

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 603 061**

51 Int. Cl.:

A61K 38/12 (2006.01)

C07K 7/56 (2006.01)

C07K 16/12 (2006.01)

C07K 16/44 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.10.2008 E 14180831 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.08.2016 EP 2842565**

54 Título: **Interrupción de la percepción de quórum en bacterias mediada por anticuerpos**

30 Prioridad:

25.10.2007 US 982593 P

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

23.02.2017

73 Titular/es:

**THE SCRIPPS RESEARCH INSTITUTE (100.0%)
10550 North Torrey Pines Road
La Jolla, CA 92037, US**

72 Inventor/es:

**JANDA, KIM D.;
KAUFMANN, GUNNAR F. y
PARK, JUNGUK**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 603 061 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

Interrupción de la percepción de quórum en bacterias mediada por anticuerpos

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Las infecciones bacterianas se están haciendo cada vez más mortíferas, ya que muchas cepas que provocan enfermedades están desarrollando resistencia al grupo de antibióticos usados para controlarlas. Por ejemplo, el *Staphylococcus aureus*, es una causa habitual de infecciones adquiridas durante la hospitalización que dan como resultado diversas enfermedades o afecciones que varían desde infecciones cutáneas e intoxicación alimentaria hasta infecciones nosocomiales que amenazan la vida. El incremento de la resistencia de elementos aislados de *S. aureus* frente a antibióticos glicopéptidos, de forma destacada la vancomicina, supone una enorme preocupación en las actuales unidades de cuidados intensivos. Por lo tanto, se necesita urgentemente una estrategia alternativa para combatir las infecciones bacterianas.

El documento WO2004/014423 describe anticuerpos contra péptido lactonas, tales como la péptido tiolactona.

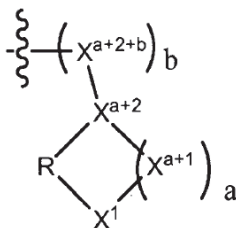
En Bioorg. Med. Chem. Letters 13(15), agosto de 2003, páginas 2449-2453, se describen péptidos cíclicos que inhiben la TCSTS estafilococal, específicamente mediante la capacidad de antagonizar los aceptores ArgC-1 y ArgC-2.

SUMARIO DE LA INVENCION

La invención se refiere al descubrimiento de una estrategia inmunofarmacoterapéutica para la atenuación de la percepción de quórum. En particular, la invención implica el descubrimiento de un anticuerpo monoclonal activado contra un hapteno diseñado racionalmente que puede inhibir la percepción de quórum, suprimir la patogenicidad bacteriana en un modelo *in vivo* de formación de abscesos en ratones, y proporcionar una protección frente a una exposición bacteriana letal.

La invención proporciona una entidad molecular inmunogénica según la Reivindicación 1. Las realizaciones de la invención se encuentran en las reivindicaciones dependientes.

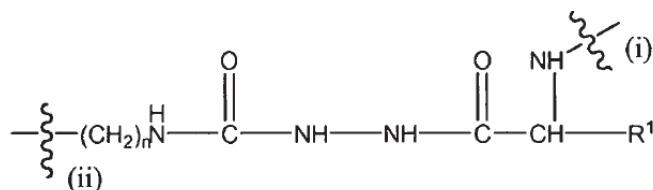
Se describe una entidad molecular inmunogénica que comprende al menos un hapteno, estando el hapteno ligado covalentemente a un vehículo macromolecular, opcionalmente a través de un resto de unión, comprendiendo dicho hapteno un péptido cíclico o un análogo del mismo, comprendiendo dicho péptido cíclico o análogo del mismo un anillo macrocíclico, en donde el péptido cíclico o el análogo del mismo comprende aproximadamente de cuatro a aproximadamente diecinueve residuos de aminoácido, presentando dicho péptido cíclico o análogo del mismo una estructura representada por la Fórmula I:



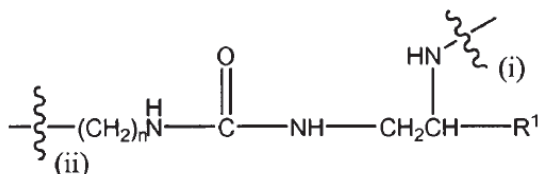
en donde cada X es de forma independiente cualquier residuo de aminoácido; X^1 es un residuo de aminoácido que está unido covalentemente a R mediante un grupo carbonilo respectivo; X^{a+2} es un aminoácido interno, del cual un átomo de carbono respectivo está unido covalentemente a R; R es un resto macrociclizante que conecta covalentemente X^1 y X^{a+2} formando así el anillo macrocíclico, en donde R comprende un grupo éster, tioéster, amida, carbamida, semicarbazida u otro grupo sustitutivo de amida, o cualquier combinación de los mismos; a va de 1 hasta aproximadamente 9; b va de 1 hasta aproximadamente 8; y un enlace cruzado por una línea ondulada indica un punto de unión de un residuo de aminoácido N-terminal del péptido cíclico o análogo del mismo a un vehículo macromolecular, opcionalmente a través del resto ligando.

En algunos ejemplos, la entidad molecular inmunogénica tiene la estructura presentada antes, en donde a es 2-8, y R incluye un grupo *alquiloxi* o *alcariloxi*, *alquiltio* o *alquilamino* que une covalentemente X^{a+2} al grupo carbonilo X^1 , proporcionando así un enlace de éster, tioéster o amida, respectivamente, para formar un anillo macrocíclico de lactona, tiolactona o lactama, respectivamente. En algunos ejemplos, la entidad molecular inmunogénica presenta la estructura mostrada anteriormente, en donde R incluye $-\text{CH}_2\text{O}-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{O}-$, $-\text{CH}_2\text{-fenil-O}-$, $-\text{CH}_2\text{S}-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}-$ ó $-(\text{CH}_2)_n\text{NH}-$, en donde n va de 1 a aproximadamente 4. En algunos ejemplos, la entidad molecular inmunogénica tiene la estructura mostrada anteriormente, en donde a es 2-8, y R incluye al menos un grupo amida, urea o semicarbazida, o al menos un enlace sustitutivo de amida.

En algunos ejemplos, R está representado por la Fórmula (IIa) o por la Fórmula (IIb):



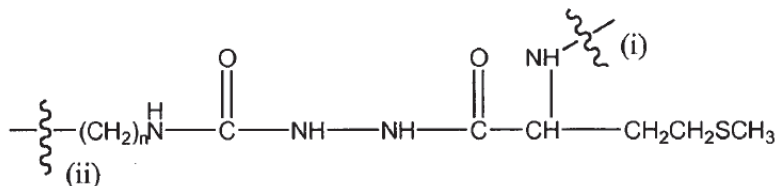
Fórmula (IIa),



Fórmula (IIb),

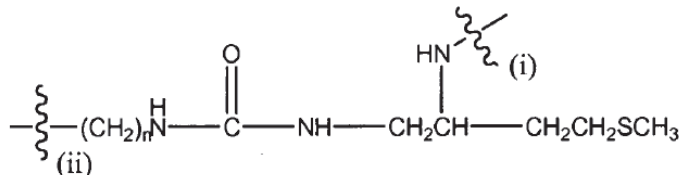
- 5 en donde n va de 1 a aproximadamente 4, R^1 es la cadena lateral de un aminoácido natural o de un análogo del mismo, un enlace atravesado por una línea ondulada indica un punto de unión, en donde el punto de unión designado (i) está enlazado al grupo carbonilo de X^1 y el punto de unión designado (ii) está unido al carbono alfa de X^{a+2} .

En algunos ejemplos, R tiene la fórmula (IIa):



10

En algunos ejemplos, R tiene la fórmula (IIb):



15

En algunos ejemplos, la entidad molecular inmunogénica tiene la estructura mostrada anteriormente, en donde X^1 y X^2 son residuos de aminoácido hidrofóbicos, y en algunos ejemplos, X^1 y X^2 se seleccionan de forma independiente del grupo de residuos de aminoácido que consiste en alanina, valina, leucina, isoleucina, metionina, fenilalanina, tirosina o triptófano, o análogos de los mismos. En algunos ejemplos, cada uno de X^1 y X^2 son de forma independiente metionina, leucina, fenilalanina, tirosina, alanina, isoleucina o triptófano.

20

25

En algunas realizaciones, el péptido cíclico o análogo de la entidad molecular inmunogénica tiene la secuencia de aminoácidos YST(X^{a+2})DFIM (SEQ ID NO: 92), YST(X^{a+2})YFIM (SEQ ID NO: 93), IN(X^{a+2})DFLL (SEQ ID NO: 94), GVNA(X^{a+2})SSLF (SEQ ID NO: 95), GVNP(X^{a+2})GGWF (SEQ ID NO: 96), KAKT(X^{a+2})TVLY (SEQ ID NO: 97), KTKT(X^{a+2})TVLY (SEQ ID NO: 98), GANP(X^{a+2})OLYY (SEQ ID NO: 99), GANP(X^{a+2})ALYY (SEQ ID NO: 100), GYST(X^{a+2})SYFY (SEQ ID NO: 101), GYRT(X^{a+2})NTYF (SEQ ID NO: 102), YNP(X^{a+2})VGYY (SEQ ID NO: 103), GGVV(X^{a+2})SAYF (SEQ ID NO: 104), SVKP(X^{a+2})TGFA (SEQ ID NO: 105), DSV(X^{a+2})ASYF (SEQ ID NO: 106), KYNP(X^{a+2})SNYL (SEQ ID NO: 107), KYNP(X^{a+2})ASYL (SEQ ID NO: 108), KYNP(X^{a+2})ANYL (SEQ ID NO: 109), RIPT(X^{a+2})TGFF (SEQ ID NO: 110), DI(X^{a+2})NAYF (SEQ ID NO: 111), DM(X^{a+2})NGYF (SEQ ID NO: 112), KYNP(X^{a+2})LGFL (SEQ ID NO: 113), KYYP(X^{a+2})FGYF (SEQ ID NO: 114), GARP(X^{a+2})GGFF (SEQ ID NO: 115), GAKP(X^{a+2})GGFF (SEQ ID NO: 116), YSP(X^{a+2})TNFF (SEQ ID NO: 117), YSP(X^{a+2})TNF (SEQ ID NO: 118), QN(X^{a+2})PNIFGQWM (SEQ ID NO: 119), en donde el último residuo de aminoácido de cada secuencia es X^1 , y (X^{a+2}) es el aminoácido interno al cual está unido covalentemente a través de R el grupo carbonilo de X^1 .

30

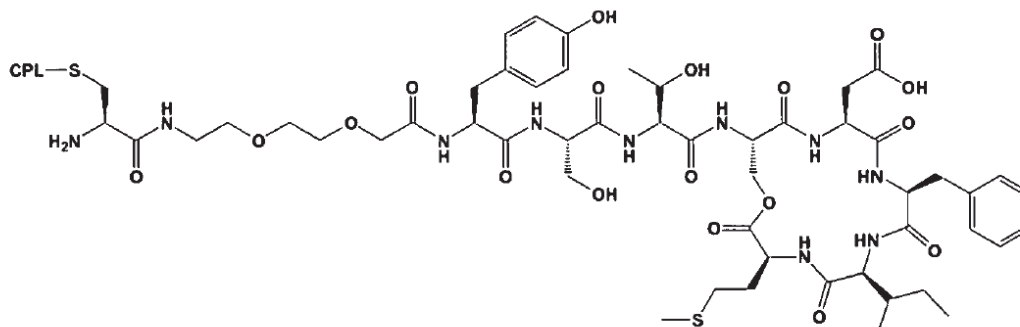
En algunas realizaciones, el vehículo macromolecular incluye una proteína, un polímero o una nanopartícula. En algunos ejemplos, el polímero es un dendrímero. En algunos ejemplos, el polímero es un dendrímero MAP. En algunas realizaciones, el vehículo macromolecular comprende una proteína. En algunos ejemplos, la proteína se selecciona del grupo que consiste en hemocianina de lapa de ojo de cerradura (KLH), albúmina de suero bovino

(BSA), albúmina de suero de conejo (RSA), albúmina de suero humano (HSA), hemocianina de *Concholepas* (CCH), subunidad B de toxina del cólera, subunidad B de toxina lábil de *E. coli*, toxoide de la difteria, toxoide del tétanos, fragmento C de toxina del tétanos, exoproteína A de *Pseudomonas aeruginosa* recombinante, CRM197 (material de reactividad cruzada), albúmina de suero bovino cationizada (cBSA), tiroglobulina (Tg), avidina, tiroglobulina bovina (BTG), globulina G bovina, inmunoglobulina G bovina (B1gG), conalbúmina (CONA), oro coloidal, edestina, hemocianina de *Paralithodes camtschatica* (HC), hemocianina de *Helix pomatia* (HPH), inhibidor de tripsina de soja de Kunitz (KTI), hemocianina de *Limulus polyphemus* (LPH), ovoalbúmina (OA), Pam3Cys-Th (lipopéptido/epítipo de célula Th), polilisina, tiroglobulina porcina (PTG), derivado de proteína purificado (PPD), inhibidor de tripsina de soja (STI) o globulina de girasol (SFG).

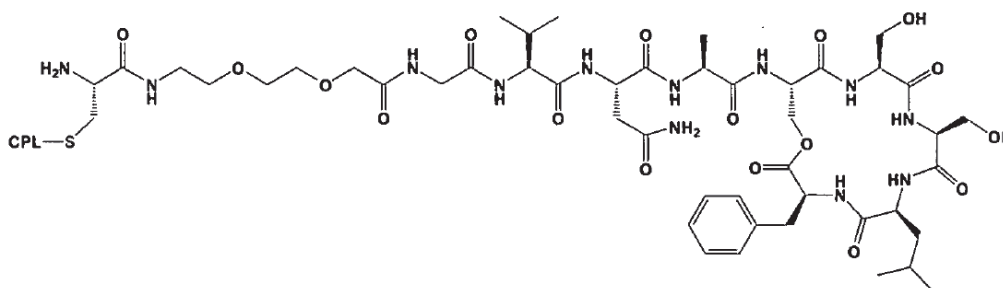
- 10 En algunas realizaciones, el análogo de péptido cíclico está ligado covalentemente al vehículo macromolecular a través de un grupo amino de un residuo de aminoácido N-terminal del análogo de péptido cíclico o a un grupo tiol de un residuo de cisteína o homocisteína N-terminal del análogo de péptido cíclico.

En algunos ejemplos, la entidad molecular de la descripción incluye además un resto ligando que une covalentemente el análogo de péptido cíclico al vehículo macromolecular. En algunos ejemplos, el análogo de péptido cíclico está unido al resto ligando a través de un grupo amino de un residuo de aminoácido N-terminal del análogo de péptido cíclico, o a través de un grupo tiol de un residuo de cisteína u homocisteína N-terminal del análogo de péptido cíclico, estando enlazado covalentemente el resto ligando al vehículo macromolecular. En algunos ejemplos, el resto ligando incluye un resto producido mediante la reacción de MBS, sulfo-MBS, SMCC o sulfo-SMCC. En algunos ejemplos, el resto ligando incluye dihidrazida de ácido adípico (ADH), un péptido espaciador, semisuccinato de hidroximetilo, o un derivado de polietilenglicol.

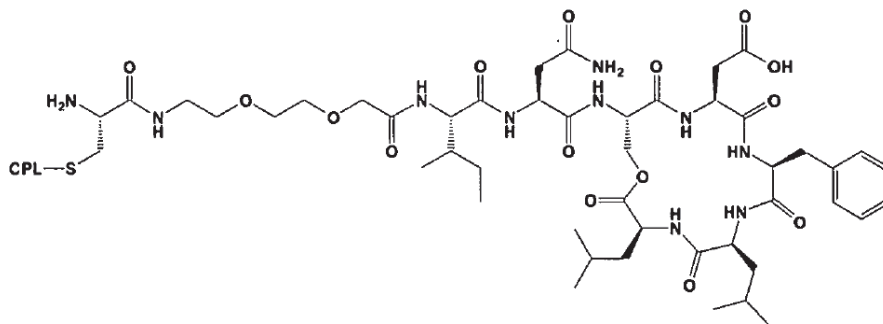
En algunos ejemplos, la entidad molecular tiene la estructura:



SEQ ID NO: 3 (YSTSDFIM, sin incluir grupos protectores),

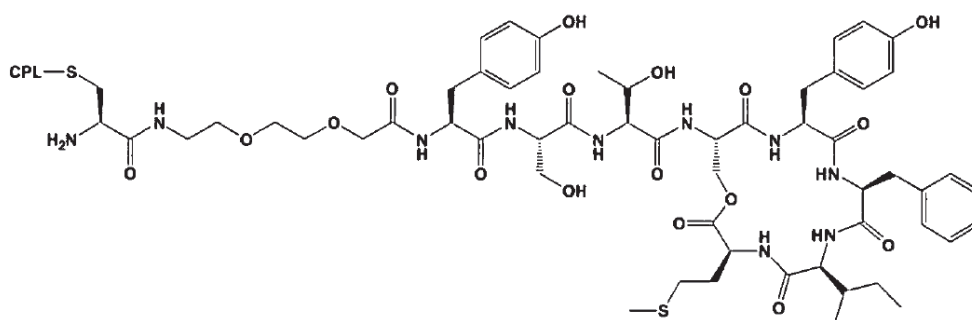


25 SEQ ID NO: 4 (GVNASSSLF, sin incluir grupos protectores),



SEQ ID NO: 2 (INSDFLI, sin incluir grupos protectores),

ó



5 SEQ ID NO: 1 (YSTSYFIM, sin incluir grupos protectores),

en donde CPL es un vehículo macromolecular con un ligando opcional enlazado covalentemente a un grupo tiol de cisteína.

En otro aspecto, la descripción proporciona una estructura supramolecular que incluye una entidad molecular inmunogénica de la descripción. En algunos ejemplos, la estructura supramolecular incluye un liposoma, un virosoma, un bacteriófago, una partícula vírica, o un sistema de administración de nanopartículas poliméricas.

En otro aspecto, la descripción proporciona un anticuerpo que se une específicamente a un péptido cíclico que tiene la secuencia de aminoácidos YST(X^{a+2})DFIM (SEQ ID NO: 92), YST(X^{a+2})YFIM (SEQ ID NO: 93), IN(X^{a+2})DFLL (SEQ ID NO: 94), GVNA(X^{a+2})SSLF (SEQ ID NO: 95), GVNP(X^{a+2})GGWF (SEQ ID NO: 96), KAKT(X^{a+2})TVLY (SEQ ID NO: 97), KTKT(X^{a+2})TVLY (SEQ ID NO: 98), GANP(X^{a+2})OLYY (SEQ ID NO: 99), GANP(X^{a+2})ALYY (SEQ ID NO: 100), GYST(X^{a+2})SYFY (SEQ ID NO: 101), GYRT(X^{a+2})NTYF (SEQ ID NO: 102), YNP(X^{a+2})VGYY (SEQ ID NO: 103), GGKV(X^{a+2})SAYF (SEQ ID NO: 104), SVKP(X^{a+2})TGFA (SEQ ID NO: 105), DSV(X^{a+2})ASYF (SEQ ID NO: 106), KYNP(X^{a+2})SNYL (SEQ ID NO: 107), KYNP(X^{a+2})ASYL (SEQ ID NO: 108), KYNP(X^{a+2})ANYL (SEQ ID NO: 109), RIPT(X^{a+2})TGFF (SEQ ID NO: 110), DI(X^{a+2})NAYF (SEQ ID NO: 111), DM(X^{a+2})NGYF (SEQ ID NO: 112), KYNP(X^{a+2})LGFL (SEQ ID NO: 113), KYYP(X^{a+2})FGYF (SEQ ID NO: 114), GARP(X^{a+2})GGFF (SEQ ID NO: 115), GAKP(X^{a+2})GGFF (SEQ ID NO: 116), YSP(X^{a+2})TNFF (SEQ ID NO: 117), YSP(X^{a+2})TNF (SEQ ID NO: 118), QN(X^{a+2})PNIFGQWM (SEQ ID NO: 119); en donde el último residuo de aminoácido de cada secuencia es X¹, y (X^{a+2}) es el aminoácido interno al cual está unido covalentemente a través de R el grupo carbonilo de X¹; y en donde R comprende -CH₂O-, -CH₂CH₂O-, -CH₂CH(CH₃)O-, -CH₂-fenil-O-, -CH₂S-, -CH₂CH₂S- ó -(CH₂)_nNH-, en donde n va de 1 a aproximadamente 4.

En otro aspecto, la descripción proporciona un anticuerpo que se une específicamente a una molécula de señalización de péptido cíclico de una bacteria Gram positiva.

En algunos ejemplos, el anticuerpo se une específicamente a una molécula de señalización de péptido cíclico que tiene la secuencia YSTCDFIM (SEQ ID NO: 120); GVNACSSLF (SEQ ID NO: 121); INCDFLL (SEQ ID NO: 122); YSTCYFIM (SEQ ID NO: 123); GVNPCGGWF (SEQ ID NO: 124); KAKTCTVLY (SEQ ID NO: 125); KTKTCTVLY (SEQ ID NO: 126); GANPCOLYY (SEQ ID NO: 127); GANPCALYY (SEQ ID NO: 128); GYSTCSYYE (SEQ ID NO: 129); GYRTCNTYE (SEQ ID NO: 130); YNPVCVGYE (SEQ ID NO: 131); GGKVC SAYE (SEQ ID NO: 132); SVKPCTGFA (SEQ ID NO: 133); DSVCASEY (SEQ ID NO: 134); KYNPCSNYL (SEQ ID NO: 135); KYNPCASYL (SEQ ID NO: 136); KYNPCANYL (SEQ ID NO: 137); RIPTSTGFE (SEQ ID NO: 138); DICNAYE (SEQ ID NO: 139); DMCNGYE (SEQ ID NO: 140); KYNPCLGFL (SEQ ID NO: 141); KYYPFCGYE (SEQ ID NO: 142); VGARPCGGFE (SEQ ID NO: 143); GAKPCGGFE (SEQ ID NO: 144); YSPCTNFE (SEQ ID NO: 145); o QNSPNIFGQWM (SEQ ID

NO: 146); en donde el grupo carbonilo alfa del residuo subrayado forma un enlace de tiolactona o lactona con el grupo sulfhidrilo o hidroxilo del residuo de cisteína o serina interno en negrita, respectivamente.

En algunos ejemplos, el anticuerpo es un anticuerpo neutralizante, p.ej. un anticuerpo neutralizante cruzado. En algunos ejemplos, es un fragmento variable de cadena sencilla (scFv), un fragmento Fab o un fragmento F(ab')₂. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NOs: 35-53. En algunos ejemplos, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal. En algún ejemplo, el anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NOs: 19-26 y 147-154. En algunos ejemplos, el anticuerpo comprende una secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NOs: 19-26 en interacción covalente con una secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NOs: 147-154. En algunos ejemplos, el anticuerpo es un anticuerpo de ratón, bovino o humano. En algunos ejemplos, el anticuerpo es un anticuerpo humanizado o quimérico. En algunos ejemplos, el anticuerpo es AP4-24H11.

En otro aspecto, la descripción proporciona una composición que incluye al menos un anticuerpo de la descripción y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

En algunos ejemplos, la composición incluye de dos a cuatro anticuerpos que se unen específicamente a de dos a cuatro moléculas de señalización de péptido cíclico que tienen las secuencias YSTCDFIM (SEQ ID NO: 120), GVNACSSLF (SEQ ID NO: 121), INCDFLL (SEQ ID NO: 122), e YSTCYFIM (SEQ ID NO: 123); en donde el grupo carbonilo alfa de los residuos subrayados forma un enlace de tiolactona con el grupo sulfhidrilo de los residuos de cisteína internos señalados en negrita.

