTATTTGGTGGATTATCATTAGCGTTA  
 GGTGCAGCGTTATTAGCTGGACGTCGTCGCGAACTATAA

SEC ID N° 69 COL de PSA

TTGAAAAAGAAAAACATTTATTCAATTTCGTAAGCTAGGTGTAGGTATTGCATCTGTAAC  
 TTAGGTACATTACTTATATCTGGTGGCGTAACACCTGCTGCAAATGCTGCGCAACACGAT  
 GAAGCTCAACAAAAATGCTTTTTATCAAGTCTTAAATATGCCTAACTTAAATGCTGATCAA  
 CGCAATGGTTTTATCCAAAGCCTTAAAGATGATCCAAGCCAAAAGTGCTAACGTTTTAGGT  
 GAAGCTCAAAAACCTTAATGACTCTCAAGCTCCAAAAGCTGATGCGCAACAAAATAACTTC  
 AACAAAGATCAACAAAGCGCCTTCTATGAAATCTTGAACATGCCTAACTTAAACGAAGCG  
 CAACGTAACGGCTTCATTCAAAGTCTTAAAGACGACCCAAGCCAAAGCACTAACGTTTTTA  
 GGTGAAGCTAAAAAATTAACGAATCTCAAGCACCGAAAGCTGATAACAATTTCAACAAA  
 GAACAACAAAATGCTTTCTATGAAATCTTGAATATGCCTAACTTAAACGAAGAACAACGC

AATGGTTTCATCCAAAGCTTAAAGATGACCCAAGCCAAAGTGCTAACCTATTGTCAGAA  
 GCTAAAAAGTTAAATGAATCTCAAGCACCGAAAGCGGATAACAAAATTCACAAAGAACAA  
 CAAAATGCTTTCTATGAAATCTTACATTTACCTAACTTAAACGAAGAACAACGCAATGGT  
 TTCATCCAAAGCTTAAAGATGACCCAAGCCAAAGCGCTAACCTTTTAGCAGAAGCTAAA  
 AAGCTAAATGATGCTCAAGCACCAAAGCTGACAACAAAATTCACAAAGAACAACAAAAT  
 GCTTTCATGAAATTTTACATTTACCTAACTTAACTGAAGAACAACGTAACGGCTTCATC  
 CAAAGCCTTAAAGACGATCCTTCAGTGAGCAAAGAAATTTTAGCAGAAGCTAAAAAGCTA  
 AACGATGCTCAAGCACCAAAGAGGAAGACAATAACAAGCCTGGCAAAGAAGACAATAAC  
 AAGCCTGGCAAAGAAGACAACAACAAGCCTGGTAAAGAAGACAACAACAAGCCTGGCAA  
 GAAGACGGCAACAAGCCTGGTAAAGAAGACAACAACAAAACCTGGTAAAGAAGATGGCAAC  
 AAGCCTGGTAAAGAAGACAACAACAAAACCTGGTAAAGAAGACGGCAACAAGCCTGGCAA  
 GAAGATGGCAACAACCTGGTAAAGAAGATGGTAAACGGAGTACATGTCGTTAAACCTGGT  
 GATACAGTAAATGACATTGCAAAGCAAACGGCACTACTGCTGACAAAATTTGCTGCAGAT  
 AACAAAATAGCTGATAAAAACATGATCAAACCTGGTCAAGAACTTGTTGTTGATAAGAAG  
 CAACCAGCAAACCATGCAGATGCTAACAAAGCTCAAGCATTACCAGAAAATGGTGAAGAA  
 AATCCATTTCATCGGTACAACCTGTATTTGGTGGATTATCATTAGCCTTAGGTGCAGCGTTA  
 TTAGCTGGACGTCGTCGCGAACTATAA

SEC ID N° 70 MRSA252 de SPA

TTGAAAAAGAAAAACATTTATTCAATTTCGTAAACTAGGTGTAGGTATTGCATCTGTAAC  
 TTAGGTACATTACTTATATCTGGTGGCGTAACACCTGCTGCAAATGCTGCGCAACACGAT  
 GAAGCTCAACAAAATGCTTTTTATCAAGTGTTAAATATGCCTAACTTAAACGCTGATCAA  
 CGTAATGGTTTTATCCAAAGCCTTAAAGATGATCCAAGCCAAAGTGCTAACGTTTTAGGT  
 GAAGCTCAAAAACCTTAATGACTCTCAAGCTCCAAAAGCTGATGCGCAACAAAATAAGTTC  
 AACAAAGATCAACAAAGCGCCTTCTATGAAATCTTGAACATGCCTAACTTAAACGAAGAG  
 CAACGCAATGGTTTCATTCAAAGTCTTAAAGACGATCCAAGCCAAAGCACTAACGTTTTA  
 GGTGAAGCTAAAAAATTAACGAATCTCAAGCACCGAAAGCTGACAACAATTTCAACAAA  
 GAACAACAAAATGCTTTCTATGAAATCTTGAACATGCCTAACTTGAACGAAGAACAACGC  
 AATGGTTTTCATCCAAAGCTTAAAGATGACCCAAAGTCAAAGTGCTAACCTTTTAGCAGAA  
 GCTAAAAAGTTAAATGAATCTCAAGCACCGAAAGCTGATAACAAATTTCAACAAAGAACAA  
 CAAAATGCTTTCTATGAAATCTTACATTTACCTAACTTAAATGAAGAACAACGCAATGGT  
 TTCATCCAAAGCTTAAAGATGACCCAAAGCCAAAGCGCTAACCTTTTAGCAGAAGCTAAA  
 AAGCTAAATGATGCACAAGCACCAAAAGCTGACAACAATTTCAACAAAGAACAACAAAAT  
 GCTTTCTATGAAATTTTACATTTACCTAACTTAACTGAAGAACAACGTAACGGCTTCATC  
 CAAAGCCTTAAAGACGATCCTTCAGTGAGCAAAGAAATTTTAGCAGAAGCTAAAAAGCTA  
 AACGATGCTCAAGCACCAAAAGAGGAAGACAACAACAAGCCTGGCAAAGAAGACAACAAC  
 AAGCCTGGTAAAGAAGACGGCAACAACCTGGTAAAGAAGACAACAACAACTGGCAAA  
 GAAGACGGCAACAACCTGGTAAAGAAGACAACAACAACTGGCAAAGAAGATGGCAAC  
 AAACCTGGTAAAGAAGACGGCAACAAGCCTGGTAAAGAAGATGGCAACAAGCCTGGTAAA  
 GAAGATGGCAACAAGCCTGGTAAAGAAGATGGCAACAAGCCTGGTAAAGAAGACGGCAAC  
 GGAGTACATGTCGTTAAACCTGGTGATACAGTAAATGACATTGCAAAGCAAACGGCACT  
 ACTGCTGACAAAATGCTGCAGATAACAAATTAGCTGATAAAAACATGATCAAACCTGGT  
 CAAGAACCTGTTGTTGATAAGAAGCAACCAGCAAACCATGCAGATGCTAACAAAGCTCAA  
 GCATTACCAGAACTGGTGAAGAAAATCCATTTCATCGGTACAACCTGTATTTGGTGGATTA  
 TCATTAGCGTTAGGTGCAGCGTTATTAGCTGGACGTCGTGCGGAACATAA

SEC ID N° 71 MSSA476 de SPA

TTGAAAAAGAAAAACATTTATTCAATTTCGTAAACTAGGTGTAGGTATTGCATCTGTAAC  
 TTAGGTACATTACTTATATCTGGTGGCGTAACACCTGCTGCAAATGCTGCGCAACACGAT  
 GAAGCTCAACAAAATGCTTTTTATCAAGTGTTAAATATGCCTAACTTAAACGCTGATCAA  
 CGTAATGGTTTTATCCAAAGCCTTAAAGATGATCCAAGCCAAAGTGCTAACGTTTTAGGT  
 GAAGCTCAAAAACCTTAATGACTCTCAAGCTCCAAAAGCTGATGCGCAACAAAATAACTTC  
 AACAAAGATCAACAAAGCGCCTTCTATGAAATCTTGAACATGCCTAACTTAAACGAAGCG  
 CAACGCAATGGTTTCATTCAAAGTCTTAAAGACGATCCAAGCCAAAGCACTAACGTTTTA  
 GGTGAAGCTAAAAAATTAACGAATCTCAAGCACCGAAAGCTGACAACAATTTCAACAAA

GAACAACAAAATGCTTTCTATGAAATCTTGAACATGCCTAACTTGAACGAAGAACAACGC  
 AATGGTTTTCATCCAAAGCTTAAAGATGACCCAAAGTCAAAGTGCTAACCTATTGTGAGAA  
 GCTAAAAAGTTAAATGAATCTCAAGCACCGAAAGCGGATAACAAATTTCAACAAAGAACAA  
 CAAAATGCTTTCTATGAAATCTTACATTTACCTAACTTAAACGAAGAACAACGCAATGGT  
 TTCATCCAAAGCTTAAAGATGACCCAAAGCCAAAGCGCTAACCTTTTAGCAGAAGCTAAA  
 AAGCTAAATGATGCACAAGCACCAAAAGCTGACAACAATTTCAACAAAGAACAACAACAAAT  
 GCTTTCTATGAAATTTTACATTTACCTAACTTAACTGAAGAACAACGTAACGGCTTCATC  
 CAAAGCCTTAAAGACGATCCTTCAGTGAGCAAAGAAATTTTAGCAGAAGCTAAAAAGCTA  
 AACGATGCTCAAGCACCAAAAGAGGAAGACAACAACAACCTGGTAAAGAAGACGGCAAC  
 AAACCTGGTAAAGAAGACGGCAACAACCTGGCAAAGAAGACAACAACAAGCCTGGCAAA  
 GAAGACGGCAACAACCTGGTAAAGAAGACAACAACAACTGGTAAAGAAGATGGCAAC  
 AAGCCTGGCAAAGAAGACAACAACAACCTGGTAAAGAAGACGGCAACGGAGTACATGTC  
 GTTAAACCTGGTGATACAGTAAATGACATTGCAAAGCAAACGGCACTACTGCTGACAAA  
 ATTGCTGCAGATAACAAATTAGCTGATAAAAACATGATCAAACCTGGTCAAGAACCTGTT  
 GTTGATAAGAAGCAACCAGCAAACCATGCAGATGCTAACAAAGCTCAAGCATTACCAGAA  
 ACTGGTGAAGAAAATCCATTTCATGTTGATACAACCTGTATTTGGTGGATTATCATTAGCGTTA  
 GGTGCAGCGTTATTAGCTGGACGTCGTGCGGAACATAA