En otro aspecto, la descripción proporciona una composición que incluye al menos una entidad molecular inmunogénica de la descripción y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En algunos ejemplos, la entidad molecular inmunogénica incluye un péptido cíclico que tiene la secuencia YST(X^{a+2})DFIM (SEQ ID NO: 92), YST(X^{a+2})YFIM (SEQ ID NO: 93), IN(X^{a+2})DFLL (SEQ ID NO: 94), GVNA(X^{a+2})SSLF (SEQ ID NO: 95), GVNP(X^{a+2})GGWF (SEQ ID NO: 96), KAKT(X^{a+2})TVLY (SEQ ID NO: 97), KTKT(X^{a+2})TVLY (SEQ ID NO: 98), GANP(X^{a+2})OLYY (SEQ ID NO: 99), GANP(X^{a+2})ALYY (SEQ ID NO: 100), GYST(X^{a+2})SYFY (SEQ ID NO: 101), GYRT(X^{a+2})NTYF (SEQ ID NO: 102), YNP(X^{a+2})VGYF (SEQ ID NO: 103), GGKV(X^{a+2})SAYF (SEQ ID NO: 104), SVKP(X^{a+2})TGFA (SEQ ID NO: 105), DSV(X^{a+2})ASYF (SEQ ID NO: 106), KYNP(X^{a+2})SNYL (SEQ ID NO: 107), KYNP(X^{a+2})ASYL (SEQ ID NO: 108), KYNP(X^{a+2})ANYL (SEQ ID NO: 109), RIPT(X^{a+2})TGFF (SEQ ID NO: 110), DI(X^{a+2})NAYF (SEQ ID NO: 111), DM(X^{a+2})NGYF (SEQ ID NO: 112), KYNP(X^{a+2})LGFL (SEQ ID NO: 113), KYYP(X^{a+2})FGYF (SEQ ID NO: 114), GARP(X^{a+2})GGFF (SEQ ID NO: 115), GAKP(X^{a+2})GGFF (SEQ ID NO: 116), YSP(X^{a+2})TNFF (SEQ ID NO: 117), YSP(X^{a+2})TNF (SEQ ID NO: 118), ó QN(X^{a+2})PNIFGQWM (SEQ ID NO: 119); en donde el último residuo de aminoácido de cada secuencia es X¹, y (X^{a+2}) es el aminoácido interno al cual está unido covalentemente a través de R el grupo carbonilo de X¹; y en donde R comprende -CH₂O-, -CH₂CH₂O-, -CH₂CH(CH₃)O-, -CH₂-fenil-O-, -CH₂S-, -CH₂CH₂S- ó -(CH₂)_nNH-, en donde n va de 1 a aproximadamente 4.

En algunos ejemplos, la composición incluye de dos a cuatro entidades moleculares inmunogénicas, cuyos péptidos cíclicos tienen la secuencia YST(X^{a+2})DFIM (SEQ ID NO: 92), YST(X^{a+2})YFIM (SEQ ID NO: 93), IN(X^{a+2})DFLL (SEQ ID NO: 94), GVNA(X^{a+2})SSLF (SEQ ID NO: 95), GVNP(X^{a+2})GGWF (SEQ ID NO: 96), KAKT(X^{a+2})TVLY (SEQ ID NO: 97), KTKT(X^{a+2})TVLY (SEQ ID NO: 98), GANP(X^{a+2})OLYY (SEQ ID NO: 99), GANP(X^{a+2})ALYY (SEQ ID NO: 100), GYST(X^{a+2})SYFY (SEQ ID NO: 101), GYRT(X^{a+2})NTYF (SEQ ID NO: 102), YNP(X^{a+2})VGYF (SEQ ID NO: 103), GGKV(X^{a+2})SAYF (SEQ ID NO: 104), SVKP(X^{a+2})TGFA (SEQ ID NO: 105), DSV(X^{a+2})ASYF (SEQ ID NO: 106), KYNP(X^{a+2})SNYL (SEQ ID NO: 107), KYNP(X^{a+2})ASYL (SEQ ID NO: 108), KYNP(X^{a+2})ANYL (SEQ ID NO: 109), RIPT(X^{a+2})TGFF (SEQ ID NO: 110), DI(X^{a+2})NAYF (SEQ ID NO: 111), DM(X^{a+2})NGYF (SEQ ID NO: 112), KYNP(X^{a+2})LGFL (SEQ ID NO: 113), KYYP(X^{a+2})FGYF (SEQ ID NO: 114), GARP(X^{a+2})GGFF (SEQ ID NO: 115), GAKP(X^{a+2})GGFF (SEQ ID NO: 116), YSP(X^{a+2})TNFF (SEQ ID NO: 117), YSP(X^{a+2})TNF (SEQ ID NO: 118), QN(X^{a+2})PNIFGQWM (SEQ ID NO: 119); en donde el último residuo de aminoácido de cada secuencia es X¹, y (X^{a+2}) es el aminoácido interno al cual está unido covalentemente a través de R el grupo carbonilo de X¹; y en donde R comprende -CH₂O-, -CH₂CH₂O-, -CH₂CH(CH₃)O-, -CH₂-fenil-O-, -CH₂S-, -CH₂CH₂S- ó -(CH₂)_nNH-, en donde n va de 1 a aproximadamente 4.

En algunos ejemplos, la composición incluye cuatro entidades moleculares, cuyos péptidos cíclicos tienen las secuencias YSTCDFIM (SEQ ID NO: 120); GVNACSSLF (SEQ ID NO: 121); INCDFLL (SEQ ID NO: 122), e YSTCYFIM (SEQ ID NO: 123); en donde el grupo carbonilo alfa de los residuos subrayados forma un enlace de tiolactona con el grupo sulfhidrilo de los residuos de cisteína internos señalados en negrita.

En algunos ejemplos, la composición incluye al menos un inmunógeno adicional. En algunos ejemplos, el al menos un inmunógeno adicional provoca una respuesta inmune contra hepatitis B, bacterias de *Haemophilus influenzae* de tipo b, difteria, sarampión, paperas, tosferina, polio, rubeola, tétanos, tuberculosis, varicela o cualquier combinación de las mismas.

En otro aspecto, la descripción proporciona un artículo de fabricación que comprende la entidad molecular inmunogénica, una estructura supramolecular, un anticuerpo o una composición de la descripción, e instrucciones para su uso.

En otro aspecto, la descripción proporciona un método para provocar una respuesta inmune en un mamífero que implica la administración al mamífero de una composición que incluye la entidad molecular inmunogénica o la estructura supramolecular de la descripción en una cantidad efectiva para producir una respuesta inmune en el mamífero. En algunos ejemplos, el mamífero es una cabra, conejo, oveja, cerdo, ratón, rata, cobaya, hámster, vaca, caballo, mono o humano. En algunos ejemplos, la composición se administra al mamífero mediante inyección intravenosa, intraperitoneal, subcutánea, intradérmica o intramuscular. En algunos ejemplos, el método implica además la obtención de una muestra biológica del mamífero, en donde la muestra biológica comprende un anticuerpo que se une específicamente a una molécula de señalización de péptido cíclico y/o al péptido cíclico de la entidad molecular inmunogénica. En algunos ejemplos, el método implica además aislar una célula productora de anticuerpos del mamífero, y fusionar la célula productora de anticuerpos con una célula de mieloma para generar un hibridoma que produzca un anticuerpo que se une específicamente a una molécula de señalización de péptido cíclico y/o al péptido cíclico de la entidad molecular inmunogénica.

En algunos ejemplos, el mamífero es susceptible de infección por una bacteria Gram positiva o es susceptible a una afección de enfermedad asociada a una bacteria Gram positiva. En algunos ejemplos, la bacteria Gram positiva es un *Staphylococcus*, tal como *S. aureus* o *S. epidermidis*. En algunos ejemplos, el mamífero es un humano.

En algunos ejemplos, el método incluye además administrar al mamífero al menos una dosis adicional de la composición que incluye la entidad inmunogénica en periodos de tiempo seleccionados.

En otro aspecto, la descripción proporciona un método para inhibir la percepción de quórum en un mamífero, que implica la administración al mamífero de una composición que incluye el anticuerpo de la descripción en una cantidad efectiva para inhibir la percepción de quórum en el mamífero.

En otro aspecto, la descripción proporciona un método para inhibir la percepción de quórum en un mamífero, que implica la administración al mamífero de una entidad molecular inmunogénica o la estructura supramolecular de la descripción en una cantidad efectiva para provocar una respuesta inmune e inhibir la percepción de quórum en el mamífero. En algunos ejemplos de la descripción, el mamífero es un humano.

En otro aspecto, la descripción proporciona un método para prevenir o tratar la infección de un mamífero debida a una bacteria Gram positiva que implica la administración al mamífero de una entidad molecular inmunogénica, una estructura supramolecular o el anticuerpo de la descripción en una cantidad efectiva para prevenir o tratar la infección del mamífero debida a una bacteria Gram positiva. En algunos ejemplos, el mamífero es un humano. En algunos ejemplos, la entidad molecular inmunogénica, la estructura supramolecular o el anticuerpo se administran al mamífero mediante inyección intravenosa, intraperitoneal, subcutánea, intradérmica o intramuscular.

En otro aspecto, la descripción proporciona un método para identificar un anticuerpo que se une específicamente a una molécula de señalización de péptido cíclico que implica poner en contacto una entidad molecular inmunogénica que incluye un análogo de péptido cíclico de la molécula de señalización ligado covalentemente a un vehículo macromolecular con una biblioteca de inmunoglobulina combinatoria recombinante, e identificar la inmunoglobulina recombinante que se une específicamente a la entidad molecular inmunogénica, como un anticuerpo que se une específicamente a la molécula de señalización de péptido cíclico.

En otro aspecto, la descripción proporciona un método para prevenir la formación de una biopelícula que implica el recubrimiento de una superficie que incluye una superficie de un catéter con un anticuerpo de la descripción.

En otro aspecto, la descripción proporciona un ácido nucleico aislado que tiene la secuencia que codifica el anticuerpo discutido en la presente memoria. En algunos ejemplos, el ácido nucleico tiene la secuencia de una cualquiera de las SEQ ID NO: 54-91, 27-34 y 155-181. El término "ácido nucleico", tal como se usa en la presente memoria, se refiere a un polímero de ácidos desoxirribonucleicos (ADN), así como ácidos ribonucleicos (ARN). El término incluye moléculas lineales, así como moléculas circulares cerradas covalentemente. Incluye moléculas de cadena individual y moléculas de cadena doble.

El término "aislado", tal como se usa en la presente memoria en referencia a una molécula de ácido nucleico, significa que la molécula de ácido nucleico está libre de secuencias de ácido nucleico no relacionadas, o de aquellas implicadas en la expresión de los genes que flanquean sus extremos 5' y 3' en el genoma natural del organismo del cual se ha derivado el ácido nucleico. Por consiguiente, un "ácido nucleico aislado" de la descripción tiene una estructura que es diferente de la de cualquier ácido nucleico natural o de la de cualquier fragmento de un ácido nucleico genómico natural que se extienda más de tres genes separados. Por tanto, el término "molécula de ácido nucleico aislada" incluye, por ejemplo, (1) una molécula de ADN que tiene la secuencia de parte de una molécula de ADN genómico natural, pero que no está flanqueada por las dos secuencias codificadoras que flanquean dicha parte de la molécula en el genoma del organismo en el que se encuentra de forma natural; (2) un ácido nucleico incorporado en un vector o en el ADN genómico de un procarionte o eucarionte de un modo tal que la molécula resultante no es idéntica a ningún vector o ADN genómico naturales; (3) una molécula separada tal como un ADNc, un fragmento genómico, un fragmento producido mediante reacción en cadena de polimerasa (PCR), o un fragmento de restricción; y (4) una secuencia de nucleótidos recombinante que es parte de un gen híbrido, es decir, un gen que codifica una proteína de fusión. Se excluyen específicamente de esta definición los ácidos nucleicos presentes en

las mezclas de (1) moléculas de ADN, (2) células transfectadas, y (3) clones celulares, p.ej., ya que estos se encuentran en una biblioteca de ADN tal como una biblioteca de ADNc o ADN genómico.

En otro aspecto, la descripción proporciona un vector de expresión que tiene un ácido nucleico que codifica el anticuerpo discutido en la presente memoria.

- 5 En algunos ejemplos, el ácido nucleico que codifica el anticuerpo está ligado operativamente a una secuencia de control de la expresión. En algunos ejemplos, la secuencia de control de la expresión es un promotor. En algunos ejemplos, el promotor es un promotor fago, vírico, bacteriano o de mamífero.

El término “vector de expresión”, tal como se usa en la presente memoria, significa una molécula de ácido nucleico capaz de transportar y/o permitir la expresión de otro ácido nucleico al cual se ha ligado. El producto de dicha expresión se denomina transcrito de ácido ribonucleico mensajero (ARNm). Por tanto, los vectores de expresión contienen secuencias de control de la expresión adecuadas que pueden dirigir la expresión de un ácido nucleico que está ligado operativamente a la secuencia de control de la expresión para producir un transcrito. Por tanto, la frase “secuencia de control de la expresión” significa una secuencia de ácido nucleico suficiente para dirigir la transcripción de otra secuencia de ácido nucleico que está ligada operativamente a la secuencia de control de la expresión para producir un transcrito de ARN cuando las moléculas apropiadas, tal como proteínas activadoras transcripcionales, se unen a la secuencia de control de la expresión. Y el término “ligado operativamente” significa que un ácido nucleico y una secuencia de control de la expresión se posicionan de tal modo que la secuencia de control de la expresión dirige la expresión del ácido nucleico cuando las moléculas apropiadas, tal como proteínas activadoras transcripcionales, se unen a la secuencia de control de la expresión.

- 20 En otro aspecto, la descripción proporciona una célula que tiene un ácido nucleico que codifica el anticuerpo discutido anteriormente, o un vector de expresión discutido anteriormente. La célula puede ser una célula bacteriana o de mamífero.

Otras características y ventajas de la descripción serán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada, y a partir de las reivindicaciones.

25 DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura 1: ilustra las estructuras de los péptidos autoinductores (AIPs) usados por *S. aureus*. Los oligopéptidos son ciclados post-traduccionamente para formar un enlace de tioéster entre el resto tiol de la ^(C)Cys conservada y el grupo carboxilo del residuo C-terminal (SEQ ID NOs: 120-123).

- 30 **Figura 2A-K:** son los espectros de ESI-MS y los cromatogramas de HPLC de los APIs sintetizados: AIP-1 (tiolactona pura) (**A y B**); AIP-2 (tiolactona pura) (**C y D**); AIP-3 (tiolactona pura) (**E y F**); AIP-4 (tiolactona pura) (**G y H**); AIP-IV (lactona pura) (**I y J**). El HPLC se realizó en una columna C18 monitorizada a 214 nm mediante absorción de UV usando un gradiente de 20% de B durante 3 minutos y después aumentando a 50% en 30 minutos. B es acetonitrilo frente a agua de grado HPLC. Figura 2K: análisis MALDI-TOF del conjugado AP4-BSA.

- 35 **Figura 3A-B:** son datos que ilustran la secreción de exoproteína en RN4850. (**A**) Análisis de secreción de exoproteína en RN4850. Tras crecimiento durante 20-24 horas a 37°C en presencia de los mAbs seleccionados (200 µg/mL) como se indica, las células fueron centrifugadas a 13.000 rpm durante 2 minutos. Los sobrenadantes fueron analizados mediante SDS-PAGE al 10%. Los geles fueron teñidos usando el reactivo GelCode® Blue Stain Reagent (Pierce, Rockford IL). Las flechas continuas denotan la diferencia potencial de los niveles de exoproteína producidos por AP4-24H11. (**B**) Actividad hemolítica de los sobrenadantes del medio de cultivo de *S. aureus*. Los sobrenadantes (150 µL) preparados anteriormente se aplicaron gota a gota sobre una placa de agar con sangre de oveja. La placa se incubó a 37°C durante 24 horas y se mantuvo a temperatura ambiente durante otras 24 horas.

- 40 **Figura 4A-E:** resultados que ilustran la inhibición de la señalización de la percepción de quórum en *S. aureus* por acción de AP4-24H11. (**A**) Análisis de transferencia Western blot de α -hemolisina y de expresión de Proteína A en *S. aureus* (RN4850 y Wood 46). Los sobrenadantes de cultivo de *S. aureus* fueron preparados como se describe en los Ejemplos. (**B**) DO₆₀₀ relativa (%) de RN4850, NRS168 y Wood 46 después de 20-24 horas de incubación en presencia/ausencia de AP4-24H11. (**C**) Análisis de formación de biopelícula estática en RN4850. (**D**) Análisis de PCR en tiempo real. Las cantidades de los ARNms seleccionados se midieron en RN4850 cultivado en presencia o en ausencia de AP4-24H11. Se llevó a cabo una cuantificación relativa usando *gyrA* como calibrador. Se llevaron a cabo al menos dos experimentos independientes para cada experimento por duplicado. Los números reales de tasa de cambio; *malIII* (-77 ± 48), *eta* (-8,1 ± 1), *hla* (-5,2 ± 3,1), *spa* (+5,7 ± 3,6), *sarA* (-2,1 ± 0,6) y *saeR* (-1,4 ± 0,4). (**E**) Supresión de la inhibición de QS mediada por AP4-24H11 en *S. aureus* por acción de AIP-4. El AP424H11 (~ 1,3 µM) se incubó con el AIP-4 nativo (2,5 µM) en medio CYPG durante 20 minutos a temperatura ambiente. Células de *S. aureus* cultivadas durante una noche fueron diluidas en el medio anterior (DO₆₀₀ ~ 0,03) y se cultivaron durante 20 a 24 horas a 37°C en condiciones estáticas. Se prepararon los sobrenadantes y se analizaron. Ver los Ejemplos para una discusión detallada de los procedimientos experimentales.

Figura 5A-B: datos que ilustran la inhibición de la ruptura de PARP inducida por *S. aureus* mediante AP4-24H11. Ruptura de PARP en células Jurkat tras tratamiento con sobrenadantes de *S. aureus* RN4850 (**A**) y Wood 46 (**B**).

Células T leucémicas Jurkat humanas fueron mantenidas en RPMI 1640 suplementado con un 10% de suero bovino fetal desactivado térmicamente, (L)-glutamina 10 mM y 50 mg/mL de estreptomicina y penicilina (GIBCO, Invitrogen Corp.). Se prepararon sobrenadantes de *S. aureus* como se describe en los Ejemplos, y los sobrenadantes de RN4850 fueron concentrados adicionalmente a 1/3 del volumen original usando un dispositivo filtro centrífugo Amicon Ultra-4 (5.000 NMWL) (MILLIPORE, Billerica MA). Las células confluentes fueron distribuidas en placas de 24 pocillos en medio fresco (0,5 mL) y se incubaron durante 6 horas antes de añadir los sobrenadantes de *S. aureus*. Tras 4 horas de incubación con la cantidad indicada de sobrenadantes de *S. aureus*, se prepararon los extractos celulares y se analizaron mediante Western blot usando un anticuerpo anti-PARP.

Figura 6A-B: resultados que muestran la inhibición de la formación de abscesos inducida por *S. aureus* por acción de AP4-24H11 en modelos de ratones. **(A)** *S. aureus* (1×10^7) + PBS (panel superior); *S. aureus* (1×10^7) + AP4-24H11 (0,6 mg) (panel inferior); **(B)** *S. aureus* (1×10^8) + mAb de control (0,6 mg) (panel superior); *S. aureus* (1×10^8) + AP4-24H11 (0,6 mg) (panel inferior).

Figura 7A-D: resultados que ilustran la inhibición de la formación de abscesos inducida por *S. aureus* por acción de AP4-24H11 en modelos de ratones. Ratones sin pelo eutímicos SKH1 (de 6-8 semanas de edad) recibieron 200 μ L de inyecciones intradérmicas en el flanco que contenían *S. aureus* (1×10^8 bacterias), 4 μ L de partículas de Cytodex de volumen empaquetado, DPBS, mAb AP4-24H11 o IgG de control (0,06 mg ó 0,6 mg). Otros animales de control recibieron 200 μ L de inyecciones intradérmicas que contenían partículas de Cytodex o partículas más anticuerpo. Después de realizar las inyecciones los ratones fueron monitorizados al menos tres veces al día durante un periodo de 4-7 días. A la conclusión del periodo de monitorización los ratones fueron sometidos a eutanasia y se extrajeron tejidos para análisis bacteriológico e histológico. **(A)** *S. aureus* + PBS; **(B)** *S. aureus* + AP4-24H11 (0,06 mg); **(C)** *S. aureus* + AP4-24H11 (0,6 mg); **(D)** Cytodex + AP4-24H11 (0,6 mg).

Figura 8: ilustra los datos de supervivencia obtenidos de la inmunización pasiva de ratones con AP4-24H11 frente a infección de *S. aureus*. Supervivencia en ratones que fueron pretratados con el mAb AP4-24H11 o con IgG de control seguido dos horas después de una inyección de *S. aureus* (3×10^8 i.p.). Los números entre paréntesis muestran el número de supervivientes/número por grupo. Test estadístico Log-Rank, $p = 0,001$; $n = 6$ para todos los grupos.

Figura 9: resultado que muestra la supresión de la expresión de α -hemolisina en las cepas de *agr* de grupo I por acción de anticuerpos monoclonales anti-AP1.

Figura 10A-B: resultados de una evaluación bioquímica de mAbs anti-AIP1. **A.** Expresión de α -hemolisina en *S. aureus* RN6390B de *agr* I en presencia de mAbs anti-AIP1 (0,2 mg/mL). 1: AP1-2C2; 2: AP1-9A9; 3: AP1-9F9; 4: AP1-15B4; †: mAb de control; ‡: sin anticuerpo. **B.** Formación de biopelícula estática de *S. aureus* RN6390B en presencia de los mAbs anti-AIP1.

Figura 11: resultado de un análisis de transferencia western de los sobrenadantes de cultivo de *S. aureus* RN4850 cultivado en presencia del anticuerpo humano anti-AIP4 scFv 4-20 para la expresión de α -hemolisina.

Figura 12: resultado de un experimento que demuestra la protección de ratones frente a exposición letal a MRSA USA300 ejercida por mAb AP1-15B4. Los ratones fueron tratados con AP1-15B4 (1 mg) o con IgG de control (1 mg) 2 horas después de la inyección de *S. aureus* ($1-3 \times 10^8$ i.p.). Los números entre paréntesis muestran los supervivientes por grupo, $p = 0,02$; $n = 6$ para todos los grupos.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La invención se refiere al descubrimiento de que un anticuerpo específico para el péptido de señalización AP-4 de *Staphylococcus aureus* puede bloquear la percepción de quórum y prevenir la infección estafilococal en ratones. Así, la descripción proporciona una entidad molecular inmunogénica que puede usarse para provocar la producción de una respuesta inmune contra un péptido de señalización cíclico nativo producido por una bacteria Gram positiva que regula la expresión de los factores de virulencia a través de la percepción de quórum. La entidad molecular inmunogénica comprende al menos un hapteno, el hapteno está unido covalentemente a un vehículo macromolecular, opcionalmente a través de un resto ligando, en donde el resto ligando está unido covalentemente al hapteno y al vehículo macromolecular, el hapteno comprende un péptido cíclico o un análogo del mismo, el péptido cíclico o análogo del mismo comprende un anillo macrocíclico, en donde el péptido cíclico o el análogo del mismo comprenden entre aproximadamente cuatro y aproximadamente diecinueve residuos de aminoácido, tal como se definen en la descripción.

La descripción también proporciona un anticuerpo que se une específicamente a una molécula de señalización de péptido cíclico. El anticuerpo es un anticuerpo neutralizante que puede usarse para inhibir la percepción de quórum en un mamífero. Adicionalmente, la descripción proporciona una composición que incluye la entidad molecular inmunogénica o el anticuerpo neutralizante, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Ejemplos adicionales de la descripción incluyen un método para provocar una respuesta inmune en un mamífero contra una molécula de señalización de péptido cíclico, y un método para inhibir la percepción de quórum bacteriana en un mamífero.

Una entidad molecular inmunogénica de la descripción está compuesta por un péptido cíclico o un análogo del mismo unido covalentemente a un vehículo macromolecular, opcionalmente a través de un resto ligando. La entidad molecular inmunogénica puede estar incluida adicionalmente en una estructura supramolecular, tal como una partícula vírica. Así, una entidad molecular inmunogénica de la descripción puede provocar una respuesta inmune en un animal al cual se ha administrado la entidad molecular. El animal puede ser, por ejemplo, cualquier mamífero, tal como una cabra, cerdo, conejo, ratón, rata, caballo o humano.