SEC ID N° 72 V8 de SPA

ATGATGACTTTACAAATACATACAGGGGGTATTAATTTGAAAAAGAAAAACATTTATTCA  
ATTTCGTAAACTAGGTGTAGGTATTGCATCTGTAACCTTAGGTACATTACTTATATCTGGT  
GGCGTAACACCTGCTGCAAATGCTGCGCAACACGATGAAGCTCAACAAAATGCTTTTTAT  
CAAGTGTTAAATATGCCTAACTTAAACGCTGATCAACGTAATGGTTTTATCCAAAGCCTT  
AAAGATGATCCAAGCCAAAGTGCTAACGTTTTAGGTGAAGCTCAAAAACCTTAATGACTCT  
CAAGCTCCAAAAGCTGATGCGCAACAAAATAAGTTCAACAAAGATCAACAAAGCGCCTTC  
TATGAAATCTTGAACATGCCTAACTTAAACGAAGAGCAACGCAATGGTTTCATTCAAAGT  
CTTAAAGACGATCCAAGCCAAAGCACTAACGTTTTAGGTGAAGCTAAAAAATTAACGAA  
TCTCAAGCACCGAAAGCTGACAACAATTTCAACAAAGAACAACAAAATGCTTTCTATGAA  
ATCTTGAACATGCCTAACTTGAACGAAGAACAACGCAATGGTTTTCATCCAAAGCTTAAAA  
GATGACCCAAAGTCAAAGTGCTAACCTTTTAGCAGAAGCTAAAAAGCTAAATGATGCACAA  
GCACCAAAAAGCTGACAACAATTTCAACAAAGAACAACAAAATGCTTTCTATGAAATTTTA  
CATTTACCTAACTTAACTGAAGAACAACGTAACGGCTTCATCCAAAGCCTTAAAGACGAT  
CCTTCAGTGAGCAAAGAAATTTTAGCAGAAGCTAAAAAGCTAAACGATGCTCAAGCACCA  
AAAGAGGAAGACAACAACAAGCCTGGCAAAGAAGACAACAACAAGCCTGGTAAAGAAGAC  
GGCAACAAACCTGGTAAAGAAGACAACAAAAAACCTGGCAAAGAAGACGGCAACAAACCT  
GGTAAAGAAGACAACAAAAAACCTGGTAAAGAAGATGGCAACAAACCTGGTAAAGAAGAC  
GGCAACAAGCCTGGTAAAGAAGATGGCAACAAGCCTGGTAAAGAAGACGGCAACGGAGTA  
CATGTCGTTAAACCTGGTGATACAGTAAATGACATTGCAAAAAGCAAACGGCACTACTGCT  
GACAAAATGCTGTAGATAACAATTAGCTGATAAAAAACATGATCAAACCTGGTCAAGAA  
CTTGTGTTGATAAGAAGCAACCAGCAAACCATGCAGATGCTAACAAAGCTCAAGCATT  
CCAGAAACTGGTGAAGAAAATCCATTCATCGGTACAACCTGTATTTGGTGGATTATCATT  
GCGTTAGGTGCAGCGTTATTAGCTGGACGTCGTCGCGAACTATAA

SEC ID N° 73 proteína de fusión

ATGGCGCAACACGATGAAGCTCAACAAAAATGCTTTTTATCAAGTCTTAAATATGCCTAAC  
 TTAAATGCTGATCAACGCAATGGTTTTATCCAAAGCCTTAAAGATGATCCAAGCCAAAGT  
 GCTAACGTTTTAGGTGAAGCTCAAAAACCTAATGACTCTCAAGCTCCAAAAGCTGATGCG  
 CAACAAAATAACTTCAACAAAGATCAACAAAGCGCCTTCTATGAAATCTTGAACATGCCT  
 AACTTAAACGAAGCGCAACGTAACGGCTTCATTCAAAGTCTTAAAGACGACCCAAGCCAA  
 AGCACTAACGTTTTAGGTGAAGCTAAAAAATTAAACGAATCTCAAGCACCGAAAGCTGAT  
 AACAAATTTCAACAAAGAACAACAAAATGCTTTCTATGAAATCTTGAATATGCCTAACTTA  
 AACGAAGAACAACGCAATGGTTTCATCCAAAGCTTAAAGATGACCCAAGCCAAAGTGCCT

AACCTATTGTCAGAAGCTAAAAAGTTAAATGAATCTCAAGCACCGAAAGCGGATAACAAA  
 TTCAACAAAGAACAACAAAATGCTTTCTATGAAATCTTACATTTACCTAACTTAAACGAA  
 GAACAACGCAATGGTTTCATCCAAAGCCTAAAAGATGACCCAAGCCAAAGCGCTAACCTT  
 TTAGCAGAAGCTAAAAAGCTAAATGATGCTCAAGCACCAAAGCTGACAACAAATTTCAAC  
 AAAGAACAACAAAATGCTTTCTATGAAATTTTACATTTACCTAACTTAACTGAAGAACA  
 CGTAACGGCTTCATCCAAAGCCTTAAAGACGATCCTTCAGTGAGCAAAGAAATTTAGCA  
 GAAGCTAAAAAGCTAAACGATGCTCAAGCACCAAAGAGGAAGACAATAACAAGCCTGGC  
 AAAGAAGACAATAACAAGCCTGGCAAAGAAGACAACAACAAGCCTGGTAAAGAAGACAAC  
 AACAAGCCTGGTAAAGAAGACAACAACAAGCCTGGCAAAGAAGACGGCAACAAGCCTGGT  
 AAAGAAGACAACAACAAAACCTGGTAAAGAAGATGGCAACAAGCCTGGTAAAGAAGACAAC  
 AAAAAACCTGGTAAAGAAGACGGCAACAAGCCTGGCAAAGAAGATGGCAACAACCTGGT  
 AAAGAAGATGGTAAACGGAGTACATGTCGGCGGATCCAGTGAAAACACGCAACAAACTTCA  
 ACTAAGCACCAACAACCTCAAAAACACTACGTAACAGATCAACAAAAGCTTTTTATCAA  
 GTATTACATCTAAAAGGTATCACAGAAGAACAACGTAACCAATACATCAAAAACATTACGC  
 GAACACCCAGAACGTGCACAAGAAGTATTTCTCTGAATCACTTAAAGACAGCAAGAACCCA  
 GACCGACGTGTTGCACAACAAAACGCTTTTTACAATGTTCTTAAAAATGATAACTTAACT  
 GAACAAGAAAAAATAATTACATTGCACAAATTAAGAAAACCCCTGATAGAAGCCAACAA  
 GTTTGGGTAGAATCAGTACAATCTTCTAAAGCTAAAGAACGTCAAAATATTGAAAATGCG  
 GATAAAGCAATTAAAGATTTCCAAGATAACAAAGCACACGATAAATCAGCAGCATAT  
 GAAGCTAACTCAAAATTACCTAAAGATTTACGTGATAAAAACAACCGCTTTGTAGAAAAA  
 GTTTC AATTGAAAAAGCA

SEC ID N° 74 proteína de fusión con una etiqueta de His

ATGGCGCAACACGATGAAGCTCAACAAAATGCTTTTTATCAAGTCTTAAATATGCCTAAC  
 TTAAATGCTGATCAACGCAATGGTTTTATCCAAAGCCTTAAAGATGATCCAAGCCAAAGT  
 GCTAACGTTTTAGGTGAAGCTCAAAAACCTAATGACTCTCAAGCTCCAAAAGCTGATGCG  
 CAACAAAATAACTTCAACAAAGATCAACAAAGCGCCTTCTATGAAATCTTGAACATGCCT  
 AACTTAAACGAAGCGCAACGTAACGGCTTCATTCAAAGTCTTAAAGACGACCCAAGCCAA  
 AGCACTAACGTTTTAGGTGAAGCTAAAAAATTAAACGAATCTCAAGCACCGAAAAGCTGAT  
 AACAAATTTCAACAAAGAACAACAAAATGCTTCTATGAAATCTTGAATATGCCTAACTTA  
 AACGAAGAACAACGCAATGGTTTCATCCAAAGCTTAAAGATGACCCAAGCCAAAAGTGCT  
 AACCTATTGTGAGAAGCTAAAAAGTTAAATGAATCTCAAGCACCGAAAAGCGGATAACAAA  
 TTCAACAAAAGAACAACAAAATGCTTCTATGAAATCTTACATTTACCTAACTTAAACGAA  
 GAACAACGCAATGGTTTCATCCAAAGCCTAAAAGATGACCCAAGCCAAAAGCGCTAACCTT  
 TTAGCAGAAGCTAAAAAGCTAAATGATGCTCAAGCACCAAAGCTGACAACAAAATTC AAC  
 AAAGAACAACAAAATGCTTCTATGAAATTTTACATTTACCTAACTTAACTGAAGAACA  
 CGTAACGGCTTCATCCAAAGCCTTAAAGACGATCCTTCAGTGAGCAAAGAAATTTTAGCA  
 GAAGCTAAAAAGCTAAACGATGCTCAAGCACCAAAGAGGAAGACAATAACAAGCCTGGC  
 AAAGAAGACAATAACAAGCCTGGCAAAGAAGACAACAACAAGCCTGGTAAAGAAGACAAC  
 AACAAGCCTGGTAAAGAAGACAACAACAAGCCTGGCAAAGAAGACGGCAAACAAGCCTGGT  
 AAAGAAGACAACAAAAACCTGGTAAAGAAGATGGCAAACAAGCCTGGTAAAGAAGACAAC  
 AAAAAACCTGGTAAAGAAGACGGCAAACAAGCCTGGCAAAGAAGATGGCAAACAACCTGGT  
  