Definiciones

Tal como se usa en la presente memoria, el término “inmunogénico” se refiere a la adecuación de una entidad molecular para generar una respuesta inmune en un animal vertebrado, por ejemplo, en un mamífero que incluye un ratón, una rata, un primate o un humano. Una entidad molecular es inmunogénica cuando tiene un tamaño molecular suficiente y posee otras propiedades moleculares necesarias para generar una respuesta inmune, de tal modo que el animal que ha sido sometido a la exposición a la entidad molecular produzca anticuerpos. Es bien conocido en la técnica que para ser inmunogénica, una entidad molecular tal como una proteína debe tener un peso molecular de al menos aproximadamente 10 kDa.

Con el término “entidad molecular” se pretende indicar una molécula o una estructura de moléculas definidas por una estructura química o una construcción de estructuras químicas, respectivamente. Por ejemplo, una entidad molecular de la descripción puede ser una proteína vehículo u otro polímero inmunogénicamente competente, tal como un dendrímero, acoplado covalentemente a un hapteno, opcionalmente a través de un resto ligando. Una “estructura supramolecular” puede ser una construcción de diferentes macromoléculas que incluyen la entidad molecular inmunogénica, tal como una partícula vírica infecciosa que comprende la entidad molecular inmunogénica. Una estructura supramolecular también puede ser un virosoma que presenta la porción de hapteno de la entidad molecular inmunogénica sobre su superficie externa.

Tal como se usa en la presente memoria, un “hapteno” es un resto o fragmento molecular que por sí mismo es insuficiente en tamaño o peso molecular, por ejemplo, para estimular una respuesta inmune en un animal. Cuando se acopla a un vehículo, sin embargo, se pueden activar anticuerpos que se unen específicamente al hapteno.

Como expresión usada en la presente memoria, un “péptido cíclico o análogo del mismo” se refiere a una estructura orgánica formada al menos en parte por múltiples residuos de aminoácido o por unidades análogas equivalentes ligadas covalentemente en una forma oligomérica lineal, en donde la cadena lineal adicionalmente está ciclada internamente para crear un anillo macrocíclico. La forma oligomérica lineal comprende unidades monoméricas, estando constituida cada unidad monomérica por un residuo de aminoácido, unidas de un modo lineal, pero sin la formación adicional de un lazo producido por la unión covalente del residuo de aminoácido carboxi-terminal de la cadena lineal a una cadena lateral de un residuo de aminoácido interno. Véase, por ejemplo, la **Figura 1**.

El término “residuo de aminoácido” pretende indicar un aminoácido o un análogo del mismo que está unido covalentemente en una cadena oligomérica, por ejemplo, en un péptido natural como es bien conocido en la técnica. Un residuo de aminoácido también se conoce como una “unidad de anhidro aminoácido” debido a la formación de un enlace de amida entre el grupo amino o el grupo de ácido carboxílico del residuo de aminoácido y el grupo de ácido carboxílico o el grupo amino, respectivamente, de un residuo de aminoácido adyacente en el oligómero. Tanto el grupo amino como el grupo de ácido carboxílico de un aminoácido o de un análogo de aminoácido pueden combinarse en enlaces de amida o de tipo amida con residuos de aminoácido adyacentes en un oligómero. Sin embargo, no es necesario que el péptido cíclico o el análogo del mismo, tal como se consideran en la presente memoria, estén compuestos únicamente por residuos de aminoácidos naturales.

Aunque un péptido cíclico, tal como se usa el término en la presente memoria, puede estar formado por residuos de aminoácido ribosómicos, es decir, los aproximadamente 20 L- α -aminoácidos que pueden codificarse en ADN sin modificación post-traducciona, puede incluir formas de D-aminoácido enantioméricas de dichos aminoácidos naturales, así como aminoácidos no naturales tales como los aminoácidos que presentan cadenas laterales, distintos de los aproximadamente 20 aminoácidos ribosómicos. Un péptido cíclico también puede incluir aminoácidos de tipos diferentes a los α -aminoácidos, tales como β - o γ -aminoácidos, o grupos amino en donde el los grupos de ácido carboxílico y amino están separados por un mayor número de átomos. Por ejemplo, el péptido cíclico o el análogo pueden incluir un aminoácido en donde un grupo alquilamino y un grupo de ácido carboxílico están separados por diferentes longitudes de cadenas de polietilenglicol (PEG) o por cadenas de alquileo sencillas. Todos éstos se consideran “residuos de aminoácido” para el significado de la presente invención. Por tanto, un péptido cíclico o un análogo del mismo de la presente descripción pueden prepararse a partir de aminoácidos codificados genéticamente, aminoácidos naturales no codificados genéticamente, o aminoácidos sintéticos. Las notaciones de aminoácidos usadas en la presente memoria para los veinte L-aminoácidos codificados genéticamente, y para algunos ejemplos de aminoácidos no codificados, se proporcionan en la Tabla 1:

Tabla 1

Aminoácido	Símbolo de una letra	Abreviatura habitual
Alanina	A	Ala

Aminoácido	Símbolo de una letra	Abreviatura habitual
Arginina	R	Arg
Asparagina	N	Asn
Ácido aspártico	D	Asp
Cisteína	C	Cys
Glutamina	Q	Gln
Ácido glutámico	E	Glu
Glicina	G	Gly
Histidina	H	His
Isoleucina	I	Ile
Leucina	L	Leu
Lisina	K	Lys
Metionina	M	Met
Fenilalanina	F	Phe
Prolina	P	Pro
Serina	S	Ser
Treonina	T	Thr
Triptófano	W	Trp
Tirosina	Y	Tyr
Valina	V	Val
Â-alanina		Bala
Ácido 2,3-diaminopropiónico		Dpr
Ácido Â-aminoisobutírico		Aib
N-Metilglicina (sarcosina)		MeGly
Ornitina		Orn
Citrulina		Cit
t-Butilalanina		t-BuA
t-Butilglicina		t-BuG
N-metilisoleucina		Melle
Fenilglicina		Phg
Ciclohexilalanina		Cha
Norleucina		Nle
Naftilalanina		Nal
Piridilalanina		
3-Benzotienil alanina		
4-Clorofenilalanina		Phe(4-Cl)
2-Fluorofenilalanina		Phe(2-F)
3-Fluorofenilalanina		Phe(3-F)
4-Fluorofenilalanina		Phe(4-F)
Penicilamina		Pen
Ácido 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolin-3-carboxílico		Tic
Â-2-tienilalanina		Thi
Metionina sulfóxido		MSO
Homoarginina		Harg
N-acetil lisina		AcLys

Aminoácido	Símbolo de una letra	Abreviatura habitual
Ácido 2,4-diamino butírico		Dbu
Ñ-aminofenilalanina		Phe(pNH ₂)
N-metilvalina		MeVal
Homocisteína		Hcys
Homoserina		Hser
Ácido α-amino hexanoico		Aha
Ácido α-amino valérico		Ava
Ácido 2,3-diaminobutírico		Dab

Independientemente de la constitución del aminoácido, la estructura del péptido cíclico o del análogo del mismo incluye un anillo macrocíclico. Tal como se usa el término en la presente memoria, un péptido cíclico o un análogo del mismo contiene un anillo macrocíclico que incluye el residuo de aminoácido C-terminal unido covalentemente a la cadena lateral de un residuo de aminoácido que está situado dentro de la cadena, es decir, un residuo de aminoácido "interno". Por tanto, la "entidad molecular inmunogénica" que comprende un "péptido cíclico o análogo del mismo" se puede concebir como una molécula que tiene una forma de bucle de tipo "lazo", en donde el bucle del lazo está libre mientras que la cola del lazo está enlazada al vehículo macromolecular. Como se describe más adelante, la cola del lazo puede enlazarse al vehículo macromolecular mediante un resto ligando, así como unirse directamente.

Un péptido cíclico o un análogo del mismo, tal como se usa en la presente memoria, también pueden incluir segmentos moleculares que no incluyen residuos de aminoácido. Por ejemplo, en el péptido cíclico o análogo se pueden incluir segmentos espaciadores, tales como segmentos de polietilenglicol (PEG). El segmento espaciador, dispuesto típicamente en la cola del bucle de tipo lazo, puede servir para mantener el hapteno lejos de la superficie del vehículo macromolecular para aumentar su accesibilidad a los anticuerpos.

El bucle se completa con un conjunto de átomos enlazados covalentemente, referido en la presente memoria como "resto macrociclizante" y mostrado como "R" en la Fórmula (I), que intervienen entre un grupo carbonilo del aminoácido C-terminal, es decir, el grupo carbonilo del grupo carboxilo del aminoácido, y el átomo de carbono de un aminoácido interno.

El "resto macrociclizante" como término usado en la presente memoria se refiere a un grupo de átomos enlazados covalentemente que pueden incluir carbono, nitrógeno, oxígeno, azufre e hidrógeno, que forma un puente entre el grupo carbonilo carboxi-terminal del residuo de aminoácido C-terminal y un átomo, tal como el carbono alfa, del residuo de aminoácido interno. El resto macrociclizante puede incluir enlaces de amida; por ejemplo, el resto puede ser un grupo que incluye un grupo de ácido carboxílico, que puede estar ligado covalentemente mediante un enlace de amida a un grupo amino de una cadena lateral de un residuo de aminoácido interno, y también puede incluir un grupo amino que puede estar enlazado covalentemente por un enlace de amida al carbonilo del grupo de ácido carboxílico del residuo de aminoácido C-terminal. El resto macrociclizante, designado como "R" en la Fórmula (I), también puede incluir otros tipos de grupo, tal como éster, tioéster, éter, tioéter, carbonilo, olefina o grupos hidrocarbonados. El resto macrociclizante puede contener cualquier grupo de tipo amida, o varios de dichos grupos, por ejemplo, tal como se describe en "Chemistry and Biochemistry of Amino Acids, Peptides, and Proteins", volumen 7, de Arno F. Spatola, (1983) Marcel Dekker, Nueva York / Base. Los grupos de tipo amida pueden incluir cetonas, aminas, éteres, tioéteres, sulfonas, sulfóxidos, sulfonamidas, sulfonatos, arilos, heteroarilos, alquilos, alquénilos, hidracinas, amidinas, guanidinas, ureas, tioureas, semicarbazidas, boronatos, fosfonatos, y similares.

Con un "anillo macrocíclico", tal como se usa el término en la presente memoria, se pretende indicar un anillo formado completamente por átomos enlazados covalentemente, en donde el tamaño del anillo es superior a aproximadamente 9 átomos. Un anillo macrocíclico puede incluir hasta 20 átomos, o 30 átomos, o más. El anillo macrocíclico puede incluir enlaces carbono-carbono, así como enlaces carbono-nitrógeno, carbono-oxígeno, carbono-azufre, nitrógeno-nitrógeno, y otros enlaces covalentes que incluyen átomos con valencias superiores a uno. En el péptido cíclico o análogo del mismo de la descripción, el anillo macrocíclico incluye algunos átomos de al menos tres, y de hasta aproximadamente 10, residuos de aminoácido, así como el resto macrociclizante descrito anteriormente que completa la estructura del anillo macrocíclico.

Un "vehículo macromolecular", tal como se usa el término en la presente memoria, se refiere a una entidad macromolecular que tiene un tamaño suficiente, en combinación con el hapteno ligado a ella, para activar el inicio de una respuesta inmune por un organismo expuesto a la composición. Típicamente, se une un hapteno a una proteína, por ejemplo, hemocianina de lapa de ojo de cerradura, a fin de activar la respuesta inmune y producir la formación de anticuerpos al hapteno ligado por parte del organismo sometido a la exposición. Por tanto, el vehículo macromolecular puede ser una proteína, particularmente una proteína que se sabe que es un buen vehículo para la presentación de haptenos, es decir, donde la mayoría de los anticuerpos activados tengan al hapteno y no a la

proteína vehículo como su estructura antigénica. Sin embargo, el vehículo macromolecular de la descripción puede ser una entidad que no sea una proteína. Por ejemplo, el vehículo macromolecular puede comprender un dendrímero, tal como un dendrímero de Péptido Antigénico Múltiple (MAP) como el desarrollado por J. Tam et al., (véase, por ejemplo, Posnett, D., McGrath, H., y Tam, J.P. "A novel method for producing anti-peptide antibodies" *J. Biol. Chem.* 263, 1719-1725 (1988), y Tam, J.P. "Synthetic peptide vaccine design: synthesis and properties of a high-density multiple antigenic peptide system" *PNAS USA* 85, 5409-5413 (1988), para la presentación de haptenos a sistemas inmunes. Dichos dendrímeros, que pueden formarse mediante polimerización en estrella de monómeros multifuncionales tales como la lisina, presentan múltiples grupos funcionales sobre la superficie de una macromolécula globular a los cuales se pueden unir los haptenos.

Además, la entidad macromolecular puede ser parte de una estructura supramolecular de macromoléculas, tal como una partícula vírica. Por ejemplo, se puede usar un sistema de presentación de fagos en donde la superficie de fagos sea adapta para la unión covalente del péptido cíclico o un análogo. O, el vehículo macromolecular puede incluir un virosoma, es decir, una estructura micelar formado por fosfolípidos, en donde las proteínas que se extienden por la membrana están embebidas y actúan como vehículo macromolecular al cual se une el hapteno.

Un "resto ligando", tal como se usa el término en la presente memoria, se refiere a un segmento molecular que se incorpora entre el péptido cíclico o análogo del mismo, y el vehículo macromolecular. El hapteno puede incluir el resto ligando, que se introduce como un reactivo bifuncional que puede actuar para acoplar el extremo N del péptido cíclico o análogo al vehículo mediante reacción con ambos. Cabe destacar que en algunos casos se puede acoplar directamente un péptido cíclico o análogo del mismo a un vehículo macromolecular, tal como una proteína. Por ejemplo, el grupo amino N-terminal de un péptido cíclico puede unirse directamente a una proteína, por ejemplo un grupo de ácido carboxílico de un aminoácido de proteína que porta una cadena lateral ácida tal como aspartato o glutamato, mediante el uso de un reactivo deshidratante tal como EDC (etil dimetilaminopropil carbodiimida) para formar un enlace de amida directo sin que intervenga ningún resto ligando. Sin embargo, un reactivo ligando, que consiste en un reactivo bifuncional, como es bien conocido en la técnica, puede desempeñar la misma función. Los átomos de dicho reactivo ligando, cuando se incorpora a la entidad molecular inmunogénica de la descripción, forman el "resto ligando", tal como se usa el término en la presente memoria.

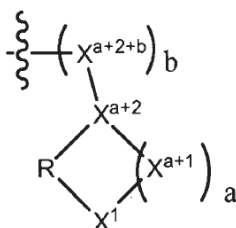
Los especialistas en la técnica conocen muchos tipos de reactivos ligando. Los ejemplos incluyen reactivos que tienen un grupo funcional adaptado para reaccionar con grupos tiol, por ejemplo derivados de N-alquilmaleimida, que pueden reaccionar con un residuo de cisteína u homocisteína N-terminal de un péptido cíclico o análogo del mismo de la descripción. El ligando también tiene un segundo grupo funcional que se adapta para reaccionar con un grupo presente sobre la superficie del vehículo macromolecular, por ejemplo un grupo carboxilato o un grupo amino de una cadena lateral de aminoácido en una proteína. Por ejemplo, un éster de N-hidroxisuccinimida de un grupo acilo puede reaccionar para formar un enlace de amida con un residuo de lisina superficial de la proteína. Los dos grupos funcionales del reactivo ligando están enlazados covalentemente, normalmente a través de átomos intermedios, de tal modo que la reacción de los dos extremos sirve para acoplar covalentemente las moléculas reactivas una con la otra a través del resto ligando. Ejemplos de química de ligandos pueden encontrarse en el catálogo de Pierce, P.O. Box 117, Rockford, IL 61105, que puede visualizarse en la página web: <http://piercenet.com/products/browse.cfm?fidID=0203>. Algunos ejemplos de reactivos ligandos que pueden reaccionar para formar restos ligandos incluyen MBS, sulfo-MBS, SMCC o sulfo-SMCC, como es bien sabido en la técnica.

El término "percepción de quórum" se refiere al fenómeno en el que determinadas especies bacterianas detectan sus propios niveles de población y, cuando se alcanza un determinado nivel de población, inician o amplifican la expresión de determinados rasgos, tal como la secreción de factores de virulencia.

El término "inmunógeno" se refiere al ingrediente activo de una vacuna activa y puede ser un polipéptido, un hapteno ligado a un vehículo como se describe en la presente memoria, o cualquier entidad macromolecular o estructura macromolecular que es capaz de provocar una respuesta inmune en un mamífero que ha sido expuesto o que ha entrado en contacto con el inmunógeno.

Una entidad molecular inmunogénica

La descripción proporciona una entidad molecular inmunogénica que comprende al menos un hapteno, el hapteno está ligado covalentemente a un vehículo macromolecular, opcionalmente a través de un resto ligando, el hapteno comprende un péptido cíclico o un análogo del mismo, el péptido cíclico o análogo del mismo comprende un anillo macrocíclico, en donde el péptido cíclico o el análogo del mismo comprenden de aproximadamente cuatro a aproximadamente diecinueve residuos de aminoácido, el péptido cíclico o el análogo del mismo tienen una estructura representada por la Fórmula I:



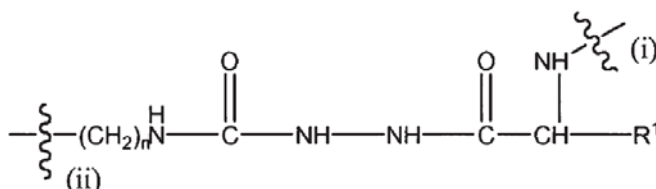
en donde cada X es de forma independiente cualquier residuo de aminoácido; X^1 es un residuo de aminoácido que está unido covalentemente a R mediante un grupo carbonilo respectivo; X^{a+2} es un aminoácido interno, del cual un átomo de carbono respectivo está unido covalentemente a R; R es un resto macrociclizante que conecta covalentemente X^1 y X^{a+2} formando así el anillo macrocíclico, en donde R comprende un grupo éster, tioéster, amida, carbamida, semicarbazida u otro grupo sustitutivo de amida, o cualquier combinación de los mismos; a va de 1 hasta aproximadamente 9; b va de 1 hasta aproximadamente 8; y un enlace cruzado por una línea ondulada indica un punto de unión de un residuo de aminoácido N-terminal del péptido cíclico o análogo del mismo a un vehículo macromolecular, opcionalmente a través del resto ligando.

En un ejemplo, el péptido cíclico o el análogo del mismo incluye estructuras de Fórmula (I) en donde a es 2-8, o alternativamente a puede ser 2-4, y R comprende un grupo alquiloxi o alcariloxi, alquiltio o alquilamino que une covalentemente X^{a+2} al grupo carbonilo X^1 , proporcionando así un enlace de éster, tioéster o amida, respectivamente, para formar un anillo macrocíclico de lactona, tiolactona o lactama, respectivamente.

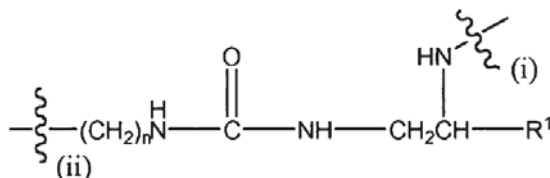
Más específicamente, el péptido cíclico o el análogo del mismo incluyen estructuras de la Fórmula (I), en donde R incluye $-\text{CH}_2\text{O}-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{O}-$, $-\text{CH}_2\text{-fenil-O}-$, $-\text{CH}_2\text{S}-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}-$ ó $-(\text{CH}_2)_n\text{NH}-$, en donde n va de 1 a aproximadamente 4.

En estos ejemplos, el péptido cíclico o el análogo del mismo pueden considerarse como que incluyen un anillo macrocíclico en donde el grupo carbonilo carboxi-terminal está unido a la cadena lateral de un residuo de serina, homoserina, treonina o tirosina respectivamente, formando un anillo de lactona; o a una cadena lateral de un residuo de cisteína u homocisteína respectivamente, formando una tiolactona; o a una cadena lateral de un residuo de diaminopropionato (n=1), diaminobutirato (n=2), ornitina (n=3) o lisina (n=4) respectivamente, formando una lactama.

En otro ejemplo, el péptido cíclico o el análogo del mismo incluye estructuras de Fórmula (I), en donde a es 2-8, o alternativamente a puede ser 2-4, y el grupo macrociclizante R comprende al menos un grupo amida, urea o semicarbazida, o al menos un enlace sustitutivo de amida. Por ejemplo, R puede estar representado por la Fórmula (IIa) o por la Fórmula (IIb):



Fórmula (IIa),

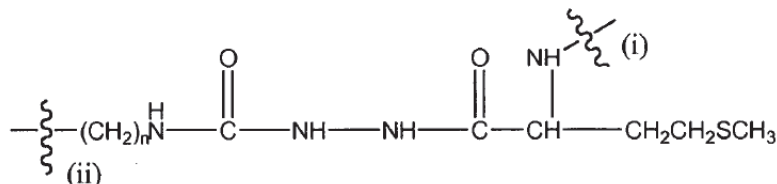


Fórmula (IIb),

en donde n va de 1 a aproximadamente 4, R^1 es la cadena lateral de un aminoácido natural o de un análogo del mismo, un enlace atravesado por una línea ondulada indica un punto de unión, en donde el punto de unión designado como (i) está enlazado al grupo carbonilo de X^1 y el punto de unión designado como (ii) está enlazado al carbono alfa de X^{a+2} . La cadena lateral de un aminoácido natural puede ser la cadena lateral de cualquiera de los aminoácidos ribosómicos, o de análogos de los mismos. Por tanto, la cadena lateral representada por R^1 puede ser la cadena lateral de aminoácidos ribosómicos como alanina, fenilalanina, histidina, metionina, asparagina, glutamina, triptófano, etc. Alternativamente, la cadena lateral puede ser una estructura análoga a dichas cadenas laterales naturales, por ejemplo, un grupo etilo en lugar de un grupo metil alanina, un grupo fenetilo en lugar de un grupo bencil fenilalanina, y otros similares. Un análogo de un residuo de aminoácido, o de una cadena lateral de

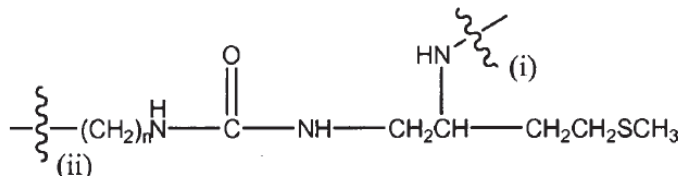
aminoácido, según se emplea el término en la presente memoria, se refiere a una estructura química que no es idéntica a la estructura natural pero que difiere solo en la adición de un grupo alquilo de poca longitud, o en la adición de un sustituyente que no cambia las propiedades físicas fundamentales de la cadena lateral. Por ejemplo, un análogo de alanina incluiría un derivado fluorado de alanina tal como trifluoroalanina, ya que el tamaño, la 5 ionicidad y la hidrofobicidad del residuo no se verían alteradas de manera importante por la sustitución.

Un ejemplo no limitante de fórmula (IIa) es:



Se reconoce que este grupo R¹ corresponde a una cadena lateral de metionina.

En la misma medida, R puede ser un grupo de fórmula (IIb) que porta una cadena lateral de metionina:



En otro ejemplo según la descripción, el péptido cíclico o el análogo del mismo pueden incluir residuos de aminoácido C-terminales hidrofóbicos. Por ejemplo, en un ejemplo, X¹ y X² en la Fórmula (I) son residuos de aminoácido hidrofóbicos. Más específicamente, X¹ y X² pueden seleccionarse de forma independiente del grupo de 10 residuos de aminoácido que consiste en alanina, valina, leucina, isoleucina, metionina, fenilalanina, tirosina o triptófano, o análogos de los mismos. De forma aún más específica, cada uno de X¹ y X² son de forma independiente metionina, leucina, fenilalanina, tirosina, alanina, isoleucina o triptófano.

En ejemplos adicionales, el péptido cíclico o análogo del mismo pueden incluir las secuencias YST(X^{a+2})DFIM (SEQ ID NO: 92), YST(X^{a+2})YFIM (SEQ ID NO: 93), IN(X^{a+2})DFLL (SEQ ID NO: 94), GVNA(X^{a+2})SSLF (SEQ ID NO: 95), 20 GVNP(X^{a+2})GGWF (SEQ ID NO: 96), KAKT(X^{a+2})TVLY (SEQ ID NO: 97), KTKT(X^{a+2})TVLY (SEQ ID NO: 98), GANP(X^{a+2})OLYY (SEQ ID NO: 99), GANP(X^{a+2})ALYY (SEQ ID NO: 100), GYST(X^{a+2})SYYF (SEQ ID NO: 101), GYRT(X^{a+2})NTYF (SEQ ID NO: 102), YNP(X^{a+2})VGYF (SEQ ID NO: 103), GGKV(X^{a+2})SAYF (SEQ ID NO: 104), SVKP(X^{a+2})TGFA (SEQ ID NO: 105), DSV(X^{a+2})ASYF (SEQ ID NO: 106), KYNP(X^{a+2})SNYL (SEQ ID NO: 107), KYNP(X^{a+2})ASYL (SEQ ID NO: 108), KYNP(X^{a+2})ANYL (SEQ ID NO: 109), RIPT(X^{a+2})TGFF (SEQ ID NO: 110), 25 DI(X^{a+2})NAYF (SEQ ID NO: 111), DM(X^{a+2})NGYF (SEQ ID NO: 112), KYNP(X^{a+2})LGFL (SEQ ID NO: 113), KYYF(X^{a+2})FGYF (SEQ ID NO: 114), GARP(X^{a+2})GGFF (SEQ ID NO: 115), GAKP(X^{a+2})GGFF (SEQ ID NO: 116), YSP(X^{a+2})TNFF (SEQ ID NO: 117), YSP(X^{a+2})TNF (SEQ ID NO: 118), QN(X^{a+2})PNIFGQWM (SEQ ID NO: 119), en donde el último residuo de aminoácido de cada secuencia es X¹, y (X^{a+2}) es el aminoácido interno al cual está unido covalentemente a través de R el grupo carbonilo de X¹.

En un ejemplo, el péptido cíclico o análogo del mismo puede imitar cualquiera de las secuencias determinadas para 30 moléculas de señalización de péptido cíclico naturales, tal como se muestra en la siguiente Tabla:

Bacteria	Péptidos de señalización cíclicos nativos
<i>S. aureus</i> I	YSTCDFIM (SEQ ID NO: 120)
<i>S. aureus</i> II	GVNACSSLE (SEQ ID NO: 121)
<i>S. aureus</i> III	INCDFLL (SEQ ID NO: 122)
<i>S. aureus</i> IV	YSTCYFIM (SEQ ID NO: 123)
<i>S. arlettae</i>	GVNPCCGGWF (SEQ ID NO: 124)
<i>S. auricularis</i> I	KAKTCTVLY (SEQ ID NO: 125)
<i>S. auricularis</i> II	KTKTCTVLY (SEQ ID NO: 126)
<i>S. capitis</i> I	GANPCOLYY (SEQ ID NO: 127)
<i>S. capitis</i> II	GANPCALYY (SEQ ID NO: 128)
<i>S. caprae</i> I	GYSTCSYYE (SEQ ID NO: 129)

<i>S. caprae</i> II	GYRTCNTYE (SEQ ID NO: 130)
<i>S. carnosus</i>	YNPCVGYE (SEQ ID NO: 131)
<i>S. cohnii</i> ssp. <i>cohnii</i>	GGKVC SAYE (SEQ ID NO: 132)
<i>S. cohnii</i> ssp. <i>urealyticum</i>	SVKPCTGFA (SEQ ID NO: 133)
<i>S. epidermis</i> I	DSVCASYE (SEQ ID NO: 134)
<i>S. epidermis</i> II	KYNPCSNYE (SEQ ID NO: 135)
<i>S. epidermis</i> III	KYNPCASYE (SEQ ID NO: 136)
<i>S. epidermis</i> IV	KYNPCANYE (SEQ ID NO: 137)
<i>S. intermedius</i>	RIPTSTGFE (SEQ ID NO: 138)
<i>S. lugdunensis</i> I	DICNAYE (SEQ ID NO: 139)
<i>S. lugdunensis</i> II	DMCNGYE (SEQ ID NO: 140)
<i>S. simulans</i> I	KYNPCLGFE (SEQ ID NO: 141)
<i>S. simulans</i> II	KYYPCFGYE (SEQ ID NO: 142)
<i>S. gallinarum</i>	VGARPCGGFE (SEQ ID NO: 143)
<i>S. xylosus</i>	GAKPCGGFE (SEQ ID NO: 144)
<i>S. warneri</i> (RN 833)	YSPCTNFE (SEQ ID NO: 145)
<i>E. faecalis</i>	QNSPNIFGQWM (SEQ ID NO: 146)

NOTA: el grupo carbonilo alfa del residuo subrayado forma un enlace de tiolactona con el grupo sulfhidrido del residuo de cisteína interno marcado en negrita.

5 Los péptidos cíclicos y los análogos de los mismos del hapteno pueden sintetizarse en forma linear usando técnicas de síntesis de péptidos en fase sólida estándares, en donde la cadena lateral del residuo de aminoácido interno al cual estará enlazado el grupo carbonilo X1 tanto directamente como a través de un resto macrociclizante más complejo, tal como los grupos de las Fórmulas (IIa) y (IIb), está bloqueada de forma apropiada, de tal modo que se puede lograr el desbloqueo selectivo de dicha cadena lateral de residuo de aminoácido. La cadena lateral desbloqueada selectivamente puede hacerse reaccionar entonces directamente con el grupo carboxilo C-terminal, enlazando de este modo la cadena lateral con el carbonilo C-terminal, en donde la cadena lateral está representada por el grupo R de Fórmula (I), o puede hacerse reaccionar con el resto macrociclizante más complejo para formar de este modo el anillo macrocíclico. Más adelante se proporcionan ejemplos de síntesis.

15 El vehículo macromolecular al cual se une covalentemente o se acopla el hapteno tiene un tamaño, un peso molecular y una composición suficientes para estimular una respuesta inmune en un animal que sea expuesto al complejo hapteno-vehículo. El hapteno, que incluye el péptido cíclico o el análogo de péptido cíclico, puede acoplarse directamente al vehículo macromolecular. Por ejemplo, se puede formar un enlace covalente entre un grupo funcional del vehículo tal como un ácido carboxílico y un grupo funcional del péptido cíclico o análogo, tal como entre un grupo amino N-terminal, usando un reactivo de formación de amida tal como EDC (etil dimetilaminopropil carbodiimida), opcionalmente con N-hidroxisuccinimida.

20 Alternativamente, un residuo de aminoácido N-terminal del péptido cíclico puede presentar una funcionalidad carboxílica, por ejemplo el residuo N-terminal puede ser un residuo de aspartato o de glutamato. En ese caso, se puede acoplar directamente a un grupo amino sobre el vehículo, usando la misma estrategia de síntesis química. El grupo amino puede estar presente, por ejemplo, en la cadena lateral de un residuo de lisina sobre la superficie de una proteína. Alternativamente, un grupo amino al cual el péptido carboxilato puede estar acoplado podría estar sobre la superficie de un dendrímero sintético, tal como una estructura MAP. Otros esquemas de acoplamiento directo del péptido cíclico o del análogo del mismo a un vehículo macromolecular serán evidentes para los especialistas en la técnica.

30 El vehículo macromolecular puede comprender un polipéptido. Por ejemplo, el vehículo macromolecular puede ser una proteína, y los ejemplos no limitantes de dichas proteínas vehículo adecuadas incluyen hemocianina de lapa de ojo de cerradura (KLH), albúmina de suero bovino (BSA), albúmina de suero de conejo (RSA), albúmina de suero humano (HSA), hemocianina de *Concholepas concholepas* (CCH), subunidad B de toxina del cólera, subunidad B de toxina lábil de *E. coli*, toxoide de la difteria, toxoide del tétanos, fragmento C de toxina del tétanos, exoproteína A de *Pseudomonas aeruginosa* recombinante, CRM197 (material de reactividad cruzada), albúmina de suero bovino cationizada (cBSA), tiroglobulina (Tg), avidina, tiroglobulina bovina (BTG), globulina G bovina, inmunoglobulina G bovina (IgG), conalbumina (CONA), oro coloidal, edestina, hemocianina de *Paralithodes camtschatica* (HC), hemocianina de *Helix pomatia* (HPH), inhibidor de tripsina de soja de Kunitz (KTI), hemocianina de *Limulus polyphemus* (LPH), ovoalbumina (OA), Pam3Cys-Th (lipopéptido/epítipo de célula Th), polilisina, tiroglobulina porcina (PTG), derivado de proteína purificado (PPD), inhibidor de tripsina de soja (STI) o globulina de girasol (SFG).

Por tanto, en algunos ejemplos, la entidad molecular inmunogénica comprende un hapteno unido covalentemente a un polipéptido tal como, aunque sin limitación, los polipéptidos de los ejemplos anteriores.

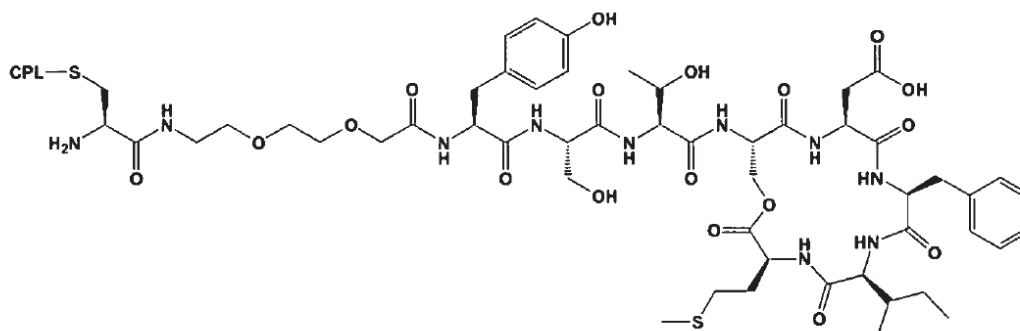
El vehículo macromolecular puede ser un polímero, tal como un polímero lineal adaptado para la unión covalente de haptenos, o puede ser otro tipo de vehículo sintético tal como, por ejemplo, un dendrímero. Un dendrímero producido mediante polimerización en estrella de monómeros con más de dos grupos reactivos puede adaptarse para proporcionar grupos funcionales a los cuales se puede acoplar un péptido cíclico sintético o un análogo del mismo usando técnicas químicas conocidas por los especialistas en la técnica. Por ejemplo, un dendrímero MAP, que proporciona múltiples grupos amino sobre su superficie, puede acoplarse a un grupo carboxilo de cadena lateral de un residuo de aminoácido N-terminal de un péptido cíclico inventivo. Véase, por ejemplo, Sakarellos-Daitsiotis *et al.*, *Current Topics in Medicinal Chemistry* 6: 1715-35 (2006); Saupe *et al.*, *Expert Opin. Drug. Deliv.* 3: 345-354 (2006); McDermott *et al.*, *Immunology and Cell Biology* 76: 256-62 (1998); y Shahiwala *et al.*, *Recent Patents on Drug Delivery & Formulation* 1: 1-9 (2007).

En otro ejemplo, la entidad molecular inmunogénica puede incluir un resto ligando, dispuesto entre el péptido cíclico o el análogo, y el vehículo macromolecular. Se puede usar un resto ligando para separar físicamente el(los) dominio(s) del hapteno para el cual se desea que los anticuerpos sean específicos, es decir, el péptido cíclico o el análogo, de la superficie del vehículo macromolecular. Un resto ligando se puede derivar de un reactivo ligando, tal como MBS (éster de *m*-maleimidobenzoil N-hidroxisuccinimida), sulfo-MBS (éster de *m*-maleimidobenzoil N-hidroxi-2-sulfosuccinimida), SMCC (succinimidil 4-(N-maleimidometil)-ciclohexano-1-carboxilato), sulfo-SMCC (2-sulfosuccinimidil 4-(N-maleimidometil)-ciclohexano-1-carboxilato), tal como se conoce en la técnica. La reacción del reactivo ligando con el péptido cíclico y con el vehículo hace que el resto ligando se acople a ambos. Por ejemplo, los reactivos ligando mencionados anteriormente se adaptan para acoplar un residuo de aminoácido N-terminal que contenga tiol del péptido cíclico y un grupo amino del vehículo macromolecular a través de la adición del grupo tiol al grupo maleimida, y mediante acilación del grupo amino del vehículo con el grupo éster N-hidroxi. Otros reactivos ligando se adaptan para reaccionar de formas diferentes con diferentes grupos. Se pueden incluir otros tipos de estructuras dentro de los restos ligando. Por ejemplo, un resto ligando puede incluir dihidrazida de ácido adípico (ADH), un péptido espaciador, hidroximetil hemisuccinato, o un derivado de polietilenglicol. Los especialistas en la técnica pueden seleccionar un reactivo ligando adaptado para reaccionar con el extremo N particular del péptido cíclico y con el vehículo macromolecular particular del modo deseado.

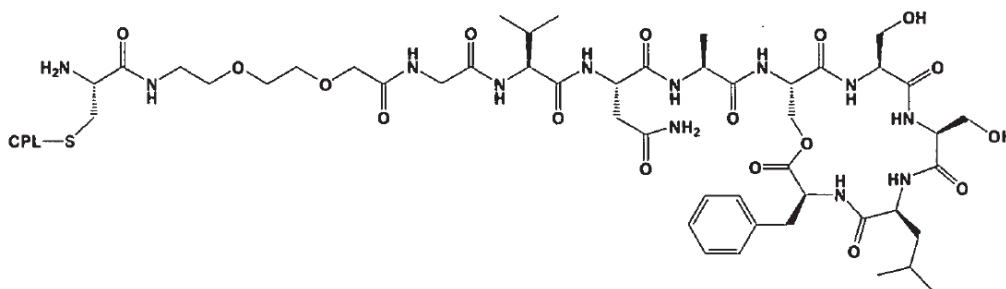
El vehículo macromolecular y el hapteno ligado covalentemente pueden incluirse dentro de una estructura supramolecular. La estructura supramolecular puede ser un liposoma o un virosoma, es decir, una estructura micelar que incluye proteínas que extienden en la membrana. Véase, por ejemplo, Westerfeld & Zurbriggen, *J. Peptide Sci.* 11: 707-712 (2005) y Felnerova *et al.*, *Current Opinion in Biotechnology* 15: 518-29 (2004). La estructura supramolecular puede ser una partícula vírica, tal como en un sistema de presentación de fagos, en donde un bacteriófago es adaptado para expresar grupos funcionales superficiales.

En otros ejemplos, no es necesario que el vehículo macromolecular y el hapteno ligado covalentemente estén incluidos dentro de una estructura supramolecular para ser inmunogénicos.

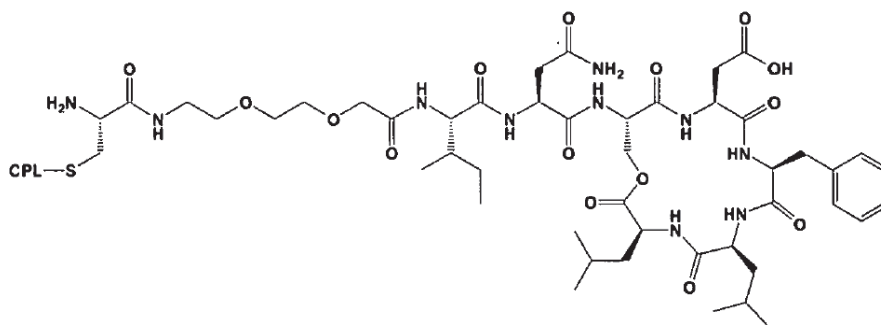
Los ejemplos específicos de entidades moleculares inmunogénicas de la descripción se muestran a continuación, a modo de ejemplo:



SEQ ID NO: 3 (YSTSDFIM, sin incluir grupos protectores),

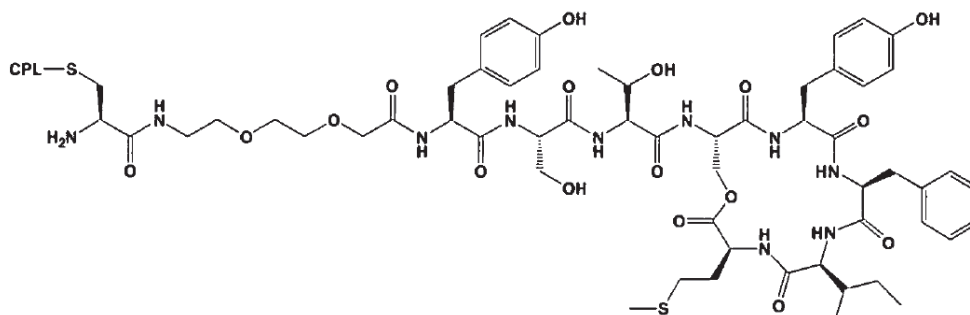


SEQ ID NO: 4 (GVNASSSLF, sin incluir grupos protectores),



SEQ ID NO: 2 (INSDFLF, sin incluir grupos protectores),

5 6



SEQ ID NO: 1 (YSTSYFIM, sin incluir grupos protectores),

10 en donde CPL es un vehículo macromolecular con un ligando opcional enlazado covalentemente a un grupo tiol de cisteína. En estos ejemplos se puede observar que el anillo macrocíclico incluye un grupo lactona formado entre un residuo de aminoácido de serina interno y el extremo carboxi, que es un residuo de metionina, fenilalanina o leucina. El anillo macrocíclico de cada uno de estos ejemplos incluye cinco residuos de aminoácido, cuatro residuos de aminoácido adicionales, un residuo de aminoácido sintético que comprende un grupo PEG, y un residuo de cisteína N-terminal enlazado a través de un grupo ligando opcional a un vehículo macromolecular, por ejemplo un polipéptido macromolecular. Estas composiciones representan ejemplos de estructuras que pueden usarse para inducir la

15 la formación de anticuerpos en un animal, en donde al menos algunos de los anticuerpos formados como respuesta son específicos del péptido cíclico o del análogo del hapteno.

La entidad molecular inmunogénica de la descripción puede usarse para realizar un escrutinio de una biblioteca de inmunoglobulina combinatoria recombinante (por ejemplo, una biblioteca de anticuerpos de presentación de fagos) para encontrar un anticuerpo específico para un péptido de señalización cíclico nativo. Por ejemplo, una entidad

20 molecular inmunogénica de la descripción que tiene un hapteno correspondiente al análogo de lactona, lactama, carbamida o semicarbazida del péptido de señalización cíclico AIP IV de *S. aureus*, puede usarse para realizar un escrutinio de una biblioteca de inmunoglobulina combinatoria recombinante para encontrar un anticuerpo que se una específicamente con el péptido de señalización cíclico AIP IV. A continuación se discuten los usos de un anticuerpo que se une específicamente a un péptido de señalización cíclico.

Una entidad molecular inmunogénica de la descripción también puede usarse para provocar una respuesta inmune en un mamífero dirigida contra el péptido de señalización cíclico seleccionado. Por ejemplo, una entidad molecular inmunogénica de la descripción que tiene un hapteno correspondiente al análogo de lactona, lactama, carbamida o semicarbazida del péptido de señalización cíclico AIP IV de *S. aureus*, puede usarse para provocar una respuesta inmune contra el péptido de señalización cíclico AIP-IV en un mamífero.

El mamífero resultante puede ser una fuente de anticuerpos específicos para el péptido de señalización cíclico. Por ejemplo, se pueden aislar los anticuerpos contra AIP-IV a partir de la sangre del mamífero. Adicionalmente, se pueden aislar células productoras de anticuerpos y usarse para preparar hibridomas productores de anticuerpos para la producción de anticuerpos monoclonales como se discute más adelante.

La entidad molecular inmunogénica de la descripción también puede usarse como vacuna en el sentido en que la respuesta inmune generada en el mamífero puede proteger al mamífero frente a la infección por una bacteria Gram positiva que utiliza el péptido de señalización cíclico seleccionado en la percepción de quórum y en la expresión de genes de virulencia o para evitar que el mamífero desarrolle una enfermedad o afección asociada a la infección. Por ejemplo, una entidad molecular inmunogénica de la descripción que tiene un hapteno correspondiente al análogo de lactona, lactama, carbamida o semicarbazida del péptido de señalización cíclico AIP IV de *S. aureus*, puede usarse para provocar una respuesta inmune contra el péptido de señalización cíclico AIP-IV de tal modo que el mamífero está protegido contra el desarrollo de una condición de enfermedad o de complicaciones asociadas a la virulencia de *S. aureus*.

Los usos de una entidad molecular inmunogénica de la descripción se describen más adelante con más detalle, por ejemplo, en las secciones de Métodos y de EJEMPLOS.

Anticuerpos

Un anticuerpo de la descripción es aquel que se une específicamente a un péptido de señalización cíclico. Tal como se usa en la presente memoria, el término "péptido de señalización cíclico" se refiere a un péptido cíclico producido por una bacteria Gram positiva que utiliza la percepción de quórum para regular la expresión de los genes de virulencia. El péptido de señalización cíclico es una molécula de señalización que se une a una molécula sensor de histidina quinasa unida a la membrana, y que interacciona entonces con un regulador de respuesta intracelular.

Los péptidos de señalización cíclicos son producidos por bacterias Gram positivas que emplean la percepción de quórum y que incluyen, sin limitación, diversas especies de *Staphylococci* y *Enterococcus faecalis*. En la siguiente tabla se proporcionan ejemplos no limitantes de péptidos de señalización cíclicos y de las bacterias productoras. El péptido de señalización está compuesto por una cola N-terminal y un anillo que contiene tiolactona o lactona que se forma por reacción del grupo alfa carboxilo del residuo de aminoácido "C-terminal" (subrayado) con el grupo sulfhidrilo o hidroxilo de cadena lateral de un aminoácido interno (en negrita).