 AAAGAAGATGGTAACGGAGTACATGTCGGCGGATCCAGTGAAAACACGCAACAAACTTCA  
 ACTAAGCACCAAAACAACTCAAACAACCTACGTAACAGATCAACAAAAAGCTTTTTATCAA  
 GTATTACATCTAAAAGGTATCACAGAAGAACAACGTAACCAATACATCAAAACATTACGC  
 GAACACCCAGAACGTGCACAAGAAGTATTCCTCTGAATCACTTAAAGACAGCAAGAACCCA  
 GACCGACGTGTTGCACAACAAAACGCTTTTTACAATGTTCTTAAAAATGATAACTTAACT  
 GAACAAGAAAAAAATAATTACATTGCACAAATTAAGAAAACCTGATAGAAGCCAAACAA  
 GTTTGGGTAGAATCAGTACAATCTTCTAAAGCTAAAGAACGTCAAAATATTGAAAATGCG  
 GATAAAGCAATTAAGATTTCCAAGATAACAAGCACCAACGATAAATCAGCAGCATAT  
 GAAGCTAACTCAAAATTACCTAAAGATTTACGTGATAAAAAACAACCGCTTTGTAGAAAA  
 GTTTCAATTGAAAAAGCAACTAGTGGCCACCATCACCATCACCATTAA

ID de secuencia Nº 75 - proteína de fusión de proteína A-SdrG-Sbi

atgGCGCAACACGATGAAGCTCAACAAAATGCTTTTATCAAGTCTTAAATATGCCTAACTTAAATGCTGATCAACGCAA  
 TGGTTTTATCCAAAGCCTTAAAGATGATCCAAGCCAAAGTGCTAACGTTTTAGGTGAAGCTCAAAAACCTAATGACTCTC  
 AAGCTCCAAAAGCTGATGCGCAACAAAATAACTTCAACAAAGATCAACAAAGCGCCTTCTATGAAATCTTGAACATGCGCT  
 AACTTAAACGAAGCGCAACGTAACGGCTTCATTCAAAGTCTTAAAGACGACCCAAAGCCAAAGCACTAACGTTTTAGGTGA  
 AGCTAAAAAATTAACGAATCTCAAGCACCGAAAGCTGATAACAATTTCAACAAAGAACAACAAAATGCTTTCTATGAAA  
 TCTTGAATATGCCTAACCTTAAACGAAGAACAACGCAATGGTTTCATCCAAAGCTTAAAGATGACCCAAAGCCAAAGTGCT  
 AACCTATTGTCAGAAGCTAAAAGTTAAATGAATCTCAAGCACCGAAAGCGGATAACAAATTCACAAAGAACAAACAAA  
 TGCTTTCTATGAAATCTTACATTTACCTAACCTTAAACGAAGAACAACGCAATGGTTTCATCCAAAGCCTAAAAGATGACC  
 CAAGCCAAAGCGCTAACCTTTTAGCAGAAGCTAAAAGCTAAATGATGCTCAAGCACCCAAAGCTGACAAACAAATTCAC  
 AAGAACAACAAAATGCTTTCTATGAAATTTTACATTTACCTAACCTTAACTGAAGAACAACGTAACGGCTTCATCCAAAG  
 CCTTAAAGACGATCCTTCAGTGAGCAAAGAAATTTTAGCAGAAGCTAAAAGCTTAAACGATGCTCAAGCACCCAAAGAGG  
 AAGACAATAACAAGCCTGGCAAAGAAGACAATAACAAGCCTGGCAAAGAAGACAACAACAAGCCTGGTAAAGAAGACAAC  
 AACAAAGCCTGGTAAAGAAGACAACAACAAGCCTGGCAAAGAAGACGGCAACAAGCCTGGTAAAGAAGACAACAACAAAAC  
 TGGTAAAGAAGATGGCAACAAGCCTGGTAAAGAAGACAACAACAAAACCTGGTAAAGAAGACGGCAACAAGCCTGGCAAAG  
 AAGATGGCAACAACCTGGTAAAGAAGATGGTAACGGAGTACATGTGCGCgat ccGAGGAGAAATTCAGTACAAGACGTT  
 AAAGATTGCAATACGGATGATGAATATCAGACAGCAATGATCAGTCTAGTGATGAAGAAAAGAATGATGTGATCAATAA  
 TAATCAGTCAATAAACACCGACGATAATAACCAAATAAATAAAAAGAAGAAACGAATAACTACGATGGCATAGAAAAAC  
 GCTCAGAAGATAGAACAGAGTCAACAACAAATGTAGATGAAAACGAAGCAACATTTTTACAAAAGACCCCTCAAGATAAT  
 ACTCATCTTACAGAAGAAGAGGTAAAAGAATCCTCATCAGTCGAATCCTCAAATTCATCAATTGATACTGCCCAACAACC  
 ATCTCACACAACAATAAATAGAGAAGAATCTGTTCAAACAAGTGATAATGTAGAAGATTCACACGTATCAGATTTTGCTA  
 ACTCTAAAATAAAAGAGAGTAACACTGAATCTGGTAAAGAAGAGAATACTATAGAGCAACCTAATAAAGTAAAAGAAGAT  
 TCAACAACAAGTCAGCCGTCTGGCTATACAAATATAGATGAAAAAATTTCAAATCAAGATGAGTTATTAATTTACCAAT  
 AAATGAATATGAAAATAAGGCTAGACCATTATCTACAAACATCTGCCCAACCATCGATTAAACGTGAACCGTAAATCAAT  
 TAGCGGCGGAACAAGGTTCAATGTTAATCATTAAATTAAGTTACTGATCAAAGTATTACTGAAGGATATGATGATAGT  
 GAAGGTGTTAATAAAGCACATGATGCTGAAAACCTAATCTATGATGTAACCTTTGAAGTAGATGATAAGGTGAAATCTGG  
 TGATACGATGACAGTGGATATAGATAAGAAACAGTTCATCAGATTTAACCGATAGCTTTACAATACCAAAAATAAAAG  
 ATAATCTGGAGAAATCATCGCTACAGGTACTTATGATAACAAAATAAACAAATCACCTATACTTTTACAGATTATGTA  
 GATAAGTATGAAAATATTAAGCACACCTTAAATTAACGTCATACATTGATAAATCAAAGGTTCCAAATAATAATACCAA  
 GTTAGATGTAGAATATAAAACGGCCCTTTCATCAGTAAATAAAACAATTCAGGTTGAATATCAAAGACCTAACGAAAATC  
 GGACTGCTAACCTTCAAAGTATGTTACAAAACATAGATACGAAAATCATACAGTTGAGCAAACGATTTATATTAACCTT

CTTCGTTATTTCAGCCAAGGAAACAAATGTAATATTTTCAGGGAATGGTGATGAAGTTCAACAATTATAGACCATAGCAC  
 AATAATTAAAGTTTATAAGGTTGGAGATAATCAAAATTTACCAGATAGTAACAGAATTTATGATTACAGTGAATATGAAG  
 ATGTCACAAATGATGATTATGCCCAATTAGGAAATAATAATGATGTGAATATTAATTTTGGTAATATAGATTCACCATAT  
 ATTATTAAGTTATTAGTAAATATGACCCTAATAAGGATGATTACACGACTATACAGCAAACCTGTGACAATGCAGACGAC  
 TATAAATGAGTATACTGGTGAGTTTAGAACAGCATCCTATGATAATACAATTGCTTTCTCTACAAGTTCAGGTCAAGGAC  
 AAGGTGACTTGCCCTCTGAAAAAATTATAAAATCGGAGATTACGTATGGGAAGATGTAGATAAAGATGGTATTCAAAAT  
 ACAAATGATAATGAAAAACCGCTTAGTAATGTATTGGTAACTTTGACGTATCCTGATGGAACCTTCAAATCAGTCAGAAC  
 AGATGAAGATGGGAAATATCAATTTGATGGATTGAAAAACGGATTGACTTATAAAATTACATTGAAAAACCTGAAGGAT  
 ATACGCCGACGCTTAAACATTTCAGGAACAAATCCTGCACTAGACTCAGAAGGTAATCTGTATGGGTAACCTATTAATGGA  
 CAAGACGATATGACGATTGATAGTGGATTTTATCAAACACCTAAATACAGCTTAGGGAACCTATGTATGGTATGACACTAA  
 TAAAGATGGTATTCAAGGTGATGATGAAAAAGGAATCTCTGGAGTTAAAGTGACCTTAAAAGATGAAAAACGGAAATATCA  
 TTAGTACAACCTACAACCGATGAAAAATGGAAAGTATCAATTTGATAATTTAAATAGTGGTAATTATATTGTTCAATTTGAT  
 AAACCTTCAGGTATGACTCAAACAACAACAGATTCTGGTGATGATGACGAACAGGATGCTGATGGGGAAGAAGTTCATGT  
 AACAATTACTGATCATGATGACTTTAGTATAGATAACGGATACTATGATGACGAAGgatccAGTAAAAACACGCAACAAA  
 CTTCAACTAAGCACCAAACTCAAACAACCTACGTAACAGATCAACAAAAAGCTTTTTATCAAGTATTACATCTAAAA  
 GGTATCACAGAAGAACAACGTAACCAATACATCAAACATTCACGCGAACCCAGAACGTCACACAAGAAGTATTCTCTGA  
 ATCACTTAAAGACAGCAAGAACCAGACCGACGTGTTGCACAACAAAACGCTTTTACAATGTTCTTAAAAATGATAACT  
 TAACTGAACAAGAAAAAATAATTACATTGCACAAATTAAGAAAAACCTGATAGAAGCCAAAGTTTGGGTAGAATCA  
 GTACAATCTCTAAAGCTAAAGAACGTCAAATATTGAAAATGCGGATAAAGCAATTAAAGATTTCCAAGATAACAAAGC  
 ACCACACGATAAATCAGCAGCATATGAAGCTAACTCAAATTAACCTAAAGATTTACGTGATAAAAAACAACCGCTTTGTAG  
 AAAAAGTTTCAATTGAAAAAGCAactagtGGCCACCATCACCATCACCATTAA

ID de secuencia 76 proteína de fusión de proteína A-SdrG-Sbi

MAQHDEAQQNAFYQVLNMPNLNADQRNGFIQSLKDDPSQSANVLGEAQKLNDSQAPKADAQQNNFNKDQQSIFYEILNMP  
 NLNEAQRNGFIQSLKDDPSQSTNVLGEAKKLNESQAPKADNNFNKEQQNAFYEILNMPNLNEEQRNGFIQSLKDDPSQSA  
 NLLSEAKKLNESQAPKADNKFNKEQQNAFYEILHLPLNLEEQRNGFIQSLKDDPSQSANLLAEAKKLNDAQAPKADNKFN  
 KEQQNAFYEILHLPLNLEEQRNGFIQSLKDDPSVSKEILAEAKKLNDAQAPKEEDNKNPKGEDNKNPKGEDNKNPKGEDN  
 NKNPKGEDNKNPKGEDNKNPKGEDNKNPKGEDNKNPKGEDNKNPKGEDNKNPKGEDNKNPKGEDNKNPKGEDNKNPKGEDN  
 KDSNTDDELSDSNDQSSDEEKNDVINNNQSINTDDNNQIIKKEETNNDYDIEKRSEDRTESTTNDVENEATFLQKTPQDN  
 THLTEBEVKESSVSSNSSIDTAQQPSHTTINREESVQTSNDVEDSHVSDFANSKIKESNTESGKEENTIEQPNKVKED  
 STTSQPSGYTNIDEKISNQDELNLPINEYENKARPLSTTSAQPSIKRVTVNQLAAEQGSNVNHLIKVTDQSITEGYDSDS  
 EGVIKARDAENLIYDVTFEVDDKVKSGDTMTVDIDKNTVPSDLTDSFTIPKIKDNSGEIIATGTYDNKNKQIYTFPTDYV  
 DKYENIKAHLKLTYSIDKSKVPMNNTKLDVEYKTALSSVNKTIIVEYQRPENRTANLQSMPTNIDTKNHTVEQTIYINP  
 LRYSAKETNVNISGNGDEGSTIIDSTIIKVYKVDNQNLPDSNRIYDYSEYEDVTNDDYAQLGNNNDVNIIFGNIDSPY  
 IIKVISKYDPNKDDYTTIQQVTMQTTINEYTGEFRTASVDNTIAFSTSSGQGGDLPEKTYKIGDYVWEDVDKDGIQN  
 TNDNEKPLSNVLVTLTYPDGTSKSVRTDEDKYQFDGLKNGLYKIFTFETPEGYPTLKHSGTNPALDSEGSNVVWVTING  
 QDDMTIDSGFYQTPKYSLGNYVWYDITNKDGIQGDDEKISGVKVLTKDENGNIISTTTDENGKYQFDNLNSGNYIVHPD  
 KPSGMTQTTTDSGDDDEQDADGEEVHVITIDHDDFSIDNGYYDDEGSSENTQQTSTKHQTTQNNYVTDQQKAFYQVLHLK  
 GITEBQRNQYIKTLREHPERAQEVFSESLKDSKNPDRRVAQQNAFYNVLKNLNLTEQEKNNYIAQIKENPDRSQQVWVES  
 VQSSKAKERQNIENADKAIKDFQDNKAPHDKSAAYEANSKLPKDLRDKNNRFVEKVSIEKATSGHHHHHH

## REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición inmunógena que comprende dos polipéptidos estafilocócicos diferentes aislados, cada uno de los cuales comprende un dominio de unión a la IgG, en la que los polipéptidos estafilocócicos aislados comprenden un polipéptido aislado de la proteína A procedente de *S. aureus* que tiene una secuencia que es idéntica en al menos el 90 % a las SEC ID N°: 12 - 40, y un polipéptido aislado de la Sbi procedente de *S. aureus* que tiene una secuencia que es idéntica en al menos el 90 % a las SEC ID N°: 1 - 11.
2. La composición inmunógena de la reivindicación 1 en la que el polipéptido aislado de la proteína A está unido covalentemente al polipéptido aislado de la Sbi para formar una proteína de fusión.
- 10 3. La composición inmunógena de la reivindicación 2 en la que la proteína de fusión tiene una secuencia polipeptídica que es idéntica en al menos el 90 % a la secuencia de las SEC ID N°: 41 - 42 o 76.
4. La composición inmunógena de una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 3 que comprende un antígeno estafilocócico adicional.
5. La composición inmunógena de la reivindicación 4 en la que el antígeno estafilocócico adicional comprende el polisacárido capsular de tipo 8 de *S. aureus*.
- 15 6. La composición inmunógena de la reivindicación 5 en la que el polisacárido capsular de tipo 8 de *S. aureus* está conjugado con una proteína portadora.
7. La composición inmunógena de una cualquiera de las reivindicaciones 6 en la que la proteína portadora se elige independientemente de entre el grupo que consiste en el toxoide del tétanos, el toxoide de la difteria, la CRM197, la proteína D, la toxina alfa, la SdrG, la ClfA, la LsdA, la LsdB, la LsdH, la proteína A, la Sbi y una proteína de fusión de proteína A-Sbi.
- 20 8. La composición inmunógena de la reivindicación 6 o 7 en la que el antígeno estafilocócico adicional comprende una proteína seleccionada de entre el grupo que consiste en la Ebh, la proteína de unión a la elastina, la EFB, la ClfA, la ClfB, la SdrC, la SdrG, la FnbA, la FbpA, la IsaA / PisA, la proteína de unión a la penicilina 4, la AhpC, la SsaA, la Aap, la SasA, la LsdA, la LsdB, la LsdC, la HarA, la toxina alfa, la toxina alfa H35R mutante y la RAP.
- 25 9. Un polipéptido que comprende: a) una parte de la proteína A que tiene una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el 90 % con una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste en las SEC ID N° 12 - 40 y b) una parte de la Sbi que tiene una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos el 90 % con una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste en las SEC ID N° 1 - 11.
- 30 10. El polipéptido de la reivindicación 9 que tiene una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos el 90 % a las SEC ID N° 41 o 42 o 76.
11. Un polinucleótido que comprende: a) una región codificante de la proteína A que tiene una identidad de al menos el 90 % con una secuencia de polinucleótidos seleccionada de entre el grupo que consiste en las SEC ID N° 54 - 72 y b) una región codificante de la Sbi que tiene una identidad de al menos el 90 % con una secuencia de polinucleótidos seleccionada de entre el grupo que consiste en las SEC ID N° 43 - 53.
- 35 12. Un polinucleótido que codifica una proteína de fusión que comprende: a) una parte de la proteína A que tiene una identidad de al menos el 90 % con una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste en las SEC ID N° 12 - 40 y b) una parte de la Sbi que tiene una identidad de al menos el 90 % con una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste en las SEC ID N° 1 - 11.
- 40 13. Una vacuna que comprende la composición inmunógena de una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 8 o el polipéptido de la reivindicación 9 o 10 y un portador farmacéuticamente aceptable.
14. Un procedimiento de fabricación de la vacuna de la reivindicación 13 que comprende la etapa de la adición de un excipiente farmacéuticamente aceptable a la composición inmunógena de una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 8 o al polipéptido de una cualquiera de las reivindicaciones 9 o 10.
- 45 15. Una composición inmunógena de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 8 para su uso en el tratamiento de la prevención de una enfermedad estafilocócica.