Bacteria	Péptidos de señalización cíclicos nativos
<i>S. aureus</i> I	YSTCDFIM (SEQ ID NO: 120)
<i>S. aureus</i> II	GVNACSSLF (SEQ ID NO: 121)
<i>S. aureus</i> III	INCDFLL (SEQ ID NO: 122)
<i>S. aureus</i> IV	YSTCYFIM (SEQ ID NO: 123)
<i>S. arlettae</i>	GVNPCGGWF (SEQ ID NO: 124)
<i>S. auricularis</i> I	KAKTCTVLY (SEQ ID NO: 125)
<i>S. auricularis</i> II	KTKTCTVLY (SEQ ID NO: 126)
<i>S. capitis</i> I	GANPCOLYY (SEQ ID NO: 127)
<i>S. capitis</i> II	GANPCALYY (SEQ ID NO: 128)
<i>S. caprae</i> I	GYSTCSYYE (SEQ ID NO: 129)
<i>S. caprae</i> II	GYRTCNTYE (SEQ ID NO: 130)
<i>S. carnosus</i>	YNPCVGYE (SEQ ID NO: 131)
<i>S. cohnii ssp. cohnii</i>	GGKVC SAYE (SEQ ID NO: 132)
<i>S. cohnii ssp. urealyticum</i>	SVKPCTGFA (SEQ ID NO: 133)
<i>S. epidermis</i> I	DSVCASYE (SEQ ID NO: 134)
<i>S. epidermis</i> II	KYNPCSNYL (SEQ ID NO: 135)
<i>S. epidermis</i> III	KYNPCASYL (SEQ ID NO: 136)
<i>S. epidermis</i> IV	KYNPCANYL (SEQ ID NO: 137)

<i>S. intermedius</i>	RIPTSTGFE (SEQ ID NO: 138)
<i>S. lugdunensis</i> I	DICNAYE (SEQ ID NO: 139)
<i>S. lugdunensis</i> II	DMCNGYE (SEQ ID NO: 140)
<i>S. simulans</i> I	KYNPCLGFL (SEQ ID NO: 141)
<i>S. simulans</i> II	KYYPCFGYE (SEQ ID NO: 142)
<i>S. gallinarum</i>	VGARPCGGFE (SEQ ID NO: 143)
<i>S. xylosus</i>	GAKPCGGFE (SEQ ID NO: 144)
<i>S. warneri</i> (RN 833)	YSPCTNFE (SEQ ID NO: 145)
<i>E. faecalis</i>	QNSPNIFGQWM (SEQ ID NO: 146)

Por tanto, un péptido de señalización cíclico puede tener un anillo de tres a siete aminoácidos y una cola de uno a aproximadamente nueve aminoácidos. La estructura de anillo se forma entre el grupo alfa-carbonilo del "residuo de aminoácido C-terminal", que es el aminoácido carboxi-terminal de un péptido lineal correspondiente, y un grupo alquilo o alquiltio de la cadena lateral del residuo de serina o cisteína internos, en particular, el 4°, 5°, 6°, 7°, 8° ó 9° residuo desde el aminoácido carboxi-terminal. Por ejemplo, la molécula de señalización AIP4 de *S. aureus* es un análogo de péptido de tiolactona cíclico compuesto por la secuencia de aminoácidos YSTCYFIM (SEQ ID NO: 123). La estructura de anillo de tiolactona cíclica es consecuencia de un enlace entre el grupo alfa-carboxilo de la metionina (M), el "residuo de aminoácido C-terminal", y el grupo sulfhidrido de la cisteína HAS, el quinto aminoácido desde el residuo de metionina (M) "C-terminal".

Por tanto, un péptido de señalización cíclico puede presentar un anillo de cinco aminoácidos, por ejemplo, un anillo de tiolactona o de lactona, y una cola de dos a cinco aminoácidos.

Un anticuerpo puede ser una molécula de inmunoglobulina o un fragmento inmunológicamente activo de la misma que se une específicamente a un antígeno particular. Un anticuerpo de la descripción es aquel que se une específicamente a un péptido de señalización cíclico nativo, o un hapteno que incluye el análogo de lactona, lactama, carbamida o semicarbazida del péptido de señalización cíclico. Tal como se usa en la presente memoria, el término "se une específicamente" o "unido específicamente" en referencia a un anticuerpo de la descripción significa que el anticuerpo de la descripción se unirá al péptido de señalización cíclico o al correspondiente hapteno, pero no se unirá sustancialmente a otras moléculas no relacionadas, que incluyen solo la proteína vehículo u otras moléculas no relacionadas que puedan estar presentes con la entidad molecular inmunogénica, la estructura supramolecular, o una muestra biológica de un mamífero. Por ejemplo, un anticuerpo que se une específicamente a una entidad molecular inmunogénica de la descripción en la que el hapteno es un análogo de lactona, lactama, carbamida o semicarbazida de la molécula de señalización de péptido cíclico AIP IV de *S. aureus* es aquel que se unirá con el péptido cíclico AIP IV de *S. aureus*, pero no se unirá sustancialmente solo con el vehículo o con una molécula no relacionada.

Un anticuerpo de la descripción también es un anticuerpo neutralizante. Tal como se usa en la presente memoria, el término "anticuerpo neutralizante" se refiere a un anticuerpo que se unirá a un péptido de señalización cíclico y que evitará la unión del péptido de señalización cíclico con su receptor asociado a membrana. El término "anticuerpo neutralizante" también incluye un anticuerpo de reactividad cruzada, un anticuerpo que se unirá y que evitará la unión de al menos dos péptidos de señalización cíclicos con sus receptores, por ejemplo, péptidos de señalización cíclicos de diferentes grupos agr. Se puede determinar si un anticuerpo es un anticuerpo neutralizante mediante métodos conocidos por los especialistas en la técnica, que incluyen los descritos en la presente memoria, por ejemplo, los de la sección de EJEMPLOS.

Un anticuerpo de la descripción puede ser un anticuerpo policlonal o un anticuerpo monoclonal. Los anticuerpos policlonales pueden obtenerse inmunizando un mamífero con una entidad molecular inmunogénica de la descripción, y a continuación aislando anticuerpos a partir de la sangre del mamífero usando técnicas estándar que incluyen, por ejemplo, ensayo inmunosorbente ligado a enzima (ELISA) para determinar el título de anticuerpos y cromatografía de proteína a para obtener la fracción de IgG que contiene el anticuerpo.

Un anticuerpo monoclonal es una población de moléculas que tiene un sitio de unión a antígeno común que se une específicamente a un epítipo antigénico particular. Un anticuerpo monoclonal puede obtenerse seleccionando una célula productora de anticuerpos de un mamífero que ha sido inmunizado con una entidad molecular inmunogénica de la descripción y fusionando la célula productora de anticuerpos, p.ej., una célula B, con un mieloma para generar un hibridoma productor de anticuerpos. También se puede obtener un anticuerpo monoclonal de la descripción realizando un escrutinio de una biblioteca combinatoria recombinante tal como una biblioteca de presentación de fagos de anticuerpos usando, por ejemplo, una entidad molecular inmunogénica de la descripción. Véase, por ejemplo, Barbas, C.F., 3rd, D.R. Button, J.K. Scott y G.J. Silverman, *Phage Display – A Laboratory Manual*. 2001, Cold Spring Harbor, Nueva York: Cold Spring Harbor Laboratory Press; y Kontermann, R., Dübel, S., *Antibody Engineering*, 2001, Berlín, Heidelberg: Springer-Verlag.

Un fragmento inmunológicamente activo de un anticuerpo es el fragmento biológicamente activo de una molécula de inmunoglobulina, por ejemplo, el fragmento F(ab) o F(ab')₂ generado por ruptura del anticuerpo con una enzima tal como pepsina. Un fragmento inmunológicamente activo también puede ser un fragmento variable de cadena sencilla (scFv) que resulta de la unión de los fragmentos variables de las cadenas pesada y ligera.

- 5 Un anticuerpo de la descripción también puede ser un anticuerpo de ratón, quimérico, humanizado o completamente humano. Un anticuerpo de ratón es un anticuerpo derivado completamente de una fuente de ratón, por ejemplo, un anticuerpo derivado de un hibridoma de ratón generado a partir de la fusión de una célula de mieloma de ratón y una célula de linfocito B de ratón. Un anticuerpo quimérico es un anticuerpo que tiene regiones variables derivadas de una fuente no humana, p.ej., de ratón o de primate, y regiones constantes derivadas de una fuente humana. Un anticuerpo humanizado tiene las regiones de unión a antígeno, p.ej., regiones determinantes de la complementariedad, derivadas de una fuente de ratón, y el resto de regiones variables y regiones constantes derivadas de una fuente humana. Un anticuerpo completamente humano es un anticuerpo procedente de células humanas o derivado de ratones transgénicos que portan genes de anticuerpos humanos.

- 15 Los métodos para generar anticuerpos son bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, se puede preparar un anticuerpo policlonal de la descripción inmunizando un mamífero adecuado con una entidad molecular inmunogénica de la descripción. El mamífero puede ser, por ejemplo, un conejo, cabra o ratón. En el momento apropiado después de la inmunización, se pueden aislar las moléculas de anticuerpo del mamífero, p.ej. a partir de la sangre o de otro fluido del mamífero, y se pueden purificar adicionalmente usando técnicas estándar que incluyen, sin limitación, precipitación con sulfato de amonio, cromatografía de filtración en gel, cromatografía de intercambio iónico o cromatografía de afinidad con proteína A. Adicionalmente, se puede aislar una célula productora de anticuerpos del mamífero y usarse para preparar una célula de hibridoma que secrete un anticuerpo monoclonal de la descripción. Las técnicas para preparar células de hibridoma secretoras de anticuerpos monoclonales son conocidas en la técnica. Véase, por ejemplo, Kohler y Milstein, *Nature* 256: 495-97 (1975) y Kozbor et al. *Immunol. Today* 4: 72 (1983). También se puede preparar un anticuerpo monoclonal de la descripción usando otros métodos conocidos en la técnica, tal como, por ejemplo, la expresión a partir de una molécula de ADN recombinante, o mediante un escrutinio de una biblioteca de inmunoglobulina combinatoria recombinante usando una entidad molecular inmunogénica de la descripción como se ha discutido anteriormente.

- 30 Los métodos para generar anticuerpos monoclonales quiméricos y humanizados también son bien conocidos en la técnica e incluyen, por ejemplo, métodos que implican tecnología de ADN recombinante. Se puede producir un anticuerpo quimérico mediante expresión a partir de un ácido nucleico que codifica una región variable no humana y una región constante humana de una molécula de anticuerpo. Véase, por ejemplo, Morrison et al., *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 86: 6851 (1984). Un anticuerpo humanizado puede ser producido mediante expresión a partir de un ácido nucleico que codifica regiones de unión a antígeno no humanas (regiones determinantes de la complementariedad) y una región variable humana (sin regiones de unión a antígeno) y regiones constantes humanas. Véase, por ejemplo, Jones et al., *Nature* 321: 522-24 (1986); y Verhoeven et al., *Science* 239: 1534-36 (1988). Los anticuerpos completamente humanos pueden producirse inmunizando ratones transgénicos modificados que expresen solo genes de cadenas pesadas y ligeras humanas. En este caso, se pueden obtener entonces anticuerpos monoclonales terapéuticamente útiles usando tecnología convencional de hibridomas. Véase, por ejemplo, Lonberg y Huszar, *Int. Rev. Immunol.* 13: 65-93 (1995). Los ácidos nucleicos y las técnicas implicadas en el diseño y producción de anticuerpos son bien conocidas en la técnica. Véase, por ejemplo, Batra et al., *Hybridoma* 13: 87-97 (1994); Berdoz et al., *PCR Methods Appl.* 4: 256-64 (1995); Boulianne et al., *Nature* 312: 643-46 (1984); Carson et al., *Adv. Immunol.* 38: 274-311 (1986); Chiang et al., *Biotechniques* 7: 360-66 (1989); Cole et al., *Mol. Cell. Biochem.* 62: 109-20 (1984); Jones et al., *Nature* 321: 522-25 (1986); Larrick et al., *Biochem Biophys. Res. Commun.* 160: 1250-56 (1989); Morrison, *Annu. Rev. Immunol.* 10: 239-65 (1992); Morrison et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 81: 6851-55 (1984); Orlandi et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. U.S.A.* 86: 3833-37 (1989); Sandhu, *Crit. Rev. Biotechnol.* 12: 437-62 (1992); Gavilondo y Larrick, *Biotechniques* 29: 128-32 (2000); Huston y George, *Hum. Antibodies.* 10: 127-42 (2001); Kipriyanov y Le Gall, *Mol. Biotechnol.* 26: 39-60 (2004).

Los ejemplos de anticuerpos monoclonales y de fragmentos variables de cadena sencilla de la descripción se muestran a continuación, así como sus secuencias codificadoras de nucleótidos.

50 **Secuencias de aminoácidos de las cadenas variables pesadas y ligeras de anticuerpos monoclonales de ratón**

Anticuerpo	Cadena pesada variable	Cadena ligera variable
AP1-15B4	EVHLVESGGDLVKPGGSLKLS CAASGFAFSDFAMSWVRQTPE KRLEWVAIIKSDDSYTYYPDS VRDRFTISRDNARNTLYLQMT SLRSED TALYYCTKIYDAYFY AMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 19)	DIVRTQSPLSLSVSLGDQASISC RSSQSLLHSNGNTYLHWYLQKPG QSPKLLIYKVSNRFSGVDPDRFSG SGSGTDFTLKISILEAEDLGIYF CSQSTHFPTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 147)

AP4-24H11	EVKPQESGPGLVKPSQSLSLT CTVTGYSITSNYAWNWIQFP GNKLEWMGFISSYGTTTYNPS LKSRSITRDTSKNQFFLQLH SVTIEDTGTIFYCTREGDYWGQ GTTLTVSS (SEQ ID NO: 20)	DIVMTQATLSLPVSLGDQASISC RSSQRLVPSNGNIYLHWFLQKPG QSPKLLIYKLSSRFSGVPDRFSG SGSGTDFTLKISRVESEDLGIFY CSQTTTHVPYTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 148)
AP4-29E10-1	EVQLQQSGPELEKPGASVKIS CKASGHSFTGYNMNWKQSN KSLEWIGNIAPYYGVTAYNQK FKGKATLTGDKSSSTAYMQLK SLASEDSAVYYCVLDTSGYAS WGQGTILVTVSA (SEQ ID NO: 21)	DIVMTQATASLTVSLGQRATISC RASKSVSTSGYSYMHWYQQKPGQ PPKLLIYLASNLESGVPARFSGS GSGTDFTLNHPVEEEDAATYYC QHSREVPYTFGGGKLELK (SEQ ID NO: 149)
AP4-29E10-2	QVQLQQSGPELEKPGASVKIS CKASGHSFTGYNMNWKQSN KSLEWIGNIAPYYGVTAYNQK FKGKATLTGDKSSSTAYMQLK SLTSEDSAVYYCVLDTSGYAS WGQGTILVTVSA (SEQ ID NO: 22)	DIEMTQITASLTVSLGQRATISC RASKSVSTSGYSYMHWYQQKPGQ PPKLLIYLASNLESGVPARFSGS GSGTDFTLNHPVEEEDAATYYC QHSREVPYTFGGGKLELK (SEQ ID NO: 150)
AP1-15B4-Δ	GGDLVKPGGSLKLSCAASGFA FSDFAMSWVRQTPEKRLEWVA IIKSDDSYTYYPDSVRDRFTI SRDNARNTLYLQMTSLRSED ALYYCTKIYDAYFYAMDYWGQ GTS (SEQ ID NO: 23)	PLSLSVSLGDQASISCRSSQSLL HSNGNTYLHWYLOKPGQSPKLLI YKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDF TLKISILEAEDLGIFYFCSQSTHF PTFGGGT (SEQ ID NO: 151)
AP4-24H11-Δ	GPGLVKPSQSLSLTCTVTGYS ITSNYAWNWIQFPGNKLEWM GFISSYGTTTYNPSLKSRSI TRDTSKNQFFLQLHSVTIEDT GTIFYCTREGDYWGQGT (SEQ ID NO: 24)	TLSLPVSLGDQASISCRSSQRLV PSNGNIYLHWFLQKPGQSPKLLI YKLSSRFSGVPDRFSGSGSGTDF TLKISRVESEDLGIFYFCSQTT HVPYTFGGGT (SEQ ID NO: 152)
AP4-29E10-1-Δ	GPELEKPGASVKISCKASGHS FTGYNMNWKQSNCKSLEWIG NIAPYYGVTAYNQKFKGKATL TGDKSSSTAYMQLKSLASEDS AVYYCVLDTSGYASWGQGT (SEQ ID NO: 25)	TASLTVSLGQRATISCRASKSVS TSGYSYMHWYQQKPGQPPKLLIY LASNLESGVPARFSGSGSGTDF LNHPVEEEDAATYYCQHSREVP YTFGGGT (SEQ ID NO: 153)
AP4-29E10-2-Δ	GPELEKPGASVKISCKASGHS FTGYNMNWKQSNCKSLEWIG NIAPYYGVTAYNQKFKGKATL TGDKSSSTAYMQLKSLTSEDS AVYYCVLDTSGYASWGQGT (SEQ ID NO: 26)	TASLTVSLGQRATISCRASKSVS TSGYSYMHWYQQKPGQPPKLLIY LASNLESGVPARFSGSGSGTDF LNHPVEEEDAATYYCQHSREVP YTFGGGT (SEQ ID NO: 154)

Secuencias de ácidos nucleicos que codifican las cadenas variables pesadas y ligeras de anticuerpos monoclonales de ratón

Anticuerpo	Cadena pesada variable	Cadena ligera variable
AP1-15B4	gaggtgcacctgggtgagctctgggggagagcttagtgaagcctggggg tccctcaaaactctcctgtgcagcctctggattcgcttccagtgacttt gccatgtcttgggttcgccagactccggagaagagctggagtggtc gcaattataaagtgatgattcttacacctactatccagacagtggtg aggacccattcaccatctccagagacaaatgccaggaaacccctttac ctgcaaatgaccagctctgaggtctgaagacacagccttgattactgt acaaaaatctatgatgcttacttctatgctatgctatgactactgggtcaa ggaacctcagtcacgcgtctcctcg (SEQ ID NO: 27)	gacattgtgaggacacagctctccactctccctgtctgtcagttgtgag atcaagcctccatctctttagatctagtcagagccttttacacagtaa tggaacacactatttacattgttacctgcagaagccaggtctcca aaactcctgatctacaaagtttccaaacagatttctgggtcccagaca ggttcagtgctgagtgatcaggagacagatttcacactcaagatcagcat attggaggtcaggatctgggaattttatttctgtctcaagtagacacat tttccgacgttcggtggaggaccacaaagctggaataaaaa (SEQ ID NO: 155)
AP4-24H11	gaggtgaagcctcaggagtcaggacctggcctgggtgaaaccttctcag tctctgtccctcacctgcactgtcactggctactcaataccacagtaat tatgccttgaaactggatccggcagtttccaggaaacaaactggagtggtg atggccttcataaagtctcctatggaacctactacctcaaccttctctc aaaagtcgattctctatcactcagacacatccaaagacagttcttc ctgcaattgcattctgtgactattgaggacacagggcacatatctctgt acaagagaggtgactactggggccaaaggcaccactctcacagtctcc tca (SEQ ID NO: 28)	gacattgtgatgactcaggctacactctccctgcctgcctgtcagttgtgag accaagcctccatctcttgcagatccagtcagcgccttgttccagtaa tggaacacattattacattggttccctgcagaagccaggtccagttcca aagctcctgatctacaaacttccagtcgatttctgggtcccagaca ggttcagtggtcagtgatcaggagacagatttcacactcaagatcagcag agtggagtcagtgatctgggaattttatttctgtctcaaaactacacat gttccatacacgttccggagggggaccacaaagctggaaatacaaa (SEQ ID NO: 156)
AP4-29E10-1	gaggtccagctgcaaacagtcctggacctgagctggagaagcctggcgct tcagtgaaagatatcctgcaaggcttctgttcattcattcactggctac aacatgaactgggtgaagcagagcaatgacaagagccttgagtggtt ggaaatattgctccttactatggtgttactgcctacacacagaaagttc aagggaaggccacattgactggagacaaatccctcagcactgcctac atgcagctcaagagcctggcatctgaggactctgagtcattactgt gtcctagacacctcgggtacgcttctcctggggccaaaggagactctggtta actgtctctgca (SEQ ID NO: 29)	gacattgtgatgactcaggctactgtcttcttaactgtatctctggggc agagggccaccatctcatgcaggccagcaaaaagtgtcagtagatctgg ctatagttatatgcactggtaccacacagaaacccaggtacagccaccaa ctcctcatctatcttgcatccaaacctagaatctgggtccctgccaggt tcagtggtcagtggtctgggacagacttaccctcaacatccatcctgt ggagggaggagatgctgcaacctattactgtcagcacagtagggaggtt ccgtacacgttcggaggggggaccacaaagctggagctgaaa (SEQ ID NO: 157)
AP4-29E10-2	caggtccagctgcagcagctctgggctgagctggagaagcctggcgctt cagtgaaagatatcctgcaaggcttctggtcattcattcactggctacaa catgaactgggtgaagcagagcaatgacaagagccttgagtgattgga aatattgctccttactatggtgttactgcctacacacagaaagttcaagg gcaaggccacattgactggagacaaatccctcagcactgcctacatgca gctcaagagcctgacatctgaggactctgagtcattactgtgtccta gacacctcgggtacgcttctcctggggccaaaggagactctggtcactgtct ctgca (SEQ ID NO: 30)	gacattgagatgaccacagattactgttcttcaactgtatctctggggc agagggccaccatctcatgcaggccagcaaaaagtgtcagtagatctgg ctatagttatatgcactggtaccacacagaaacccaggtacagccaccaa ctcctcatctatcttgcatccaaacctagaatctgggtccctgccaggt tcagtggtcagtggtctgggacagacttaccctcaacatccatcctgt ggagggaggagatgctgcaacctattactgtcagcacagtagggaggtt ccgtacacgttcggaggggggaccacaaagctggagctgaaa (SEQ ID NO: 158)

Secuencias de aminoácidos de anticuerpos scFv humanos

AP1-2	QVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYFTSHWISWVRQMPGKGLEWGRIDPDSYSNYPSPFQGHVLIISVDKSIISTAYIQWSSLIKASDTHIYY CARQLIVVVPAAPYYIYYGMDVWGQGLTVTVSSGGGGGGGGSGGSGEIVLTQSPGTLISLPGERATLISCRASQTVNSYLAWYQKPGQAPRL IYGASSRATGIPDRFSGSGGTDFLTITISLEPEDFAVYYCQYGGSHPTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 35)
AP1-6	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCSKASGGTFSSYAI SWVRQAPQGQGLEWGGIPIFGTANYAQRFQGRVITADESTSTAYMELSSLRSEDTHIYY CARVFGSGQDPSDIWSGYGYMEVWGQGLTVTVSSGGGGGGGGGGGGSDIQMTQSPSSVSASVGDRTVITCRASQGISWLAWYQKPGKAPK LLIYAASLSQSRVPSRFSGSGSGGTDFLTITISLQPEDFAVYYCQQANSFPYTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 36)

AP1-8	QVQLVSGAEAKKPGSVKVKSCASGGTFTSSYAIISWVRQAPQGQLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSLRSEDNAVYY ARAGITGTTAPDYWGQGLTVTVSSGGSGGGSGGSGSVIWMQSPSSISASVGRVTITCRASQSISSYLNWYQRPKAPKLLIYAASLQ GVTSRFSGGSGTDFTLTISSLPQEDFATYYCOQSYSTPTFTGGTKLEIK (SEQ ID NO: 37)
AP1-11	QVQLVQSGSELKPGASVKLSKRASGYTFTSYSMVWRQAPGEGLEWMGGINTNGPTYAQGFTERFVFSFDSSVSTAYLIQISSLKAEDTAVYY CARDWAYSGSWPLGQNPSDHWGQGLTVTVSSGGSGGGSGGSEIVMTQSPATISVSPGERATLSGRASQSVSRNLAWYQKPGQAPRLLIY DTSTRATGIPARFSGSGGTFTLTISLQSEDSAVYYCOOYNIWPLTFTGGGTKEIK (SEQ ID NO: 38)
AP1-15	QVQLQQWAGLLKPSSETLSLTCAVYGGSFSGYRTWIRQSPFKWIGEVNDRGSPNPNPSFKSLRTISIDTSKNLSLKLRFMTAADTAVYSCA RIRPRYGMVWGQGLTVTVSSGGSGGGSGGGSDIVMTQTPLESPVTLQCPASISCRSSQSLVHSDGNTYLTWFWHQRPQPPRVLHVKVSNL FSGVPDRFSGSGAGTDFTLKISRVEAEDGVVYCMQATQLYTFGGTKVEIK (SEQ ID NO: 39)
AP1-16	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVKSCVGYTLTTELSMHWVRQAPGKLEWMGGFDPEDGETISAQKFQGRVTMTEDTSTDTAYMDLSLRSEDNAVYY ATQRLCSGGRCYSHFDYWGQGLTVTVSSGGSGGGSGGGSETTLTQSPAIMSAPGERVTMTCSASSIRIYIYQKPGSSPRLLIYDTSNV APGVPRFSGSGSTSYSLTINRMEAEADAATYYCQEWGSPYPTFTGGGTKEIK (SEQ ID NO: 40)
AP1-19	QMQLVQSGAEVKKPGSSVKVKSCASGGTFTNTYVVISWVRQAPGQGLEWMGWI SAYNGNTNVAQKLGQGRVTMTTDTSTSTAYMELSLRSDDTAVYY CARVMSPLDYWGQGLTVTVSSGGSGGGSGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSQSVLYSNMNYLAWYQKPGQPPKLLIYMAST RESGVPRFSGSGTDFTLTISSLQAEADAATYYCQYISTPTFTGGGTKEIK (SEQ ID NO: 41)
AP3-1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVKSCKSGYFTFTGYNMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNNGTNYDQKFQGRVAMTRDTSTISAYMELSLRSDDTAVYY CARDNGRVTGGYWGQGLTVTVSSGGSGGGSGGGSGGSOVLTPQPSLQAPGQSVTISCAGTSSSISGAGYDVQWYQQLPGKTPKLLIYGNDR PSGVPRFSGSRSTASLVITRQVIEDEADYCYQSYDSSLIGPQFGGTKLTVLG (SEQ ID NO: 42)
AP3-2	QVQLVQSGAEVKKPGESLKIQTASGYNFASYWIGVRQMPQGLEWMGIIYPGSDTRYSPSQGVTTISADKSI STAYLQWSSSLKASDTATYY CVRRPLYTNHLYDWGQGLTVTVSSGGSGGGSGGGGSAIQMTQSPSLSASVGRVTITCRASQGISNYLAWFQKPGKAPKAPKLLIYAAS LOSQVPSKYSGSGTDFTLTISSLOPEDFATYYCOOYKSYPLTFTGGGTKEIK (SEQ ID NO: 43)
AP3-3	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVKSCASGYTFTSYFMHWVRQAPGQGLEWMGWINPTGGSTTAYAQSFQGRVTMTDTSTSI VYMELSLRSEDNAVYY CTRVGYYGMDVWGQGLTVTVSSGGSGGGSGGGSDIVMTQSPSTLASVGRVTITCRASQSTSRFLNWWYQKPGKAPKLLIYAASLSHGV PSRFSGSGTDFTLTISSLOPEDFATYYCOOTSYPFTFTGGGTKEIK (SEQ ID NO: 44)
AP3-5	QVQLVQSGGVVQVGRSLRLSCAASGFTFTNFGMHWVRQAPGKLEWVALISSDGRVQAYADSVKGRFTISGDNKNTVYLQMNLSLTSEDNAVYY CAIIPVLRIPDWEFDYWGQGLTVTVSSGGSGGGSGGGSETTLTQSPGTLSPGERATLSGRASQSVSPYLAWYQKPGQAPRLLIYGA SNRATGIPDRFSGSGTDFTLTISSLOAEADAVYYCOOYNTPTFTGGGTKEIK (SEQ ID NO: 45)
AP3-6	QVQLQQWAGLLKPSSETLSLTCAVYSGSFTRDYWGWI RQPPGKLEWIGETINHSSTNPNPSLKSRTVTSVDKSKNQFSLKLTSTVTAADTAVYY ARRRLSSDLFMRGVGMDVWGQGLTVTVSSGGSGGGSGGGSDIVMTQTPGTLSSSPGERATLSGRASQSVSNLAWYQKPGQAPRLLIYD ASNRATGIPDRFSGSGTDFTLTIISLPEDEFAVYYCHQYSGSSPYTFGGTKVEIK (SEQ ID NO: 46)
AP3-8	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVKSCASGYTFTSYGISWVRQASQGLEWMGWI SAYNGNTNVAQKLGQGRVTMTTDTSTSTAYMELSLRSDDTAVYY CARVPRYFDWLLYGYDFDYWGQGLTVTVSSGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSTLSVSGRVTITCRASQGISNWLAWYQKPGKAPKLLIY AASSLOSQVPSRFSGSGTDFTLTISSLOPEDFATYYCOOANSPLTFTGGGTKEIK (SEQ ID NO: 47)
AP3-10	QVQLVQSGAEVKEPQSVKVKSCASGGTFTSSYAIYWRQAPGQGLEWMGWIPIILGIANVAQKFQGRVTITADKSTSTAYMELSLRSEDNAVYY ARAAGHSTNYYYGMVWGQGLTVTVSSGGSGGGSGGGSGQTVVTOEPLTSLGTLTTCGSSGTAVTSGHYPYWFQKPGQAPRLLIYDT SNKHSWTPARFSGSILGCKAAITLSGAOPEDEAEYCYCLSYSGTRVFGGTKLTVLG (SEQ ID NO: 48)
AP3-13	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVKSCGYTFTNTYNMHWVRQAPGQGLEWMGWINPSSGSTSYAQKFQGRVTMTDTSTVYMELSLRSEDNAVYY CARDKEYSRTYGYFDYWGQGLTVTVSSGGSGGGSGGGSSYELMQPSSVSPQATARITCSGDVLAKKARWFQKPGQAPVILVIYKDSER PSGIPERFSGSGSTTFTLTISQAQVEADEADYCYSAADNVLGVFGGTKVTVLG (SEQ ID NO: 49)
AP3-20	QITLKESGPAIVKPTQTTLTLCNFGSFLSTYGGGVGLRQPPGKALEWLAVIYWSGKRYSPSVKNRLTITKDTSKNHVVLVTMTNMDPVDATY YCAHLMMDTSITTHWFDWQGLTVTVSSGGSGGGSGGGSAIRMTQSPSSLSVSGRVTITCRASQGISNYLAWYQKPGKVPKLLIYAA STLQSGVPSRFSGSGTDFTLTISSLOPEDVATYYCQKYNAPGTFGGGTKEIK (SEQ ID NO: 50)

AP4-8	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNFIHWVRQAPGQGLEWMGLNPTDSGLYAQNFGQRIWTSDTSTNTVYMELSLSDDDTAMYY CAREGGADTRVHSSFDYWGQGLTVTVSSGGGGGGGGGSGGSSQAVLTQPPSVSGSPGQSIITISCTGTSSDVEAYNVVSWYQQHPGKAPKLMY DVSNRPSGVSNRFSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSTYSRTWFGGKTVL (SEQ ID NO: 51)
AP4-14	QVQLQESGGGLVQPGRLRLSCAASGFTDDYALHWVRQAPGKLEWVSGISWNSVTVKYAVSVKGRFTISRDNKNSLFLQMNALRSEDALYYC AKARGALLLEAADTPSDDWGQGLTVTVSSGGGGGGGGGSDIVMTQSPSSLSASVGRVITICRAQSISISSYINWYQQHPGKAPKLLIYAASS LOSVPSPRFSKSGSGTFTLTISLQPEDVATYYCOKYNSAPWTFGGTKVDIK (SEQ ID NO: 52)
AP4-20	QVQLQQSGAGLLRPSETLSLTGGLYGGFSGHYNNWIRQSPKGLVWIGLTHSGTNNYNSLKSRLVTSVDTSKNQYSLKLSFVTPADTAVYYCA RGDYGYWYFDLWGRGTLTVTVSSGGGGGGGGGGGSGGQSVLTQPPSPVPAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDTNKRPSG IPDRFAGSKSGTSATLIGITGLGTGDEADYYCGTWDSSLSAGVFGGKTLTVL (SEQ ID NO: 53)

Secuencias de nucleótidos que codifican las cadenas variables pesadas y ligeras de anticuerpos scFv humanos

Anticuerpo	Cadena pesada variable	Cadena ligera variable
AP1-2	cagggtgcagctggtgcagctctggagcagaggtgaaaaagccccggga gtctctgaggatctcctgcaagggtcttgatacagctttaccagcc actggatcagctgggtgcgcagatgccgggaaaggcctggagtgg atgggaggattgacctagtgactcttatagcaactacagccctc cttccaaggccacgtcatctcagttgacaagtcctcagcactg cctacttgagtgagcagcctgaaggcctcgacacccgcatatat tactgtgcgagacagctcattgtagtagtaccagctgctccctatta ctactactactacggtatggacgtctggtggccaaaggaaacctggtca ccctctctctca (SEQ ID NO: 163)	gaaattgtgtgacgcagctctccaggcacccctgtcttctgtctccagg ggaaagagccacctctcctgcaggggccagtcagactgttaacagct acttagcctggtaccagtagaaaacctggccaggctcccaggctcctc atctatggtgcacccagcaggggccactggcatccagacaggttcag tggcagtggtgctgggacagacttccactctcaccatcagcagactgg agcctgaagattttgcagtgattactgtcagcagtatggtagctca catcctggagcgttcggccaaagggaccaaaggtggagatcaaacgtgg cctcgggggacctggtcgactacaaaagatgacgatgacaaa (SEQ ID NO: 73)
AP1-6	cagggtcagctggtgcagctctggggtgaggtgaaagaagcctgggtc ctcgggtgaaggctcctgcaaggcttctggaggcaccttcagcagct atgctatcagctgggtgcgacaggccctggacaaaggcttgagtgg atgggaggatcaccctatcttggtagacgaaactacgcacagaa gttccagggcagagtcacgattaccgcggacgaatccacgagcacag cctacatggagctgagcagcctgagatctgaggaacagggccatatat tactgtgcgagagctcttgggtccgagtcgcaagatccgtccgatat ttggagtggttattacggtatggaagtctggtggccaaaggaaacctgg tcacctctcctca (SEQ ID NO: 164)	gacatccagatgaccagctctccgtcttccgtgtctgtcatctgtagg agacagagtcaccatcacttctcgggcagtcagggtattagcagct ggttagcctggtatcagcagaaaccagggaagccctaaagctcctg atctatgctgcacccagtttgcaaaagtaggtcccatcaagggttcag cggcagtggtatctgggacagatttccactctcaccatcagcagcctgc agcctgaagattttgcaacttactattgtcaacagggttaacagtttc ccgtacacttttggccaggggaccaaagctggagatcaaacgtggcct cgggggacctggtcgactacaaaagatgacgatgacaaa (SEQ ID NO: 74)

AP1-8	caggtgcagctggtgagctctgggctgagggcgaagaagcctgggtc ctoggtgaaggtctcctgcaaggcttctggaggcaccttcagcagct atgctatcagctgggtgcgacagggccctggacaaggcttgagtgg atggagggtatccctatcttcttggtacagcaaaactacgcacagaa gttcagggcagagtcacgattaccgcggaagaaatccacgagcacag cctacatggagctgagcagcctgagatctgaggacacggccgtgtat tactgtgcgagagccggtataactggaactacggctccccagacta ctggggccagggcacctggtcaccgtctcctca (SEQ ID NO: 165)	gtcatctggatgacccagctctccatcctcctgtctgtgcattctgtagg agacagagtcaccatcacttgccgggcaagtcagagcattagcagct atttaaatggtatcagcggaaaccagggaagccctaaagctcctg atctatgctgcacccagtttgcaagtggtgcacatcaaggttcag tggcagtggtctgggacagatttcaactctcaccatcagcagctctgc aacctgaagattttgcaacttactactgtcaacagagttacagtacc cctccgagcttcggccaagggaaccaagctggagatcaaa (SEQ ID NO: 75)
AP1-11	caggtgcagctggtgcagtcoggtatctgagttaaagaagcctggggc ctcagtgaaagcttctcctgcagggtctctggatacacattcactagtt attccatggtttgggtgcgacagggccctggagaagggttgagtgg atggagggtatcaacacaaactgggaacccacgtatgccaggg cttcacagaacggtttgtctctccttcgacagctctgtcagcacgg catactgcaaatcagcagcctaaaggctgaggacactgcogtgtat tactgtgcgagagattggcgctatagcggcagctggcccttaggcca gaaccttctgaccactggggccagggcacctggtcaccgtctcct ca (SEQ ID NO: 166)	gaaatagtgatgacgcagtcctccagccacctgtctgtgtctccagg ggaaagagccacctctcctgcaggggccagtcagagtggttagccgca acttagcctggtaccagcagaaacctggccaggctcccaggctcctc atctatgatacatccaccaggccactggtatcccagccagggttcag tggcagtggtctgggacagagttcactctcaccatcagcagcctgc agtctgaagattctgcagtttattactgtcagcagataatctctgg cctccactcacttctcggcgagggaaccaagggtggagatcaaa (SEQ ID NO: 76)
AP1-15	caggtgcagctacagcagtggtggcgaggattgttgaagccttcgga gacctgtccctcacctgcgctgtctatggtgggtccttcagtggtt actaccggacctggatccgcagctcccgagtgaaagggttgagtgg attggggaagtcaatgatcgtggaagcccccaactacaacccgtcctt caagagtcgactcaccatataatcgacacgtcccaagaactagttat ccctgaagttgagatttatgaccgcccggacacggctgtatatctg tgtcgagaattaggcctaggtacggtatggaactcgtggggccaggg gacaatggtcaccgtctcctcagggcgggcggtct (SEQ ID NO: 167)	Gatattgtgatgacccagactccactctcctcactgtcaccctgtcacccttgg acagccggcctccatctcctgcaggtctagtcaaaagcctcgtacaca gtgatgaaacacactacttgacttggtttccaccagagggccagccag cctccaaagagtcctcattcataaagggtttctaaacctgttctctgggt ccagacagattcagtggtggcagtggtggcagggacagatttcacactga aaatcagcaggggtggaagctgaggatgtcgggttttattactgcatg caagctacacaattgtacacttttgccagggtggaccaagggtggaaat caaa (SEQ ID NO: 77)
AP1-16	gaggtccagctggtacagctctggggtgaggtgaagaagcctggggc ctcagtgaaaggtctcctgcaaggtttccggatacacccctcactgaat tatccatgcactgggtgcgacaggtcctcctggaaaagggttgagtgg atggagggttttgatcctgaagatggtgaaacaatctccgcgcagaa gttcagggcagagtcaccatgaccgaggacacatctacagacacag cctacatggatctgagcagcctgagatctgaggacacggccgtttat tactgtgcaacgcagcgcttgtagtggtggtcgtcgtactctcca ctttgactactggggccagggcaccacgggtcaccgtctcctca (SEQ ID NO: 168)	gaaacgacactcacgcagctctccagcaaatcatgtctgcattctccagg ggagagggtcaccatgacctgcagtcagtcgagctcaagtatacgttaca tataatggtaccacaagaagcctggatcctccccagactcctgatt tatgacacatccaacgtggctcctggagtccttcttcgcttcagtg cagtggtctgggacctcttattctctcacaaatcaaccggaatggagg ctgaggtgctgccacttattactgccaggagtgagtggttatccg tacacgttcggaggggggaaccaagggtggagatcaaa (SEQ ID NO: 78)

AP1-19	cagatgcagctggtgcagtctgtgggctgaggtgaagaagcctgggtc ctcgggtgaaggctctcctgcaaggcttctgaggcaccttcaaacct atgttatcagttgggtgcagagccctggacaaaggcttgagtgg atgggatggatcagcgttacaaatggtaacacaaactatgcacagaa gctccagggcagagtcaccatgaccacagacacatccacgagcacag cctacatggagctgaggagcctgagatctgacgacacggcctgtat tactgtgcgagagtttggagtcctccttgactactggtggccaggac cctggtcacccctctctca (SEQ ID NO: 169)	gacatcgtgatgacccagctctccagactccctggctgtgtctctggg cgagaggccaccatcaactgcaagtcaccagccagagtggtttataca gctccaaatatgaactacttagcttggtaccagcagaaccaggga cagcctcctaagctgctcattacttggtgcatctaccgggaatccgg ggtccctgaccgattcagtgccagcgggtctgggacagatttcactc tcaccatcagcagcctgcaggctgaagatgcggcagtttattactgt cagcagattattagtagtctcctccgacgttcggccaaggaccgaagct ggaqatcaaa (SEQ ID NO: 79)
AP3-1	caggtgcagctggtgcaatctgtgggctgaggtgaagaagcctggggc ctcagtgaaaggctcctgcaagggttctggatacaccttaccggct actatatgcactgggtgccacagccctggacaaaggcttgagtgg atgggatggatcaaccctaaacaaatgggtggcacaaactatgaccagaa gtttcagggcagggctgccatgaccaggggacacgtccatctccacag cctacatggagctgagcaggtgagatctgacgacacactgcccgtgat tactgtgcgagagataatgggaggtgaccacaggggctactgggg ccagacacccctatcaccctctctca (SEQ ID NO: 170)	cagtcgtgtgacgcagcctcctcattgtctgtgggccccgggaca gagtgccaccatctcctgcgtgggaccagttccagcatcggggcag gttacgatgtacagtggtaccagcaacttccaggaaaaaaccccaaa ctcctcatctacgggaatgataatggccctcaggggtccctgaccg attctctggatccaggtcttacacctcagcctccctggtcatcacta gagtcagattgaggatgaggctgattattactgccagtcgtatgac agcagtcctcattggtcctcaattcggcggg (SEQ ID NO: 80)
AP3-2	caggtgcagctggtgcaatctgtgggctgaggtgaagaagcctgggga gtctctgaagatctcctgtacggcctccggatacaaaacttggcagct actggatcggctgggtgcgccagatgcccgggcaaggcctggagtgg atggggatcatctatcctggtgactctgtatgataccagatacagtcctc cttccaaaggccaggtcaccatctcagccgacaaagtccatcagcacccg cctacctgcagtgagcagcctgaaggcctcgacacccgcccagctat tactgtgtgagacgggtccccctctacactaaacacactaccttga ctattggggccaggccacctggtcaccgtctctctca (SEQ ID NO: 171)	gccatccagatgacccagctctccatctcactgtctgtcatctgttagg agacagagtcaccatcacttctgggctgagtcagggtcattagcaatt atttagcctggttcagcagaaaccagggaaagccctaaagtccctg atctatgctgcacccagtttgcaagtggtgggtcccatcaaaagtacag cggcagtggtatctgggacagatttctcctcaccatcagcagcctgc agcctgaagattttgcaacttattactgccaacagtataagagttac ccccctcactttcggcggagggaaccaaggtggagatcaaa (SEQ ID NO: 81)
AP3-3	gaggtgcagctggtgcagtctgtgggctgaagtgaagaagcctggggc ctcagtgaaaggcttctcctgtaaggcatctggatacaaccttcagcgact actttatgcactgggtgcgacagccctggacaaaggcttgagtgg atgggagtaataacccaaactgggttccacaaactacgcacagag cttccagggcagagtcaccatgaccagagacacgtccacgagcatag tctacatggagctgagcagcctgagatctgaagacacggcctgtgtac tactgtacgcgagtggtcctactacgggtatggacgtctggtggggccaaagg caccctggtcaccctctctctca (SEQ ID NO: 172)	gacatcgtgatgacccagctctccatccacctgtctgtcatctgttagg agacagagtcaccatcacttgcggggcaagtcagagcactagcaggt ttttaaatgggtatcagcagaaacctgggaaagccctaaactcctg atctatgctgcacccagtttgcatagtgggtcccatcaagggttcag tggcagtggtatctgggacagatttctcctcaccatcagcagctctgc aacctgaagattttgcaacttactactgtcaacagacttccagttac cctctcactttcggcggagggaaccaaggtggaaatcaaa (SEQ ID NO: 82)

AP3-5	caggctccagctggtacagctctggtgggagggcggtggtccaggttgaggag gtccctgagactttcctgtgcgccctctggtattcaccttcacaaact ttggcatgcactgggtccgccaaggtccaggcaagggtgagtggtg gtggcactcatctcatctgatggatatagacaggcctatgcagactc cgtgaaggcccggttcaccatctccggagacaaactccaagaacacag tgtatctgcaaatgaacagcctgacaaagtgaggacacggctgtttat tactgtgccatcataccctctgtattacggatttttgattgggaatt tgactactggggccagggaaccctggtcacctctcctca (SEQ ID NO: 173)	gaaacgacactcacgcagctctccaggcacccctgtctttgtctccagg gaaaagagccaccctctcctgcaggggccagtcagagtgtttccagcc cctactagcctggtagcagcagaaacctggccaggctcccaggctc ctcatttatggtgcatctaacaggggccactggcatccagacaggtt cagtggcagtggtctgggacagacttactctcaccatcagcagcc tgaggctgaagatgaggcaggtttattactgtcagcaataactacaat actccgctcactttcgcgaggaggaccaaaggtggaaatcaaa (SEQ ID NO: 83)
AP3-6	cagggtcagctacagcagtggtgggagggcctgttgaaagccttcgga gacctgtccctcacctgcgtgtctatagtggtcttttactcgtg actactggggtggtggtccgagcccccgggaagggtgagtggtg attggggaatcaatcatatagtggaagcaccacaaactacaaccgtccct caagagtcgagtcaccacgtcgttagacaagtccaagaatcagttct ccctgaagttgacctctgtgaccgcccggacacggctgtctattac tgtgcgagacgcccgtttctagcaccctcttcacgtcgggggttg cggtatggacgtctggggccaaaggcacccctggtcacccgtctcctca (SEQ ID NO: 174)	gatatgtgatgacccagactccaggcacccctgtcttctgtctccagg ggaaagagccaccctctcctgcaggggccagtcaggtgttagcagca acttagcctggtagcagcagaaacctggccaggctcccaggctcctc atctatgatgcataccaacaggggccactggcatccactcaggttcag tggcagtggtctgggacagacttactctcaccatcagcagactgg aacctgaagattttgcagtgattactgtcaccagtatggtagctca ccgtacacctttggccaggggaccaaaggtggaaatcaaa (SEQ ID NO: 84)
AP3-8	gaggtgcagctggtgcagctctgagctgaggtgaagaagccttggggc ctcagtgaaaggtctcctgcaaggcttctggttacacctttaccagct atggtatcagctgggtgcagagccctctggacaagggttgagtggtg atgggatggatcagcgttacaattggttaacacaaactatgcacagaa gtccagggcagagtcaccatgaccacagacacatccacgagcacag cctacatggagctgaggagcctgagatctgacgacacggccgtgtat tactgtgcgagagtagcccgatattttgactggttattatacgggag cgactactttgactactggtggccagggaaccctggtcacccgtctcct ca (SEQ ID NO: 175)	gacatccagatgacccagctctcctccacccctgtctgtatctgtagg agacagagtcaccatcacctgtcggcgagtcaggtatttagcagct ggttagcctggtatcagcagaaaccagggaagccccctaaagctcctg atctatgctgcataccagtttgcaaaagtgggtcccatcaaggttcag cggcagtggtctgggacagatttctactctcactatcagcagcctgc agcctgaagattttgcaacttactattgtcaacaggctaacagtttc ccgctcactttcgcgaggaggaccaaagctggagatcaaa (SEQ ID NO: 85)
AP3-10	cagggtcagctggtgcaatctgagctgaggtgaaggagccttggttc ctcgtgaaaggtctcctgcaaggcttctggaggcaccttcagcagct atgctatctactgggtgcagagcccttgacaagggttgagtggtg atgggatggatcatccctatccttggtatagcaaaactacgacacagaa gtbccagggcagagtcacgattaccgcggaacaaatccacgagcacag cctacatggagctgagcagcctgagatctgaggacacggccgtgtat tactgtgcgagagctgccggtcatagtaactaactactactacgg tatggacgtctggtggccaaaggcacccctggtcacccgtctcctca (SEQ ID NO: 176)	cagactgtggtgacccaggagccctcactgactgtgtccctaggagg gacagtcactctcacctgtggtctccagcactggagctgtcaccagtg gtcattatccctactggttccagcagaagcctggccaaagccccagg acactgattatgatacaagcaacaaactcctggacccctgccc gttctcaggctccctccttggtgggcaagctgccctgacctttcgg gtgcgagcctgaggatgaggtgagttactgtgtgtctcctat agtggtactcgggtgttcggcgaggaggaccaaagctgaccgtccta (SEQ ID NO: 86)