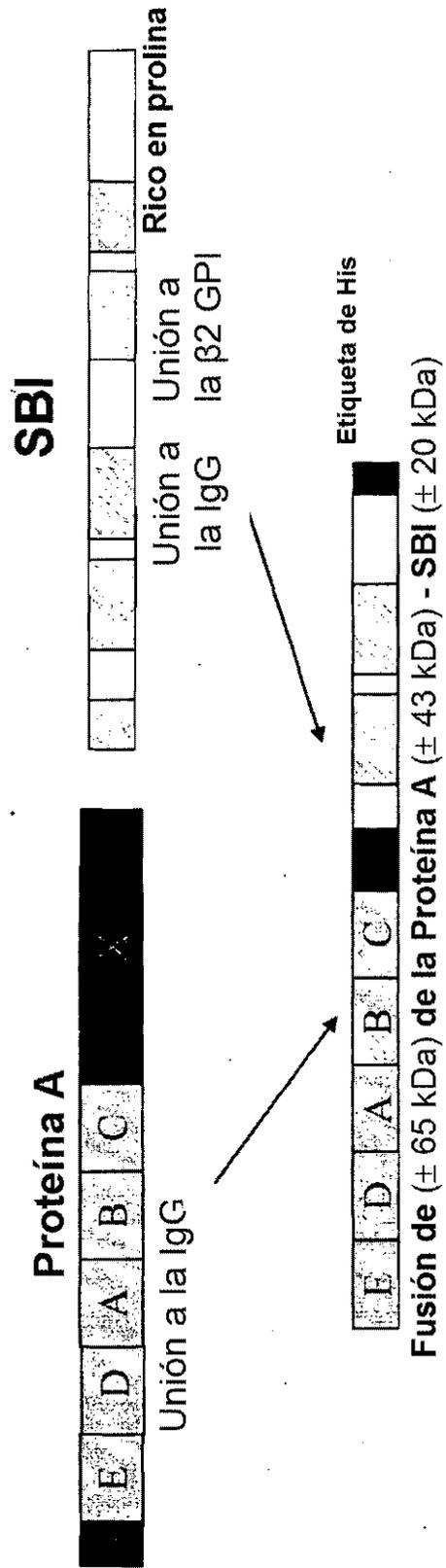


Figura 1

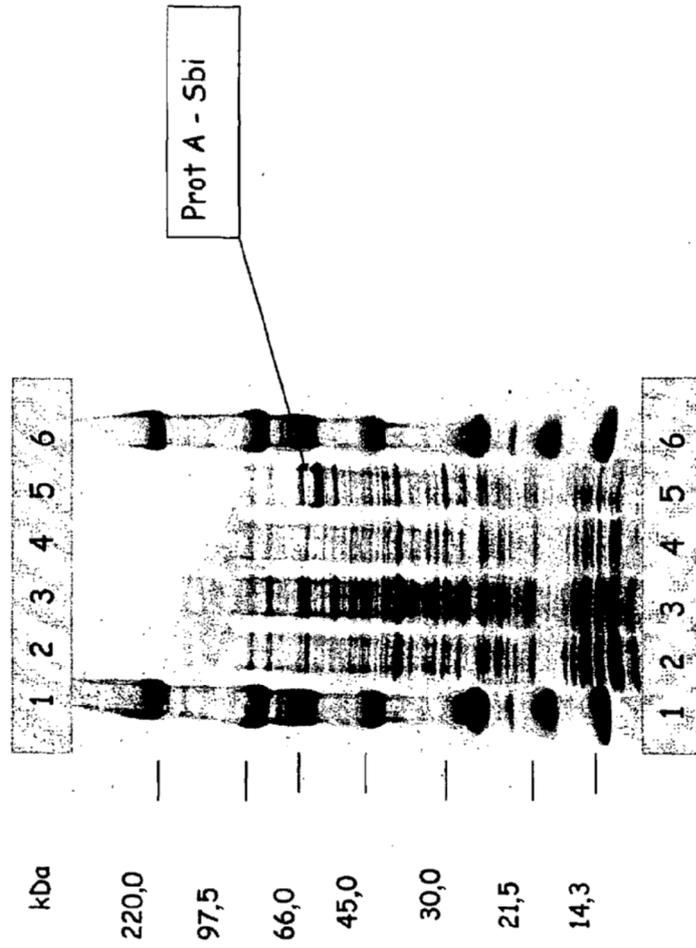


Figura 2

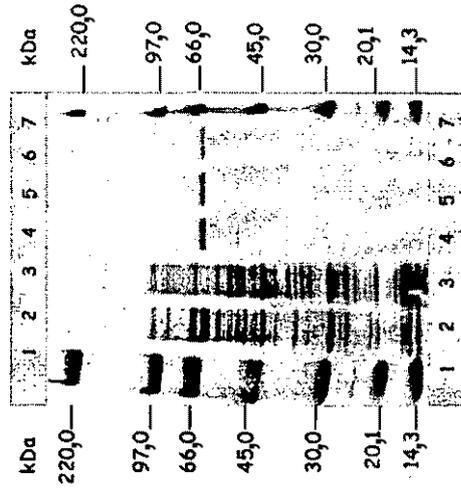
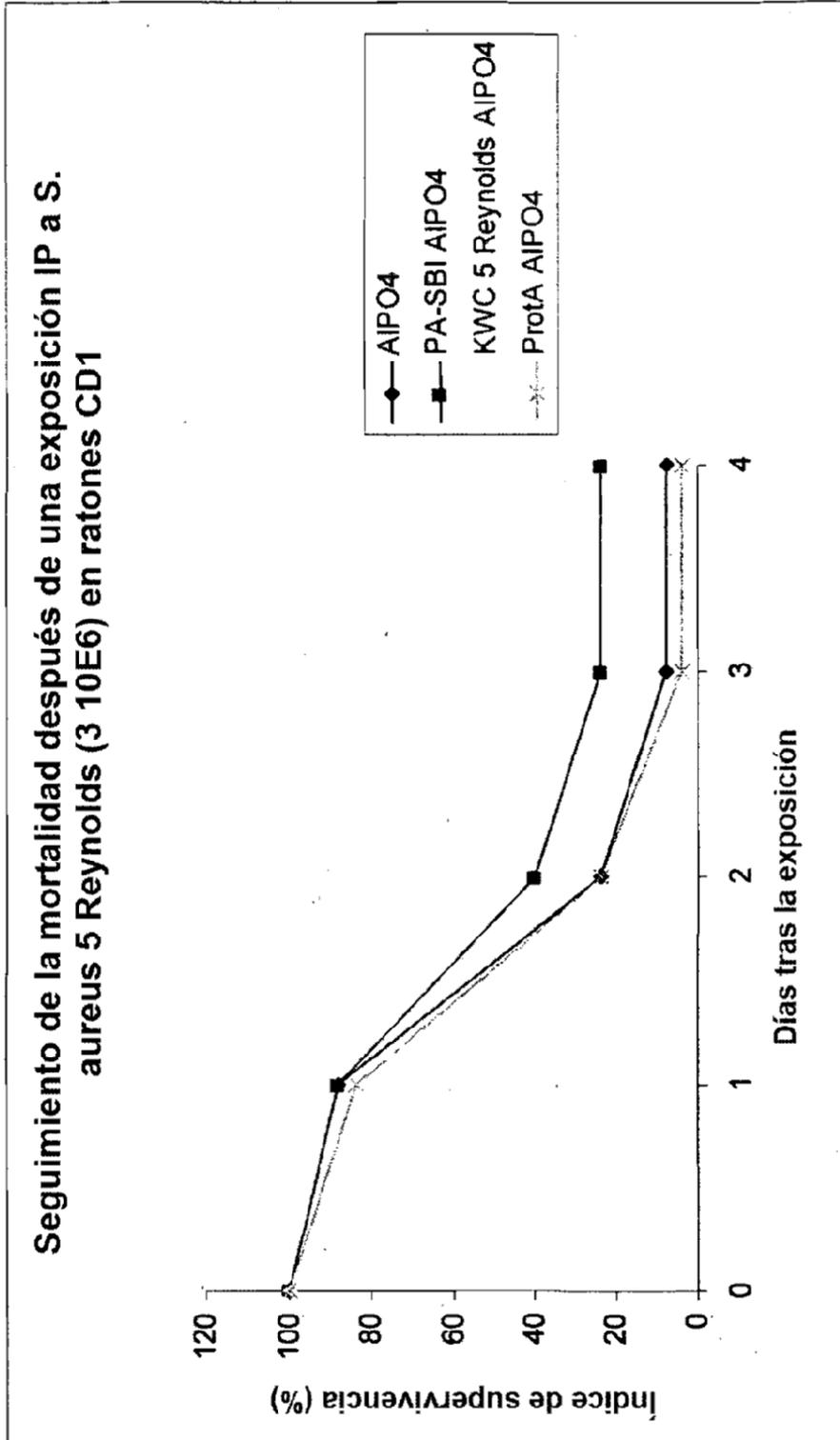


Figura 3



**Figura 4**

**Figura 5: comparaciones de la SBI**

**Alineación de las secuencias completas de la proteína**

**2 dominios de unión a la IgG: desde los aminoácidos 42 - 93 (gris claro) y 94 - 147 (gris intermedio) para COL, NCTC, N315, MSSA, MW2 y MRSA.**

```

                *           20           *           40           *
SBI_COL : --MKNKYISKLLVGAATITLATMISNGEAKASENTQQTSTKHQTTQNNYV : 48
SBI_NCTC : --MKNKYISKLLVGAATITLATMISNGEAKASENTQQTSTKHQTTQNNYV : 48
SBI_MU50 : MHMKNKYISKLLVGAATITLATMISNGEAKASENTQQTSTKHQTTQNNYV : 50
SBI_N315 : --MKNKYISKLLVGAATITLATMISNGEAKASENTQQTSTKHQTTQNNYV : 48
SBI_MSSA : --MKNKYISKLLVGAATITLATMISNGEAKASENTQQTSTKHQTTQNNYV : 48
SBI_MW2 : --MKNKYISKLLVGAATITLATMISNGEAKASENTQQTSTKHQTTQNNYV : 48
SBI_MRSA : --MKNKYISKLLVGAATITLATMISNGEAKASENTQQTSTKHQTTQNNYV : 48
    
```

```

                60           *           80           *           100
SBI_COL : TDQQKAFYQVLHLKGI TEEQRNQYI KTLREHPERAQEVFSES LKDSK NPD : 98
SBI_NCTC : TDQQKAFYQVLHLKGI TEEQRNQYI KTLREHPERAQEVFSES LKDSK NPD : 98
SBI_MU50 : TDQQKAFYQVLHLKGI TEEQRNQYI KTLREHPERAQEVFSES LKDSK NPD : 100
SBI_N315 : TDQQKAFYQVLHLKGI TEEQRNQYI KTLREHPERAQEVFSES LKDSK NPD : 98
SBI_MSSA : TDQQKAFYQVLHLKGI TEEQRNQYI KTLREHPERAQEVFSES LKDSK NPD : 98
SBI_MW2 : TDQQKAFYQVLHLKGI TEEQRNQYI KTLREHPERAQEVFSES LKDSK NPD : 98
SBI_MRSA : TDQQKAFYQVLHLKGI TEEQRNQYI KTLREHPERAQEVFSES LKDSK NPD : 98
    
```

```

                *           120           *           140           *
SBI_COL : RRVAQQNAFYNVLKNNDNLTEQEKNNYIAQI KENPDRSQQVWVESVQSSKA : 148
SBI_NCTC : RRVAQQNAFYNVLKNNDNLTEQEKNNYIAQI KENPDRSQQVWVESVQSSKA : 148
SBI_MU50 : RRVAQQNAFYNVLKNNDNLTEQEKNNYIAQI KENPDRSQQVWVESVQSSKA : 150
SBI_N315 : RRVAQQNAFYNVLKNNDNLTEQEKNNYIAQI KENPDRSQQVWVESVQSSKA : 148
SBI_MSSA : RRVAQQNAFYNVLKNNDNLTEQEKNNYIAQI KENPDRSQQVWVESVQSSKA : 148
SBI_MW2 : RRVAQQNAFYNVLKNNDNLTEQEKNNYIAQI KENPDRSQQVWVESVQSSKA : 148
SBI_MRSA : RRVAQQNAFYNVLKNNDNLTEQEKNNYIAQI KENPDRSQQVWVESVQSSKA : 148
    
```

```

                160           *           180           *           200
SBI_COL : KERQNIENADKAIKDFQDNKAPHDKSAAYEANSKLPKDLRDKNNRFVEKV : 198
SBI_NCTC : KERQNIENADKAIKDFQDNKAPHDKSAAYEANSKLPKDLRDKNNRFVEKV : 198
SBI_MU50 : KERQNIENADKAIKDFQDNKAPHDKSAAYEANSKLPKDLRDKNNRFVEKV : 200
SBI_N315 : KERQNIENADKAIKDFQDNKAPHDKSAAYEANSKLPKDLRDKNNRFVEKV : 198
SBI_MSSA : KERQNIENADKAIKDFQDNKAPHDKSAAYEANSKLPKDLRDKNNRFVEKV : 198
SBI_MW2 : KERQNIENADKAIKDFQDNKAPHDKSAAYEANSKLPKDLRDKNNRFVEKV : 198
SBI_MRSA : KERQNIENADKAIKDFQDNKAPHDKSAAYEANSKLPKDLRDKNNRFVEKV : 198
    
```

```

                *           220           *           240           *
SBI_COL : SIEKAIVRHDERVKSANDAISKLNISKDSIENRRLAQREVNKAPMDVKEHL : 248
SBI_NCTC : SIEKAIVRHDERVKSANDAISKLNISKDSIENRRLAQREVNKAPMDVKEHL : 248
SBI_MU50 : SIEKAIVRHDERVKSANDAISKLNISKDSIENRRLAQREVNKAPMDVKEHL : 250
SBI_N315 : SIEKAIVRHDERVKSANDAISKLNISKDSIENRRLAQREVNKAPMDVKEHL : 248
SBI_MSSA : SIEKAIVRHDERVKSANDAISKLNISKDSIENRRLAQREVNKAPMDVKEHL : 248
SBI_MW2 : SIEKAIVRHDERVKSANDAISKLNISKDSIENRRLAQREVNKAPMDVKEHL : 248
SBI_MRSA : SIEKAIVRHDERVKSANDAISKLNISKDSIENRRLAQREVNKAPMDVKEHL : 248
    
```

ES 2 558 703 T3

```

                260          *          280          *          300
SBI_COL : QKQLDALVAQKDAEKKVAPKVEAPQIQSPQIEKPKVESPKVEVPQIQSPK : 298
SBI_NCTC : QKQLDALVAQKDAEKKVAPKVEAPQIQSPQIEKPKVESPKVEVPQIQSPK : 298
SBI_MU50 : QKQLDALVAQKDAEKKVAPKVEAPQIQSPQIEKPKAESPKVEVPQIQSPK : 290
SBI_N315 : QKQLDALVAQKDAEKKVAPKVEAPQIQSPQIEKPKAESPKVEVPQIQSPK : 298
SBI_MSSA : QKQLDALVAQKDAEKKVAPKVEAPQIQSPQIEKPKAESPKVEVPQIQSPK : 298
SBI_MW2 : QKQLDALVAQKDAEKKVAPKVEAPQIQSPQIEKPKAESPKVEVPQIQSPK : 298
SBI_MRSA : QKQLDALVAQKDAEKKVAPKVEAPQIQSPQIEKPKAESPKVEVPQIQSPK : 298
    
```

```

                *          320          *          340          *
SBI_COL : VEVPOSKLLGYYQSLKDSFNNGYKYLTDYKSYKEKYDTAKYYYNTYYKY : 348
SBI_NCTC : VEVPOSKLLGYYQSLKDSFNNGYKYLTDYKSYKEKYDTAKYYYNTYYKY : 348
SBI_MU50 : VEVPOSKLLGYYQSLKDSFNNGYKYLTDYKSYKEKYDTAKYYYNTYYKY : 340
SBI_N315 : VEVPOSKLLGYYQSLKDSFNNGYKYLTDYKSYKEKYDTAKYYYNTYYKY : 348
SBI_MSSA : VEVPOSKLLGYYQSLKDSFNNGYKYLTDYKSYKEKYDTAKYYYNTYYKY : 348
SBI_MW2 : VEVPOSKLLGYYQSLKDSFNNGYKYLTDYKSYKEKYDTAKYYYNTYYKY : 348
SBI_MRSA : VEVPOSKLLGYYQSLKDSFNNGYKYLTDYKSYKEKYDTAKYYYNTYYKY : 348
    
```

```

                360          *          380          *          400
SBI_COL : KCAIDQTVLTVLGSQSKSYIQPLKVDDKNGYLAKSYAQVRNYVTESINTG : 398
SBI_NCTC : KCAIDQTVLTVLGSQSKSYIQPLKVDDKNGYLAKSYAQVRNYVTESINTG : 398
SBI_MU50 : KCAIDQTVLTVLGSQSKSYIQPLKVDDKNGYLAKSYAQVRNYVTESINTG : 390
SBI_N315 : KCAIDQTVLTVLGSQSKSYIQPLKVDDKNGYLAKSYAQVRNYVTESINTG : 398
SBI_MSSA : KCAIDKAVLTLGDSKSYIQPLKVDDKNGYLAKSYAQVRNYVTESINTG : 398
SBI_MW2 : KCAIDKAVLTLGDSKSYIQPLKVDDKNGYLAKSYAQVRNYVTESINTG : 398
SBI_MRSA : KGLILKTVLTTICQYCSYIKPLEVSKESQNLAKSYAQVRNYVTESINTG : 398
    
```

```

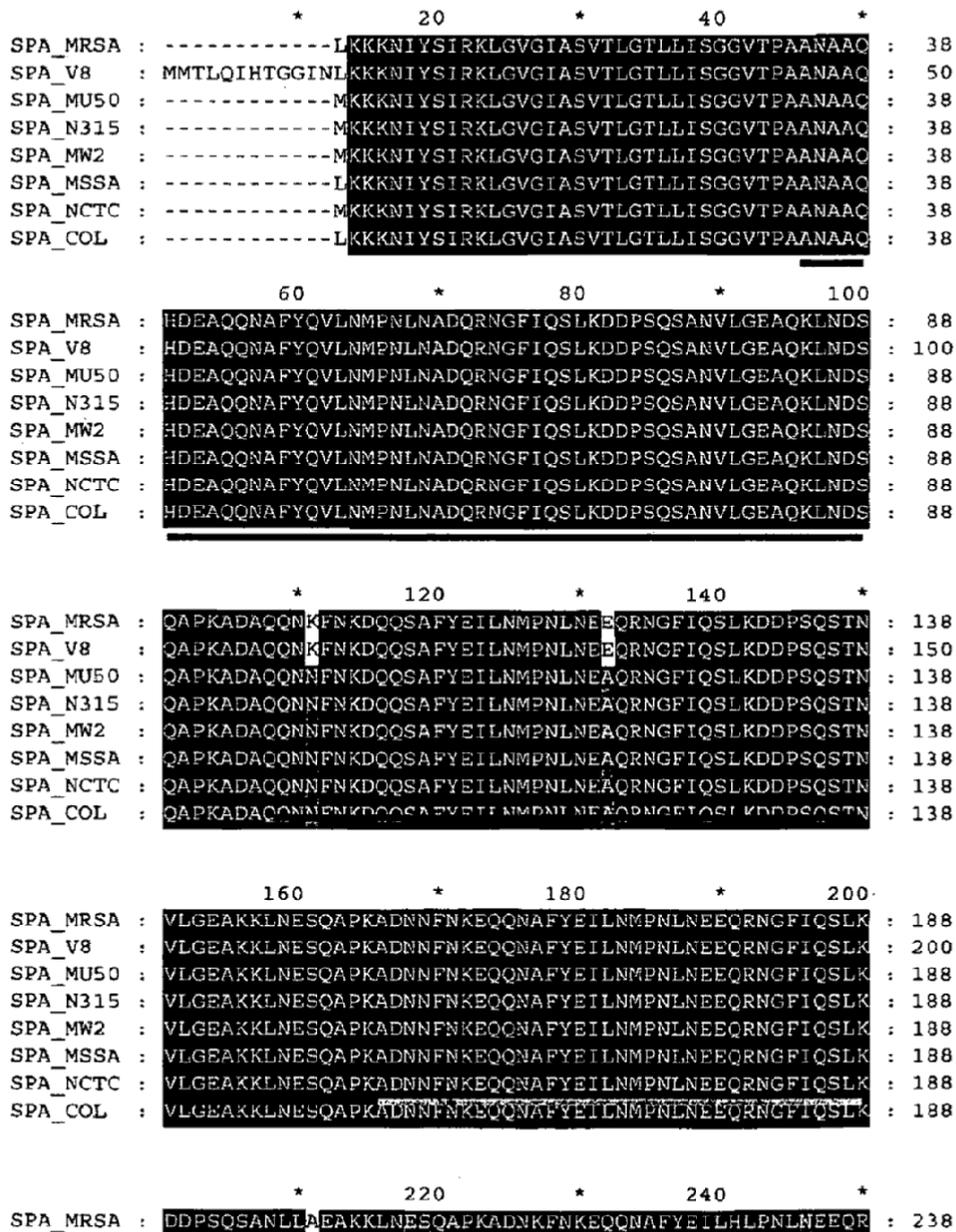
                *          420          *
SBI_COL : KVLVTFYQNPPLVKTAIKAQETASSIKNTLSNLL-SFWK : 436
SBI_NCTC : KVLVTFYQNPPLVKTAIKAQETASSIKNTLSNLL-SFWK : 436
SBI_MU50 : KVLVTFYQNPPLVKTAIKAQETASSIKNTLSNLL-SFWK : 428
SBI_N315 : KVLVTFYQNPPLVKTAIKAQETASSIKNTLSNLL-SFWK : 436
SBI_MSSA : KVLVTFYQNPPLVKTAIKAQETASSIKNTITGLFNSFWK : 437
SBI_MW2 : KVLVTFYQNPPLVKTAIKAQETASSIKNTITGLFNSFWK : 437
SBI_MRSA : KVLVTFYQNPPLVKTAIKAQETATTFKNAITGIFKSFWK : 437
    
```