AP3-13	gaggtgcagctggtgcagctctggtggtggtgaggtgaagaagcctggggc ctcagtgaaaggttctctgcaaggcatctggtatcacaccttcaccaact actatatgcactgggtgcagacagggccctggacaagggttgagtggtg atgggaataataaaccttagtggtgtagcacaagctacgcacagaa gttcaggggcagagtcaccatgactagggacacgtccacgagcacag ttacatggagctgagcagcctgagatctgaggacagggcgtgtat tactgtgcagagatttcaaaagatagccgtacgggtactttga ctactggggccaggcacctggtcacccgtctctca (SEQ ID NO: 177)	tcctatgagctgatgcagccatcctcagtgctcagtgctcagtgctcctgggaca gacagccaggtacacctgctcagagatgtactggcaaaaaaatgtg ctcgggtgtccagcagaagccaggccagccctgtgctggtgatt tataaagacagtgagcggccctcaggatccctgagcgattctccgg ctccagctcaggaccacagtcacctgacctcagcggggccacag ttgaggtgaggtgactattactgttactctcgggtgacaacaac ctgggggtgttcggcgagggaaccaaggtcacccgtccta (SEQ ID NO: 87)
AP3-20	cagatcaccttgaaggagctggtctcctgcgtggtgaaacccacaca gacctcacgctgacctgcaacttctctggttctcctcagcactt atggagggtgtggtggtcctcgtcagccccaggaaaggccctg gagtggttgcgtcatttattggagtgatggtaaacgtacagccc ctctgtaaaagaaacgggtcacccatcaccaaggacacctccaaaaacc acgtggtcctgacaaatgaccaacatggaccctgtggacacagccacc tattattgtgcacaccttatgatggatacatctattactacccactg gttcgacccctggggccagggaacccctggtcacccgtctctca (SEQ ID NO: 178)	gccatccggatgacccagtcctccatcctcctgtctgcatctgtagg agacagagtcaccatcacttgcgggagtcagggcattagcaatt attagcctggtatcagcagaacccaggaaagtctcctaagctcctg atctatgctgcattccactttgcaatcaggggtcccatctcgggttcag cggcagtggtctgggacagatttccactcaccatcagcagcctgc agcctgaagatgttgcaacttattactgtcaaaagtataaacagtgc cctgggacgttcggccaagggaaccaaggtggagatcaaa (SEQ ID NO: 88)
AP4-8	caggtgcagctggtgcaatctggggctgaggtgaagaagcctgggtc ctcgggtgaaggttctcctgcaaggcatctgggtatcaccttcaccaact actttatacactgggtgcagagggccctggacaagggttgagtggtg atgggactactcaaccctactgatagtggcacactctacgcacagaa cttcaggggcagaatcacccatgaccagtgcacgtccacaaacacag tctacatggagctgagcagcctgagatctgacgacacggccatgtat tactgtgcaagagagggggggccgacactacccgggtccactcttc gtttgactactggggccagggaacccctggtcacccgtctctca (SEQ ID NO: 179)	cagggtgtgctgactcagccgccttccgtgtcgggggtctcctggaca gtcgatcaccatctcctgcactggaaccagcagtgacgttgaagctt acaactatgtctcctggtatcaacaacacccaggcaagcccccaaa ctcatgatttatgatgtcagtaatcgccctcaggggtttctaatcg cttctctggctccaagtctggcaacacggcctccctgacctctctg ggctccaggctgagcagaggtgatttactgcagctcatataca agcagcagcacttgggtgttcggcgagggaaccaaggtcatcgtcct a (SEQ ID NO: 89)
AP4-14	caggtgcagctgcaggagtcggggggaggttggtacagcctggcag gtccctgagactctcctgtgcagcctctgggttccaccttgatgatt atgcccctccactgggtccggaagctccagggaaaggccctggagtggtg gtctcaggtattagttggaatagtttaccgtaaagtatcggtctc tgtgaagggtccgttccacatctccagagacaacgccaaagactccc tgtttctgcaaatgaacgctctgagatctgaggacacggccttatat tactgtgcaaaagccagagggccctcttagaagcagctgacacacc atctgacgactggggccagggcacccctggtcacccgtctctca (SEQ ID NO: 180)	gacatcgtgatgacccagtcctcgtcctcctcctgtctgcatctgtagg agacagagtcaccatcacttgcggggcaagtcagagcattagcagct atttaaatgtgtatcagcagaacccagggaagccccctaagctcctg atctatgctgcattccagtttgcgaagtgggtcccatcaaggttcag tggcagtggtctgggacagatttccactctcaccatcagcagcctgc agcctgaagatgttgcaacttattactgtcaaaagtataaacagtgc ccgtggacgttcggccaagggaaccaaggtggatatcaaa (SEQ ID NO: 90)

Ácidos nucleicos que codifican las scFvs humanas

Anticuerpo	Cadena variable pesada
AP1-2	cagggtgcagctggtgcagctctggagcagaggtgaaaaagcccgggaggtctctgagatctctctgcgaaggttctggtatcacagctttaccagcc actggatcagctgggtgcgcagatgccgggaaagccctggagtggatggggaggattgatcctagtgactcttatagcaactacagccctc cttccagggccagctcatctcagttgacaggtccatcagcactgcctacttgcagctggagcctcctggaagcctcggacacggcatatat tactgtgcgagacagctcattgtagtaccagctgtccctattactactactacagttatggagctctggggcccaagaaacctgggtca cgctctcctcagcgcggtctggcgaggtggcagcagcgtggcgatccgaaattgtgtgacgcagttcctcaggcacccctgtcttt gctccaggggaagagacccctctctgcagggccagctcagactgttaacagcttacttagcttggtccagctgagaacctggccaggtccc aggctctcactctatggtgcactcagcagggccactggcatcccgacaggttcagtggcagtggtctgggacagacttcactctccactca ggagactggagctgaagatttgcagtgattactgtcagcagttatgtagtcacatccgtggacgttgcggcaaggtgcgcaaggtggagat caaacatccctcccccctccctccactacaaaatatcaaatgacaaa (SEQ ID NO: 54) cagggttcagctggtgcagctctggggctgaggtgaagaagcctgggtcctcgtggaagttcctctgcgaagcttctgaggagcccttcagcagct atgctatcagctgggtgcacagggcctggacaagggcttgagtggatgggagggtatccctatcttggtagcagcaaacacgcacagaa gttccagggcagagtcacgattaccggcgagcaatccacggacagcctacatggagctgagcagccttgagatctgaggaacggccatatat tactgtgcgagagttcttggttcgagtcgcaagatccgtccgatatctggagtggattacaggtatggaagctggggccaaagacctgg tcacgtctcctcagcggtggcggtctggcgaggtggcagcgcggtggcggtacggacatccagatgacccagctcctcgtcttcogtgc tgcatctgtaggagacagagtcacatcactctgtcggcgagtcaggggtatagcagctgggttagcctggatcagcagaaccagggaaagcc cctaagctcctgatctatctgcatccagtttgcaagtagggtcccatcaaggttcagcgcgagtggtatctgggacagatttcactctcacca tcagcagcctgcagctgaagatttgcaacttactattgtcaacagggtacaggttcccgctacactttggccagggggacaaagctggagat caaacctaaccttcaggggttccttcactacaaaatacaaatgacaaa (SEQ ID NO: 55) cagggtgcagctggtggagctgagcggaagcctgggtcctcgtggaagttcctgcgaagcttctgaggagcccttcagcagct atgctatcagctgggtgcacagggcctggacaagggcttgagtggatgggagggtatccctatcttggtagcagcaaacacgcacagaa gttccagggcagagtcacgattaccggcgagcaatccacggacagcctacatggagctgagcagccttgagatctgaggaacggcogtggat tactgtgcgagagccggtataacttgaaactacgggtccccacactactggggccagggacacctggtcacctctcctcagggcggcggtct ccggcgaggtggcagcgcggtggcggtacogtcatctggtgacccagctccactcctcctgtctgtctgtagagacagagtcacat cacttgccgggcaagtcagagcatagcagatttaaattggtatcagcggaacacagggaagccctaaagcttaagctatctgtctgcaccc agtttgcaaaagtggggtcacatcaaggttcagttggcagtggtatgggacagatttcactaccatcagcagctgtgcaactggaagatttg caacttactactcaacagagttacagtaacctccagcttcggcgcaagggacaaagctcagatcaaa (SEQ ID NO: 56)
AP1-6	
AP1-8	

[illegible]

33

[illegible]

AP4-20	caggtacagctgcagcagtcaggcgcaggtctctattgaggcccttcggagaccctgtccctcacctgcggtctctctatggtgggtccttcagtggtc actattggaaactggatccgccagtcctccagaaaagggtggtggtgattgggaaatcactcatagtggaaccaccaattacaacccgtccct caagatcagtcagtcacatcagtagacacgtccaagaatcagtaactccctgaagctgagcttctgtgacccctgcggacacggccgtgtattac tgtccgagagtgattactatgggtactgggtactctctgggcccgtggcaccctggtcacctgtctcctcagcggcggtctctggcg gaggtggcagcggcggtggcggtatcccagttctgttgacgcagcggccctcagttcctgtggccccagacagaggtcaccatctcctgctc tggaagcagctccaacatgggaataattatgtatcctgtgtacacagcagctcccaggaacagccccaaactcctcatttatgacactaataag cgacctcagggattcctgaccgattcgtgggtccaagtctggcacgtgcagccacctgggcatcacccgactccagactgggggacgagggcg attattactgcggaacatggaataacacagcctgaatgctgctggttccgcccaggaccacagctgacctcta (SEQ ID NO: 72)
--------	--

Un anticuerpo de la descripción puede usarse para detectar la presencia, o para determinar la cantidad, de un péptido de señalización cíclico en una muestra biológica. Un anticuerpo de la descripción también puede usarse con fines profilácticos para evitar que un mamífero se infecte con una bacteria Gram positiva o que desarrolle una enfermedad o afección producida por una bacteria Gram positiva.

5 Composiciones farmacéuticas

La entidad molecular inmunogénica, la estructura supramolecular que incluye la entidad molecular inmunogénica o el anticuerpo de la descripción, en la presente memoria “agentes activos” de la descripción, pueden incorporarse a una composición farmacéutica para la administración a un mamífero. Una composición farmacéutica de la descripción puede incluir uno o más agentes activos de la descripción (p.ej. uno o más anticuerpos, entidades moleculares inmunogénicas, estructuras supramoleculares o combinaciones de los mismos). Una composición farmacéutica de la descripción también puede incluir uno o más agentes activos de la descripción en combinación con otro polipéptido o vacuna de anticuerpos.

Por ejemplo, una composición farmacéutica de la descripción puede incluir una o más entidades moleculares inmunogénicas, cuyos haptenos incluyen los análogos de lactona, lactama, carbamida o semicarbazida de un AIP-I, AIP-II, AIP-III de *S. aureus*, o cualquier combinación de los mismos. Por tanto, una composición farmacéutica de la descripción puede incluir una combinación de dos o más entidades moleculares inmunogénicas de la descripción, cada una de las cuales tiene un hapteno que incluye el análogo de lactona, lactama, carbamida o semicarbazida de una molécula de señalización de péptido cíclico AIP de *S. aureus*.

Una composición farmacéutica de la descripción puede incluir dos entidades moleculares inmunogénicas diferentes de la descripción: (1) la primera que tiene un hapteno que corresponde al análogo de lactona, lactama, carbamida o semicarbazida de un péptido de señalización cíclico AIP-I de *S. aureus*, y una segunda que tiene un hapteno que corresponde al análogo de lactona, lactama, carbamida o semicarbazida de un AIP-II, III ó IV de *S. aureus*; (2) la primera que tiene un hapteno que corresponde al análogo de lactona, lactama, carbamida o semicarbazida de un péptido de señalización cíclico AIP-II de *S. aureus*, y una segunda que tiene un hapteno que corresponde al análogo de lactona, lactama, carbamida o semicarbazida de un API-III ó IV de *S. aureus*; o (3) la primera que tiene un hapteno que corresponde al análogo de lactona, lactama, carbamida o semicarbazida de un péptido de señalización cíclico AIP-III de *S. aureus*, y una segunda que tiene un hapteno que corresponde al análogo de lactona, lactama, carbamida o semicarbazida de un AIP-IV de *S. aureus*.

Una composición farmacéutica de la descripción también puede incluir tres entidades moleculares inmunogénicas diferentes de la descripción, por ejemplo: (1) una primera que tiene un hapteno que corresponde al análogo de lactona, lactama, carbamida o semicarbazida de un péptido de señalización cíclico AIP-I de *S. aureus*, una segunda que tiene un hapteno que corresponde al análogo de lactona, lactama, carbamida o semicarbazida de un AIP-II de *S. aureus*, y una tercera entidad molecular inmunogénica que tiene un hapteno que corresponde al análogo de lactona, lactama, carbamida o semicarbazida de un AIP-III de *S. aureus*; (2) una primera entidad molecular inmunogénica que tiene un hapteno que corresponde al análogo de lactona, lactama, carbamida o semicarbazida de un péptido de señalización cíclico AIP-I de *S. aureus*, una segunda entidad molecular inmunogénica que tiene un hapteno que corresponde al análogo de lactona, lactama, carbamida o semicarbazida de un AIP-II de *S. aureus*, y una tercera entidad molecular inmunogénica que tiene un hapteno que corresponde al análogo de lactona, lactama, carbamida o semicarbazida de un AIP-IV de *S. aureus*; (3) una primera entidad molecular inmunogénica que tiene un hapteno que corresponde al análogo de lactona, lactama, carbamida o semicarbazida de un péptido de señalización cíclico AIP-I de *S. aureus*, una segunda entidad molecular inmunogénica que tiene un hapteno que corresponde al análogo de lactona, lactama, carbamida o semicarbazida de un AIP-III de *S. aureus*, y una tercera entidad molecular inmunogénica que tiene un hapteno que corresponde al análogo de lactona, lactama, carbamida o semicarbazida de un AIP-IV de *S. aureus*; (4) una primera entidad molecular inmunogénica que tiene un hapteno que corresponde al análogo de lactona, lactama, carbamida o semicarbazida de un péptido de señalización cíclico AIP-II de *S. aureus*, una segunda entidad molecular inmunogénica que tiene un hapteno que corresponde al análogo de lactona, lactama, carbamida o semicarbazida de un AIP-III de *S. aureus*, y una tercera entidad molecular inmunogénica que tiene un hapteno que corresponde al análogo de lactona, lactama, carbamida o semicarbazida de un AIP-IV de *S. aureus*.

Una composición farmacéutica de la descripción también puede incluir cuatro entidades moleculares inmunogénicas diferentes de la descripción, por ejemplo, una primera entidad molecular inmunogénica que tiene un hapteno que corresponde al análogo de lactona, lactama, carbamida o semicarbazida de un péptido de señalización cíclico AIP-I de *S. aureus*, una segunda entidad molecular inmunogénica que tiene un hapteno que corresponde al análogo de lactona, lactama, carbamida o semicarbazida de un AIP-II de *S. aureus*, una tercera entidad molecular inmunogénica que tiene un hapteno que corresponde al análogo de lactona, lactama, carbamida o semicarbazida de un AIP-III de *S. aureus*; y una cuarta entidad molecular inmunogénica que tiene un hapteno que corresponde al análogo de lactona, lactama, carbamida o semicarbazida de un AIP-IV de *S. aureus*.

De forma similar, una composición farmacéutica de la descripción también puede incluir uno o más anticuerpos que se unan específicamente a una o más moléculas de señalización de péptido cíclico. Por ejemplo, una composición farmacéutica de la descripción puede incluir un anticuerpo que se una específicamente a uno cualquiera de los

péptidos de señalización cíclicos AIP-1, AIP-2, AIP-3 ó AIP-IV de *S. aureus*. Una composición farmacéutica de la descripción puede incluir dos o más anticuerpos que se unan específicamente a dos o más péptidos de señalización cíclicos, por ejemplo, cualesquier dos, tres o los cuatro péptidos de señalización cíclicos de los péptidos de señalización cíclicos AIP-1, AIP-2, AIP-3 ó AIP-IV de *S. aureus*.

- 5 Una composición farmacéutica de la descripción también puede incluir una o más entidades moleculares inmunogénicas que tengan haptenos que correspondan a péptidos de señalización cíclicos de una o más bacterias Gram positivas, así como uno o más anticuerpos que se unan específicamente a uno o más péptidos de señalización cíclicos de una o más bacterias Gram positivas que usen la percepción de quórum.

- 10 Una composición farmacéutica de la descripción también incluir el agente activo de la descripción en combinación con una o más vacunas dirigidas contra diferentes agentes infecciosos que incluyen, aunque sin limitación, hepatitis B, bacteria de *Haemophilus influenzae* tipo b, difteria, sarampión, paperas, tosferina, polio, rubeola, tétanos, tuberculosis y varicela.

- 15 Además de lo anterior, una composición farmacéutica de la descripción incluye un vehículo farmacéuticamente aceptable. Tal como se usa en la presente memoria, el término "vehículo farmacéuticamente aceptable" incluye, sin limitación, un disolvente cualquiera o más de uno, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos o antifúngicos, antioxidantes, estabilizantes, agentes isotónicos, adyuvantes y similares, que sean adecuados para administración a un mamífero. Los vehículos farmacéuticamente aceptables son bien conocidos en la técnica, y a menos que un vehículo convencional sea incompatible con la entidad molecular inmunogénica o anticuerpo de la descripción, o incompatible con la ruta de administración, se contempla su uso en una composición de la descripción.

Una composición farmacéutica de la descripción está formulada para ser compatible con una ruta de administración seleccionada. Los ejemplos de ruta de administración incluyen cualquier ruta de administración parenteral que incluye la administración intravenosa, intradérmica, subcutánea, por inhalación, transdérmica, transmucosal y rectal.

- 25 Las disoluciones o suspensiones usadas para aplicación parenteral, intradérmica o subcutánea pueden incluir (1) un diluyente estéril tal como agua para inyección, disolución salina, aceites fijos, polietilén glicoles, glicerina, propilén glicol u otros disolventes sintéticos; (2) agentes antibacterianos tales como alcohol bencílico o parabenos de metilo; (3) antioxidantes tales como ácido ascórbico o bisulfito sódico; (4) agentes quelantes tales como ácido etilendiamintetraacético; (5) tampones tales como acetatos, citratos o fosfatos y agentes para el ajuste de la tonicidad, tal como cloruro sódico o dextrosa. El pH puede ajustarse con ácidos o bases, tal como ácido clorhídrico o hidróxido sódico. La preparación parenteral puede incluirse en ampollas, jeringas desechables o viales de dosis múltiples.

- 35 Las composiciones farmacéuticas adecuadas para inyección incluyen disoluciones o dispersiones acuosas estériles y polvos estériles para la preparación extemporánea de disoluciones o dispersiones inyectables estériles. Para la administración intravenosa, los vehículos adecuados incluyen suero fisiológico, agua bacteriostática, o salino tamponado con fosfato. Las composiciones deben ser estériles y estables en las condiciones de fabricación y almacenamiento, y deben ser preservadas frente a contaminación por microorganismos tales como bacterias y hongos. El vehículo puede ser un disolvente o un medio de dispersión que contenga, por ejemplo, agua, etanol, poliol (p.ej., glicerol, propilén glicol y polietilén glicol líquido), y mezclas adecuadas de los mismos. La fluidez apropiada se puede alcanzar, por ejemplo, usando un recubrimiento tal como lecitina, manteniendo el tamaño de partícula requerido en el caso de dispersión y usando tensioactivos. La prevención de la acción de los microorganismos puede lograrse usando diversos agentes antibacterianos y antifúngicos tales como, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido ascórbico, y timerosal. Se pueden incluir otros ingredientes tales como un agente isotónico o un agente que retrase la absorción (p.ej., monoestearato de aluminio y gelatina).

- 45 Las disoluciones inyectables estériles pueden prepararse incorporando el agente activo en la cantidad requerida en un disolvente apropiado con uno o una combinación de los ingredientes discutidos anteriormente, según se requiera, seguido de una esterilización por filtración. Las dispersiones pueden prepararse incorporando el compuesto activo en un vehículo estéril que contenga un medio de dispersión básico y otros ingredientes requeridos discutidos anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de disoluciones inyectables, los métodos preferidos de preparación incluyen secado a vacío y secado por congelación, que producen un polvo del ingrediente activo y cualquier ingrediente adicional deseado a partir de una disolución previamente esterilizada por filtración.

- 50 Las composiciones orales pueden incluir un diluyente inerte o un vehículo comestible. Pueden incorporarse a cápsulas de gelatina o pueden comprimirse en comprimidos. Para el propósito de la administración terapéutica oral, el compuesto activo puede incorporarse con excipientes y usarse en la forma de comprimidos, pastillas o cápsulas. Las composiciones orales también pueden prepararse usando un vehículo fluido. Se pueden incluir agentes aglomerantes y/o materiales adyuvantes farmacéuticamente compatibles como parte de la composición. Los comprimidos, píldoras, cápsulas, pastillas y similares pueden contener cualquiera de los siguientes ingredientes o compuestos de naturaleza similar: un aglomerante tal como celulosa microcristalina, goma tragacanto o gelatina; un excipiente tal como almidón o lactosa; un agente desintegrante tal como ácido algínico o almidón de maíz; un

lubricante tal como estearato de magnesio; un fluidificante tal como dióxido de silicio coloidal; un agente edulcorante tal como sacarosa o sacarina; o un agente aromatizante tal como menta, salicilato de metilo o aroma de naranja.

Para la administración por inhalación, la composición puede administrarse en la forma de un pulverizador de aerosol desde un recipiente o dispensador presurizado que contenga un propelente adecuado, por ejemplo, un gas tal como dióxido de carbono o un nebulizador.

Para la administración transmucosal o transdérmica, se pueden usar penetrantes conocidos en la técnica por ser apropiados para que la barrera sea permeada. Éstos incluyen detergentes, sales biliares y derivados de ácido fusídico para la administración transmucosal, que puede realizarse usando pulverizadores nasales, por ejemplo. Para la administración transdérmica, los agentes activos de la descripción se formulan en ungüentos, pomadas, geles o cremas, tal como es conocido de forma general en la técnica.

Las composiciones de la descripción pueden prepararse con vehículos que protegerán contra una eliminación rápida del organismo. Las formulaciones de liberación controlada, tales como implantes y sistemas de administración microencapsulados, por ejemplo, permiten una liberación lenta sostenida de los agentes activos de la descripción, y en algunos casos también la liberación de inmunoestimulantes. Los ejemplos de dichas formulaciones incluyen agentes activos de la descripción atrapados en liposomas, copolímero de etileno-vinil acetato (EVAc) (véase Niemi *et al.*, *Laboratory Animal Science* 35: 609-612 (1985)), y polímero degradable. Los polímeros biodegradables y biocompatibles usados para encapsulación incluyen, aunque sin limitación, poli(DL-lactide-co-glicolide) (véase Eldridge *et al.*, *Molecular Immunology* 28: 287-294 (1991)). Los ejemplos adicionales de polímeros que pueden usarse incluyen polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres y ácido poliláctico. Los métodos de preparación de dichas formulaciones serán evidentes para los especialistas en la técnica. También pueden usarse como vehículos farmacéuticamente aceptables suspensiones liposómicas, que incluyen aquellas dirigidas a células infectadas con anticuerpos monoclonales de antígenos víricos. Éstas se pueden preparar usando métodos conocidos en la técnica.

Por tanto, las composiciones formuladas para provocar una respuesta inmune pueden incluir adyuvantes, así como otros vehículos y portadores. Los ejemplos no limitantes de adyuvantes, vehículos y portadores incluyen el adyuvante incompleto de Freund; el adyuvante completo de Freund; sales de aluminio (p.ej., sulfato potásico, fosfato de aluminio, hidróxido de aluminio); lipopolisacáridos bacterianos; polinucleótidos sintéticos (poli IC/poli AU); adyuvantes de Montanide ISA (Seppic, París, Francia); adyuvantes de Ribi (Ribi ImmunoChem Research, Inc., Hamilton, MT); TiterMax de Hunter (CytRx Corp., Norcross, GA); proteína adsorbida en nitrocelulosa; adyuvante de Gerbu (Gerbu Biotechnik GmbH, Gaiberg, Alemania/C-C Biotech, Poway, CA); saponina; di- y tri-péptidos de muramilo; monofosforil lípido A; tosferina de Bordetella; citoquinas; toxoides bacterianos; ácidos grasos; vectores vivos; emulsiones de aceite mineral; emulsiones de aceite biodegradable (p.ej., las que contienen aceite de cacahuete, escualeno o escualano); tensioactivos de copolímeros en bloque no iónicos; liposomas y microesferas de polímero biodegradable. Véase, por ejemplo, Eldridge *et al.*, *Mol. Immunol.* 28: 287-94 (1991)). Ejemplos adicionales de sistemas de administración de vacunas se discuten en Felnerova *et al.*, *Current Opinion in Biotechnology* 15: 518-29 (2004); Saupe *et al.*, *Expert Opin. Drug Deliv.* 3: 345-54 (2006); Sakarellos-Daitsiotis *et al.*, *Current Topics in Medicinal Chemistry* 6: 1715-1735 (2006); Chen y Huang, *Advances in Genetics* 54: 315-37 (2005); Westerfeld y Zurbriggen, *J. Peptide Sci* 11: 707-712 (2005); Shahiwalla *et al.*, *Recent Patents on Drug Delivery & Formulation* 1: 1-9 (2007); y McDermott *et al.*, *Immunology and Cell Biology* 76: 256-62 (1998).