**Figura 5: comparaciones de la Proteína A (SPA)**

Alineación de las secuencias completas de la proteína

Los aminoácidos idénticos y los similares (con las mismas propiedades fisicoquímicas) de una columna están destacados en negro.

4 o 5 dominios de unión a la IgG están destacados con un subrayado



ES 2 558 703 T3

```

SPA_V8      : DDPSQSANLLAEAKKLNDAAQAPKADNKFNKEQQNAFYELHLPLNLTTEEQR : 250
SPA_MU50    : DDPSQSANLLSEAKKLNESQAPKADNKFNKEQQNAFYELHLPLNLTTEEQR : 238
SPA_N315    : DDPSQSANLLSEAKKLNESQAPKADNKFNKEQQNAFYELHLPLNLTTEEQR : 238
SPA_MW2     : DDPSQSANLLSEAKKLNESQAPKADNKFNKEQQNAFYELHLPLNLTTEEQR : 238
SPA_MSSA    : DDPSQSANLLSEAKKLNESQAPKADNKFNKEQQNAFYELHLPLNLTTEEQR : 238
SPA_NCTC    : DDPSQSANLLSEAKKLNESQAPKADNKFNKEQQNAFYELHLPLNLTTEEQR : 238
SPA_COL     : DDPSQSANLLSEAKKLNESQAPKADNKFNKEQQNAFYELHLPLNLTTEEQR : 238
    
```

```

                260          *          280          *          300
SPA_MRSA : NGFIQSLKDDPSQSANLLAEAKKLNDAAQAPKADNKFNKEQQNAFYELHLH : 288
SPA_V8    : NGFIQSLKDDPSVSKETLAEAKKLNDAAQAPKEEDNKKPGKE----- : 291
SPA_MU50  : NGFIQSLKDDPSVSKETLAEAKKLNDAAQAPKEEDNKKPGKE----- : 279
SPA_N315  : NGFIQSLKDDPSVSKETLAEAKKLNDAAQAPKEEDNKKPGKE----- : 279
SPA_MW2   : NGFIQSLKDDPSQSANLLAEAKKLNDAAQAPKADNKFNKEQQNAFYELHLH : 288
SPA_MSSA  : NGFIQSLKDDPSQSANLLAEAKKLNDAAQAPKADNKFNKEQQNAFYELHLH : 288
SPA_NCTC  : NGFIQSLKDDPSQSANLLAEAKKLNDAAQAPKADNKFNKEQQNAFYELHLH : 288
SPA_COL   : NGFIQSLKDDPSQSANLLAEAKKLNDAAQAPKADNKFNKEQQNAFYELHLH : 288
    
```

```

                *          320          *          340          *
SPA_MRSA : PNLTEEQRNGFIQSLKDDPSVSKETLAEAKKLNDAAQAPKEEDNKKPKGED : 338
SPA_V8    : -----DNNKPGKEDGNKPKGED : 308
SPA_MU50  : -----DGNKPGKEDGNKPKGED : 296
SPA_N315  : -----DGNKPGKEDGNKPKGED : 296
SPA_MW2   : PNLTEEQRNGFIQSLKDDPSVSKETLAEAKKLNDAAQAPKEEDNKKPKGED : 338
SPA_MSSA  : PNLTEEQRNGFIQSLKDDPSVSKETLAEAKKLNDAAQAPKEEDNKKPKGED : 338
SPA_NCTC  : PNLTEEQRNGFIQSLKDDPSVSKETLAEAKKLNDAAQAPKEEDNKKPKGED : 338
SPA_COL   : PNLTEEQRNGFIQSLKDDPSVSKETLAEAKKLNDAAQAPKEEDNKKPKGED : 338
    
```

```

                360          *          380          *          400
SPA_MRSA : NNKPKGED-----GNKPKGEDNKKPKGEDGN : 364
SPA_V8    : NNKPKGED-----GNKPKGEDNKKPKGEDGN : 334
SPA_MU50  : NNKPKGED-----GNKPKGEDNKKPKGEDGN : 322
SPA_N315  : NNKPKGED-----GNKPKGEDNKKPKGEDGN : 322
SPA_MW2   : GNKPKGED-----GNKPKGEDNKKPKGEDGN : 364
SPA_MSSA  : GNKPKGED-----GNKPKGEDNKKPKGEDGN : 364
SPA_NCTC  : NNKPKGEDNKKPKGEDNKKPKGEDNKKPKGEDGNKPKGEDNKKPKGEDGN : 388
SPA_COL   : NNKPKGEDNKKPKGEDNKKPKG-----EDGNKPKGEDNKKPKGEDGN : 380
    
```

```

                *          420          *          440          *
SPA_MRSA : KPGKEDNKKPKGEDGNKPKGEDGNKPKGEDGNKPKGEDGNKPKGEDGNKPK : 414
SPA_V8    : KPGKEDGNKPKGEDGNKPKGEDGN----- : 358
SPA_MU50  : KPGKEDNKKPKGEDGNKPKGEDGNKPKGEDGN----- : 354
SPA_N315  : KPGKEDNKKPKGEDGNKPKGEDGNKPKGEDGN----- : 354
SPA_MW2   : KPGKEDNKKPKGEDGNKPKGEDNKKPKGEDGN----- : 396
SPA_MSSA  : KPGKEDNKKPKGEDGNKPKGEDNKKPKGEDGN----- : 396
SPA_NCTC  : KPGKEDNKKPKGEDGNKPKGEDGNKPKGEDGN----- : 420
SPA_COL   : KPGKEDNKKPKGEDGNKPKGEDGNKPKGEDGN----- : 412
    
```

```

                460          *          480          *          500
SPA_MRSA : GKEDGNGVHVVKPGDVTVDIAKANGTTADKIAADNKLADKNMIKPGQELV : 464
SPA_V8    : -----GVHVVKPGDVTVDIAKANGTTADKIAADNKLADKNMIKPGQELV : 402
SPA_MU50  : -----GVHVVKPGDVTVDIAKANGTTADKIAADNKLADKNMIKPGQELV : 398
SPA_N315  : -----GVHVVKPGDVTVDIAKANGTTADKIAADNKLADKNMIKPGQELV : 398
    
```

ES 2 558 703 T3

```

SPA_MW2 : -----GVHVVKPGDTVNDIAKANGTTADKIAADNKLADKNMIKPGQELV : 440
SPA_MSSA : -----GVHVVKPGDTVNDIAKANGTTADKIAADNKLADKNMIKPGQELV : 440
SPA_NCTC : -----GVHVVKPGDTVNDIAKANGTTADKIAADNKLADKNMIKPGQELV : 464
SPA_COL  : -----GVHVVKPGDTVNDIAKANGTTADKIAADNKLADKNMIKPGQELV : 456
  
```

```

          *           520           *           540           *
SPA_MRSA : VDKKQPANHADANKAQAALPETGEENPFIGTTVFGGLSLALGAALLAGRRR : 514
SPA_V8   : VDKKQPANHADANKAQAALPETGEENPFIGTTVFGGLSLALGAALLAGRRR : 452
SPA_MU50 : VDKKQPANHADANKAQAALPETGEENPFIGTTVFGGLSLALGAALLAGRRR : 448
SPA_N315 : VDKKQPANHADANKAQAALPETGEENPFIGTTVFGGLSLALGAALLAGRRR : 448
SPA_MW2  : VDKKQPANHADANKAQAALPETGEENPFIGTTVFGGLSLALGAALLAGRRR : 490
SPA_MSSA : VDKKQPANHADANKAQAALPETGEENPFIGTTVFGGLSLALGAALLAGRRR : 490
SPA_NCTC : VDKKQPANHADANKAQAALPETGEENPFIGTTVFGGLSLALGAALLAGRRR : 514
SPA_COL  : VDKKQPANHADANKAQAALPETGEENPFIGTTVFGGLSLALGAALLAGRRR : 506
  
```

```

          560
SPA_MRSA : EL----- : 516
SPA_V8   : EL----- : 454
SPA_MU50 : EL----- : 450
SPA_N315 : EL----- : 450
SPA_MW2  : EL----- : 492
SPA_MSSA : EL----- : 492
SPA_NCTC : EL----- : 516
SPA_COL  : EL----- : 508
  
```

**Figura 5: comparación de los dominios de unión a la IgG SBI y SPA**

Los aminoácidos idénticos y los similares (con las mismas propiedades fisicoquímicas) de una columna están destacados en negro.

	*	20	*	40	*
SPA_MRSA_5	:	ADNKFNKEQONAFYEILHLPNLTTEEQRNGFIOSLKDDPSVSKETLAEAKKLNDA	:	54	
SPA_MSSA_5	:	ADNKFNKEQONAFYEILHLPNLTTEEQRNGFIOSLKDDPSVSKETLAEAKKLNDA	:	54	
SPA_COL_5	:	ADNKFNKEQONAFYEILHLPNLTTEEQRNGFIOSLKDDPSVSKETLAEAKKLNDA	:	54	
SPA_MW2_5	:	ADNKFNKEQONAFYEILHLPNLTTEEQRNGFIOSLKDDPSVSKETLAEAKKLNDA	:	54	
SPA_NCTC_5	:	ADNKFNKEQONAFYEILHLPNLTTEEQRNGFIOSLKDDPSVSKETLAEAKKLNDA	:	54	
SPA_V8_4	:	ADNKFNKEQONAFYEILHLPNLTTEEQRNGFIOSLKDDPSVSKETLAEAKKLNDA	:	54	
SPA_MU50_4	:	ADNKFNKEQONAFYEILHLPNLTTEEQRNGFIOSLKDDPSVSKETLAEAKKLNDA	:	54	
SPA_N315_4	:	ADNKFNKEQONAFYEILHLPNLTTEEQRNGFIOSLKDDPSVSKETLAEAKKLNDA	:	54	
SPA_NCTC_4	:	ADNKFNKEQONAFYEILHLPNLTTEEQRNGFIOSLKDDPSOSANLLAEAKKLNDA	:	54	
SPA_MW2_4	:	ADNKFNKEQONAFYEILHLPNLTTEEQRNGFIOSLKDDPSOSANLLAEAKKLNDA	:	54	
SPA_COL_4	:	ADNKFNKEQONAFYEILHLPNLTTEEQRNGFIOSLKDDPSOSANLLAEAKKLNDA	:	54	
SPA_MRSA_4	:	ADNKFNKEQONAFYEILHLPNLTTEEQRNGFIOSLKDDPSOSANLLAEAKKLNDA	:	54	
SPA_MSSA_4	:	ADNKFNKEQONAFYEILHLPNLTTEEQRNGFIOSLKDDPSOSANLLAEAKKLNDA	:	54	
SPA_V8_3	:	ADNNFNKEQONAFYEILNMPNLTTEEQRNGFIOSLKDDPSOSANLLAEAKKLNDA	:	54	
SPA_NCTC_3	:	ADNNFNKEQONAFYEILNMPNLTTEEQRNGFIOSLKDDPSOSANLLSEAKKLNES	:	54	
SPA_MU50_3	:	ADNNFNKEQONAFYEILNMPNLTTEEQRNGFIOSLKDDPSOSANLLSEAKKLNES	:	54	
SPA_N315_3	:	ADNNFNKEQONAFYEILNMPNLTTEEQRNGFIOSLKDDPSOSANLLSEAKKLNES	:	54	
SPA_MW2_3	:	ADNNFNKEQONAFYEILNMPNLTTEEQRNGFIOSLKDDPSOSANLLSEAKKLNES	:	54	
SPA_COL_3	:	ADNNFNKEQONAFYEILNMPNLTTEEQRNGFIOSLKDDPSOSANLLSEAKKLNES	:	54	
SPA_MSSA_3	:	ADNNFNKEQONAFYEILNMPNLTTEEQRNGFIOSLKDDPSOSANLLSEAKKLNES	:	54	
SPA_MRSA_3	:	ADNNFNKEQONAFYEILNMPNLTTEEQRNGFIOSLKDDPSOSANLLAEAKKLNES	:	54	
SPA_NCTC_2	:	QONNFKDQCSAFYEILNMPNLTNEAQRNGFIOSLKDDPSOSTNVLGEAKKLNES	:	54	
SPA_MU50_2	:	QONNFKDQCSAFYEILNMPNLTNEAQRNGFIOSLKDDPSOSTNVLGEAKKLNES	:	54	
SPA_N315_2	:	QONNFKDQCSAFYEILNMPNLTNEAQRNGFIOSLKDDPSOSTNVLGEAKKLNES	:	54	
SPA_MW2_2	:	QONNFKDQCSAFYEILNMPNLTNEAQRNGFIOSLKDDPSOSTNVLGEAKKLNES	:	54	
SPA_COL_2	:	QONNFKDQCSAFYEILNMPNLTNEAQRNGFIOSLKDDPSOSTNVLGEAKKLNES	:	54	
SPA_MSSA_2	:	QONNFKDQCSAFYEILNMPNLTNEAQRNGFIOSLKDDPSOSTNVLGEAKKLNES	:	54	
SPA_MRSA_2	:	QONNFKDQCSAFYEILNMPNLTTEEQRNGFIOSLKDDPSOSTNVLGEAKKLNES	:	54	
SPA_V8_2	:	QONNFKDQCSAFYEILNMPNLTTEEQRNGFIOSLKDDPSOSTNVLGEAKKLNES	:	54	
SPA_NCTC_1	:	NAAQHDEAQQNAFYQVLMNPNLTNADQRNGFIOSLKDDPSOSANVLGEAOKLND	:	54	
SPA_MU50_1	:	NAAQHDEAQQNAFYQVLMNPNLTNADQRNGFIOSLKDDPSOSANVLGEAOKLND	:	54	
SPA_N315_1	:	NAAQHDEAQQNAFYQVLMNPNLTNADQRNGFIOSLKDDPSOSANVLGEAOKLND	:	54	
SPA_MW2_1	:	NAAQHDEAQQNAFYQVLMNPNLTNADQRNGFIOSLKDDPSOSANVLGEAOKLND	:	54	
SPA_COL_1	:	NAAQHDEAQQNAFYQVLMNPNLTNADQRNGFIOSLKDDPSOSANVLGEAOKLND	:	54	
SPA_MRSA_1	:	NAAQHDEAQQNAFYQVLMNPNLTNADQRNGFIOSLKDDPSOSANVLGEAOKLND	:	54	
SPA_MSSA_1	:	NAAQHDEAQQNAFYQVLMNPNLTNADQRNGFIOSLKDDPSOSANVLGEAOKLND	:	54	
SPA_V8_1	:	NAAQHDEAQQNAFYQVLMNPNLTNADQRNGFIOSLKDDPSOSANVLGEAOKLND	:	54	
SBI_COL_1	:	TQNNYVTDQCKAFYQVHLHLKGIITEEQRNQYIKTLREHPERAQEVFSESLKDS--	:	52	
SBI_MU50_1	:	TQNNYVTDQCKAFYQVHLHLKGIITEEQRNQYIKTLREHPERAQEVFSESLKDS--	:	52	
SBI_MRSA_1	:	TQNNYVTDQCKAFYQVHLHLKGIITEEQRNQYIKTLREHPERAQEVFSESLKDS--	:	52	
SBI_MSSA_1	:	TQNNYVTDQCKAFYQVHLHLKGIITEEQRNQYIKTLREHPERAQEVFSESLKDS--	:	52	
SBI_MW2_1	:	TQNNYVTDQCKAFYQVHLHLKGIITEEQRNQYIKTLREHPERAQEVFSESLKDS--	:	52	
SBI_N315_1	:	TQNNYVTDQCKAFYQVHLHLKGIITEEQRNQYIKTLREHPERAQEVFSESLKDS--	:	52	
SBI_NCTC_1	:	TQNNYVTDQCKAFYQVHLHLKGIITEEQRNQYIKTLREHPERAQEVFSESLKDS--	:	52	
SBI_COL_2	:	KNPDRRVAQQNAFYNVLKNNDLTTEEKKNYIAQIKENPDRSQQWVWVESVQSSKA	:	54	
SBI_MU50_2	:	KNPDRRVAQQNAFYNVLKNNDLTTEEKKNYIAQIKENPDRSQQWVWVESVQSSKA	:	54	
SBI_MRSA_2	:	KNPDRRVAQQNAFYNVLKNNDLTTEEKKNYIAQIKENPDRSQQWVWVESVQSSKA	:	54	
SBI_MSSA_2	:	KNPDRRVAQQNAFYNVLKNNDLTTEEKKNYIAQIKENPDRSQQWVWVESVQSSKA	:	54	
SBI_MW2_2	:	KNPDRRVAQQNAFYNVLKNNDLTTEEKKNYIAQIKENPDRSQQWVWVESVQSSKA	:	54	
SBI_N315_2	:	KNPDRRVAQQNAFYNVLKNNDLTTEEKKNYIAQIKENPDRSQQWVWVESVQSSKA	:	54	
SBI_NCTC_2	:	KNPDRRVAQQNAFYNVLKNNDLTTEEKKNYIAQIKENPDRSQQWVWVESVQSSKA	:	54	