Las composiciones se pueden formular en formas unitarias de dosis para mayor facilidad de administración y uniformidad de dosis. La expresión "forma unitaria de dosis" se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para el sujeto en tratamiento, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de compuesto activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el vehículo farmacéutico requerido. La especificación para las formas unitarias de dosis depende de las características únicas del compuesto activo y del efecto terapéutico concreto a alcanzar.

Kits y artículos de fabricación

Los agentes activos o las composiciones farmacéuticas de la descripción pueden incluirse en un recipiente, paquete o dispensador junto con instrucciones para su uso. Dichos kits pueden incluir reactivos adicionales según sea requerido para el uso pretendido para las entidades moleculares inmunogénicas, anticuerpos o composiciones farmacéuticas. Por ejemplo, un anticuerpo de la descripción puede usarse con fines de diagnóstico, en cuyo caso, en el kit se puede incluir uno o más reactivos que permitan la detección/visualización, preferiblemente en un recipiente, paquete o contenedor separado del que incluye el anticuerpo de la descripción. El kit o artículo de fabricación puede incluir instrucciones para su uso con fines diagnósticos, profilácticos y/o terapéuticos, tal como se describe a continuación.

Métodos

La descripción proporciona un método para identificar un mamífero susceptible de presentar o que presenta una enfermedad o afección asociada a una infección de bacterias Gram positivas, así como un método para prevenir la infección por una bacteria Gram positiva o su enfermedad o afección asociada. La descripción también proporciona

un método para provocar una respuesta inmune en el mamífero y un método para prevenir la percepción de quórum en un mamífero.

En el contexto de la descripción, un mamífero es cualquier vertebrado de sangre caliente, que incluye, por ejemplo, un ratón, rata, hámster, conejo, cobaya, cerdo, vaca, caballo, oveja, mono y humano. Una bacteria Gram positiva es cualquier bacteria que utiliza péptidos cíclicos como moléculas de señalización en la percepción de quórum, y puede ser, por ejemplo, *Enterococcus faecalis* y una especie de *Staphylococcus*, incluyendo, por ejemplo, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. auricularis*, *S. capitis*, *S. caprae*, *S. carnosus*, *S. arlettae*, *S. cohnii*, *S. epidermis*, *S. intermedius*, *S. lugdunensis*, *S. simulans*, *S. gallinarum*, *S. xylosus* y *S. warneri*. La enfermedad o afección asociada a la infección por dicha bacteria incluye, por ejemplo, envenenamiento alimentario, síndrome de choque tóxico, síndrome de piel escaldada, infección de lesión quirúrgica, infección del tracto urinario, sepsis y neumonía.

Métodos diagnósticos

Un método diagnóstico de la descripción puede usarse para identificar un mamífero que necesite un tratamiento, o que pueda beneficiarse del mismo, con una entidad molecular inmunogénica o anticuerpo de la descripción. Un mamífero que necesite un tratamiento, o que pueda beneficiarse del mismo, con una entidad molecular inmunogénica o anticuerpo de la descripción es aquel que presenta una infección bacteriana Gram positiva o que es susceptible de padecer una infección o una enfermedad o afección asociada a una infección bacteriana Gram positiva. Para identificar dicho mamífero se puede obtener una muestra biológica del mamífero. La muestra biológica puede ser una muestra de tejido, una muestra celular o una muestra de un fluido biológico tal como sangre, orina o linfa. Se puede usar un anticuerpo de la descripción para determinar si una muestra biológica contiene una molécula de señalización de péptido cíclico, cuya presencia indica que el mamífero tiene una infección bacteriana Gram positiva o que es susceptible de padecer o que padece una enfermedad o afección asociada a una infección bacteriana Gram positiva. Por ejemplo, un anticuerpo de la descripción que se une específicamente al péptido de señalización AIP-IV de *S. aureus* puede usarse para detectar la presencia de AIP-IV de *S. aureus* en una muestra biológica procedente de un mamífero del que se sospecha que es susceptible de padecer o que padece una enfermedad o afección asociada a una infección de *S. aureus*. La presencia de AIP-IV de *S. aureus* en la muestra indica que el mamífero tiene una infección de *S. aureus* o que es susceptible de padecer o que padece una enfermedad o afección asociada a la infección de *S. aureus*. Por tanto, se puede usar un anticuerpo de la descripción en diagnosis para detectar la presencia y/o para determinar la cantidad de una molécula de señalización de péptido cíclico en una muestra biológica de un mamífero.

La presencia o la cantidad de la molécula de señalización de péptido cíclico en una muestra biológica procedente de un mamífero puede detectarse en un ensayo competitivo usando un anticuerpo de la descripción marcado de forma adecuada. Por ejemplo, una entidad molecular inmunogénica de la descripción, p.ej., un hapteno ligado a un vehículo macromolecular tal como un polipéptido, puede ser inmovilizado sobre una superficie. Se determina la unión de un anticuerpo marcado de forma adecuada de la descripción a la entidad molecular inmunogénica inmovilizada en presencia o en ausencia de una muestra biológica procedente del mamífero. Un descenso en la unión del anticuerpo marcado a la superficie en presencia de la muestra biológica indica la presencia de una molécula de señalización de péptido cíclico. La muestra biológica puede ser una muestra purificada parcialmente o procesada en la que se han eliminado las células de mamífero no relacionadas. El anticuerpo puede marcarse con una molécula detectable, que puede ser una enzima tal como fosfatasa alcalina, acetilcolinesterasa, β -galactosidasa o peroxidasa de rábano; un grupo protésico tal como estreptavidina, biotina o avidina; un grupo fluorescente tal como cloruro de dansilo, diclorotriazinilamina, diclorotriazinilamina fluoresceína, fluoresceína, isotiocianato de fluoresceína, ficoeritrina, rodamina, umbeliferona; un grupo luminiscente tal como luminal; un grupo bioluminiscente tal como aequorina, luciferasa y luciferina; o un radioisótopo tal como ^3H , ^{125}I , ^{131}I , ^{35}S .

Métodos terapéuticos

Una entidad molecular inmunogénica o anticuerpo de la descripción se puede usar para prevenir o tratar la infección de un mamífero por una bacteria Gram positiva tal como, por ejemplo, una especie de *Staphylococcus*, que utiliza moléculas de señalización de péptido cíclicas en la percepción de quórum. Los mamíferos que se pueden beneficiar del tratamiento con una entidad molecular inmunogénica o anticuerpo de la descripción incluyen: (1) un mamífero en riesgo, o susceptible a una infección por una bacteria Gram positiva, (2) un mamífero que ha estado en contacto con una bacteria Gram positiva infecciosa, o (3) un mamífero que ha sido infectado por una bacteria Gram positiva. Para prevenir o tratar una infección bacteriana Gram positiva, se puede administrar una entidad molecular inmunogénica de la descripción al mamífero para provocar una respuesta inmune en el mamífero. Adicionalmente, se puede administrar un anticuerpo de la descripción para inhibir la actividad de un péptido de señalización cíclico, previniendo de este modo la producción de genes de virulencia o toxinas que ayudan a la infección bacteriana o al desarrollo de la condición de enfermedad asociada a la infección bacteriana.

Un mamífero que puede beneficiarse del tratamiento con la entidad molecular inmunogénica o el anticuerpo de la descripción puede identificarse usando los métodos discutidos anteriormente, en los que se determina la presencia y/o la cantidad de un péptido de señalización cíclico. Se pueden usar otros métodos de detección de la presencia de una infección bacteriana Gram positiva tales como, por ejemplo, el cultivo de una muestra procedente del mamífero, p.ej. un cultivo de sangre. Un mamífero, tal como un humano, que puede beneficiarse del tratamiento con una

entidad molecular inmunogénica o anticuerpo de la descripción también puede ser un individuo que tenga un sistema inmune debilitado, un individuo con un sistema inmune deprimido, un individuo que ha sido sometido o que va a someterse a cirugía, un individuo mayor o uno que esté muy enfermo, un individuo que haya sido hospitalizado o que ha estado sometido a un procedimiento médico. Un mamífero que pueda beneficiarse del tratamiento con una entidad molecular inmunogénica o anticuerpo de la descripción puede ser un paciente de hospital en riesgo de desarrollar una infección nosocomial o un mamífero del que se sabe que está infectado o que ha estado expuesto a bacterias resistentes a antibióticos tales como, por ejemplo, *S. aureus* resistente a meticilina, *S. aureus* sensible a intermediario de vancomicina, *S. aureus* resistente a vancomicina y otros enterococos resistentes a antibióticos que incluyen *Pneumococcus pneumoniae*.

El anticuerpo o entidad molecular inmunogénica de la descripción puede administrarse antes de la infección, después de la infección pero antes de la manifestación de los síntomas asociados a la infección, o después de la manifestación de los síntomas para evitar una posterior multiplicación bacteriana y para evitar una posterior expresión de genes de virulencia, dificultando con ello el desarrollo de la enfermedad o su progresión. Cuando se administra a un mamífero, la entidad molecular inmunogénica de la descripción provoca la producción de anticuerpos que evitan la enfermedad o afección o su progresión mediante la unión y la neutralización de las moléculas de señalización de péptido cíclico producidas por las bacterias, evitando de este modo la producción de genes de virulencia o toxinas que ayuden al desarrollo de la infección o de la condición de enfermedad asociada a la infección bacteriana. Adicionalmente, también se puede administrar a un mamífero un anticuerpo neutralizante de la descripción. El anticuerpo neutralizante puede unirse a una molécula de señalización de péptido cíclico producida por las bacterias y evitar su unión a su receptor celular asociado y, al hacerlo, evitar la producción de genes de virulencia o de toxinas que ayudan a la infección o al desarrollo de la condición de enfermedad asociada a la infección bacteriana. Por consiguiente, se puede usar una composición que incluye una entidad molecular inmunogénica de la descripción como una vacuna viva, mientras que una composición que incluya un anticuerpo de la descripción puede usarse como una vacuna pasiva, para evitar la infección bacteriana o la enfermedad o afección asociada a la infección bacteriana.

Los agentes activos de la descripción pueden administrarse mediante cualquier ruta discutida en la presente memoria. La dosificación de la entidad molecular inmunogénica o de la estructura supramolecular que va a administrarse a un mamífero puede ser cualquier cantidad apropiada para provocar una respuesta inmune contra un péptido de señalización cíclico. La dosificación del anticuerpo que debe administrarse a un mamífero puede ser cualquier cantidad apropiada para neutralizar la actividad de un péptido de señalización cíclico.

La dosificación puede ser una dosis efectiva o una fracción apropiada de la misma. Esto dependerá de los parámetros del paciente individual que incluyen la edad, la condición física, el tamaño, el peso, la afección a tratar, la gravedad de la afección y cualquier tratamiento concurrente. Los factores que determinan las dosificaciones apropiadas son bien conocidos por los especialistas en la técnica y pueden determinarse con una experimentación rutinaria. Por ejemplo, la determinación de las propiedades fisicoquímicas, toxicológicas y farmacocinéticas puede realizarse usando ensayos químicos y biológicos estándar, y mediante el uso de técnicas de modelización matemática conocidas en el área de la química, la farmacología y la toxicología. La utilidad terapéutica y el régimen de dosificación pueden extrapolarse de los resultados de dichas técnicas, y mediante el uso de modelos farmacocinéticos y/o farmacodinámicos apropiados.

La cantidad precisa a administrar a un paciente será responsabilidad del médico que le atienda. Una entidad molecular inmunogénica o anticuerpo de la descripción puede administrarse mediante inyección en una dosis de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 2000 mg/kg de peso del mamífero, preferiblemente entre aproximadamente 1 a aproximadamente 200 mg/kg de peso del mamífero. Dado que determinados agentes de la descripción son de acción duradera, puede ser ventajoso administrar una dosis inicial de 80 a 4.000 mg el primer día y después una dosis menor de 20 a 1.000 mg en los días siguientes. También puede ser que un paciente insista en una dosis menor o una dosis tolerable por razones médicas, razones fisiológicas o virtualmente por cualesquier otras razones. Se podría administrar una o más dosis de recuerdo de la entidad molecular inmunogénica o del anticuerpo en un periodo de tiempo seleccionado después de la primera administración.

El tratamiento usando un anticuerpo o entidad molecular inmunogénica de la descripción puede tener la duración necesaria para provocar una respuesta inmune neutralizante.

Métodos para generar anticuerpos de la descripción

Se puede usar una entidad molecular inmunogénica o una estructura supramolecular de la descripción para generar anticuerpos dirigidos a un péptido de señalización cíclico.

También se puede usar una entidad molecular inmunogénica o una estructura supramolecular de la descripción para realizar un escrutinio de una biblioteca de inmunoglobulina recombinante para identificar un anticuerpo que se una específicamente a un péptido de señalización cíclico seleccionado. Los métodos y reactivos para generar y realizar un escrutinio de una biblioteca de inmunoglobulina combinatoria recombinante se describen, por ejemplo, en Barbas, C.F., 3º, D.R. Burton, J.K. Scott y G.J. Silverman, *Phage Display – A Laboratory Manual*. 2001, Cold Spring Harbor,

Nueva York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, y Kontermann, R., Dübel, S., *Antibody Engineering*, 2001, Berlín, Heidelberg: Springer-Verlag.

También se puede usar una entidad molecular inmunogénica, o una estructura supramolecular de la descripción, para provocar una respuesta inmune en un mamífero, a partir del cual se pueden obtener anticuerpos policlonales o monoclonales. Se puede administrar una entidad molecular inmunogénica o una estructura supramolecular de la descripción a un mamífero tal como una cabra, oveja, rata, ratón o conejo, por ejemplo. Los anticuerpos policlonales pueden aislarse de la sangre del mamífero usando métodos conocidos en la técnica. Los anticuerpos monoclonales pueden obtenerse aislando las células productoras de anticuerpos del mamífero y generando hibridomas productores de anticuerpos. Los métodos para producir y obtener anticuerpos a partir de un mamífero son conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, Harlow, D. y D. Lane, *Antibodies A laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory, Nueva York (1988), y Tramontano, A. y D. Schloeder, Production of antibodies that mimic enzyme catalytic activity. *Methods Enzymol* 178: p. 531-550 (1989).

La invención se ilustra con más detalles a través de los siguientes Ejemplos no limitativos.

EJEMPLOS

Ejemplo 1 – Materiales

RN4850 fue obtenido del Dr. Richard P. Novick (*Skirball Institute, New York University Medical Center*). Los anticuerpos monoclonales purificados fueron obtenidos de *TSRI Antibody Production Core Facility*. El elemento clínico aislado NRS168 fue obtenido a través de la *Network on Antimicrobial Resistance in Staphylococcus aureus* (NARSA), programa apoyado por NIAID/NIH (N01-AI-95359).

Ejemplo 2 – Síntesis de AIPs 1-4 nativos

Se usó el siguiente procedimiento general para sintetizar todos los productos naturales. Se llevó a cabo una síntesis por lotes con 0,25 mmol de resina MBHA hinchada en DMF siguiendo los protocolos de síntesis de péptidos en fase sólida Boc estándares. Se preparó una disolución de ácido S-tritil-3-mercaptopropiónico (2 eq.), HBTU (3,9 eq.), y DIEA (0,5 mL) en 4 mL de DMF y se dejó reposar durante 3 minutos para pre-activación. Se añadió el cóctel a la resina para acoplamiento, que generalmente se completa en 1 hora. A continuación se lavó la resina con DMF y se sometió a desprotección de tritilo con TIS al 5% en TFA (2 × 10 minutos). Una vez lavado con DMF, la secuencia de péptido se completó mediante reacciones de acoplamiento secuenciales usando 4 eq. de aminoácido Boc, 3,9 eq. de HBTU y 0,5 mL de DIEA, con 3 minutos de pre-activación. Cuando la síntesis se completó, la resina se lavó con DMF, después con CH₂Cl₂ y finalmente con éter antes de ser llevada al desecador.

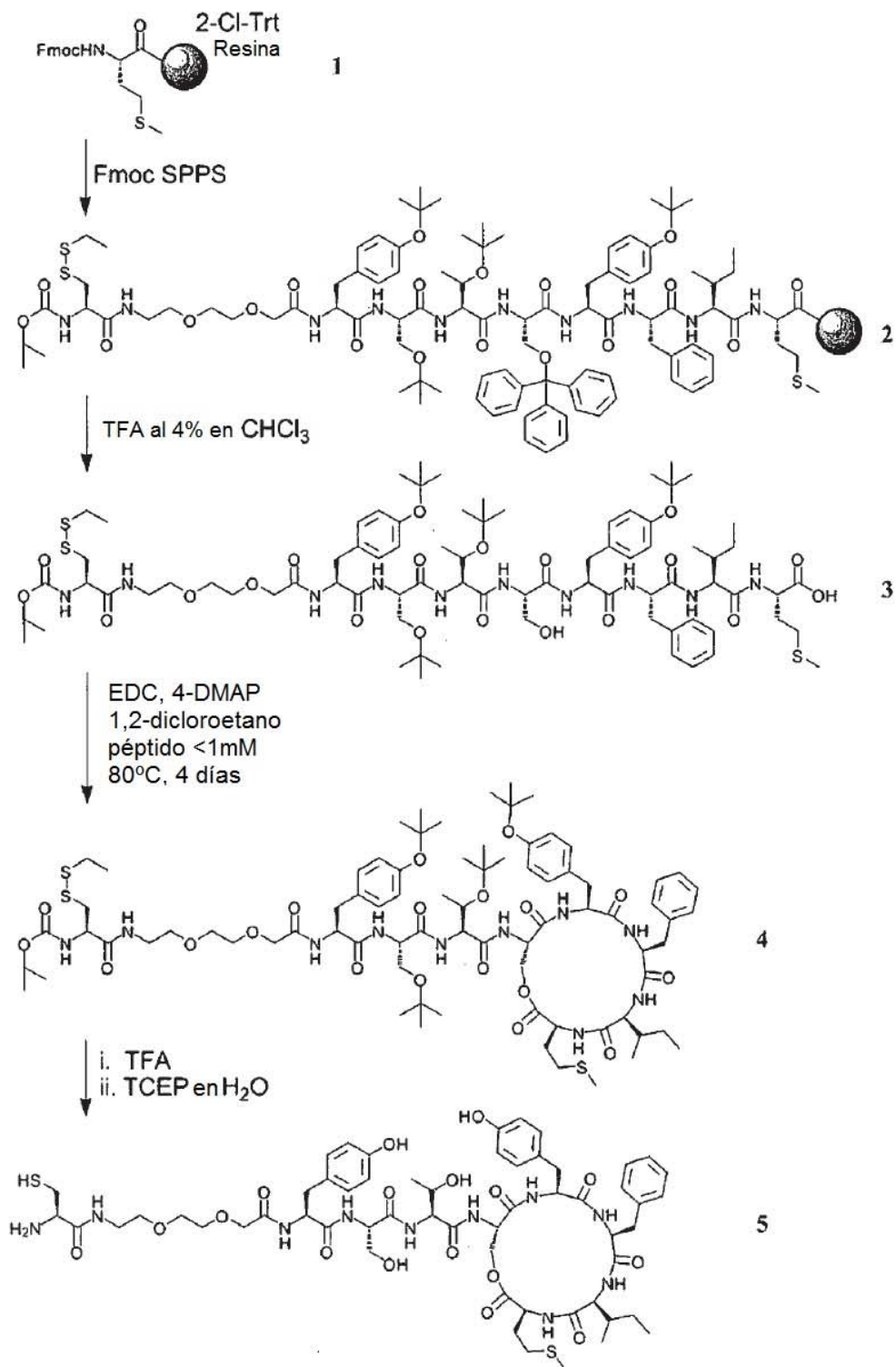
Ruptura: la resina se sometió a 5-10 mL de HF durante 1 hora usando anisol como captador. La mezcla resultante se lavó con éter y se extrajo con agua/acetonitrilo 1:1. Esta disolución se congeló y se liofilizó, y el sólido resultante se purificó mediante HPLC preparativa. Las fracciones puras fueron agrupadas, congeladas y liofilizadas.

Tiolactonización: la tiolactonización intramolecular se logró procesando el péptido lineal sólido purificado en una mezcla de tampón MOPS al 80% (100 mM, pH 7,0) y acetonitrilo al 20%, dando lugar a una concentración de péptido inferior a 1 mM. La reacción se monitorizó mediante ESI-MS, y normalmente se completó en 24-48 horas. El producto se purificó mediante HPLC preparativa. Las fracciones puras fueron agrupadas, congeladas y liofilizadas. ESI-MS: *m/z* calculado para AIP-1, C₄₃H₆₀N₈O₁₃S₂ (M + H), 961,4; obtenido 961,8; *m/z* calculado para AIP-2, C₃₈H₅₈N₁₀O₁₂S (M + H), 879,4; obtenido 879,6; *m/z* calculado para AIP-3, C₃₈H₅₈N₈O₁₀S (M + H), 819,4; obtenido 819,7; *m/z* calculado para AIP-4, C₄₈H₆₄N₈O₁₂S₂, 1009,4; obtenido 1009,7. Ver la Figura 2A-H.

Ejemplo 3 – Síntesis de Hapteno 5 de AIP4 – Análogo de lactona de AIP4

El esquema de síntesis del hapteno 5 de AIP4 se muestra a continuación en el Esquema 1. El péptido lineal YSTSYFIM (SEQ ID NO: 1, sin incluir grupos protectores) se sintetizó sobre resina de 2-clorotritilo precargada con Fmoc-Metionina 1 usando química estándar de Fmoc que emplea DIC/HOBt como reactivos de acoplamiento. La cisteína colgante N-terminal se incorporó para conjugación a una proteína vehículo y se añadió el ligando flexible corto entre el hapteno y la proteína vehículo como espaciador. El péptido lineal protegido fue liberado de la resina usando ácido trifluoroacético al 4% en cloroformo, lo que también eliminó de forma selectiva el grupo protector de tritilo de la serina. Se realizó la lactonización intramolecular en condiciones diluidas usando EDC/4-DMAP, y las desprotecciones de cadenas laterales posteriores dieron lugar al hapteno 5 de AP4. Los detalles del procedimiento sintético se describen en el siguiente texto.

Esquema 1 - Síntesis del Hapteno 5 de AP4



SEQ ID NO: 1 (YSTSYFIM, sin incluir grupos protectores)

Síntesis del péptido protegido lineal (3)

Todos los aminoácidos protegidos con N- α -Fmoc, los reactivos de acoplamiento y las resinas para la síntesis de péptidos fueron adquiridos en EMD Biosciences, Inc. (San Diego, CA). Los demás productos químicos fueron adquiridos en Sigma-Aldrich Corp. (St. Louis, MO). Los análisis de ESI-MS fueron realizados con API150EX (PE SCIEX, Foster City, CA), y se usaron equipos HITACHI L-7300 y SHIMADZU SCL-10A para los experimentos de HPLC analítica y preparativa, respectivamente.

El péptido se sintetizó mediante Fmoc SPPS sobre resina de 2-clorotritilo precargada con el Fmoc-Met **1**. Se incorporó un Fmoc-Ser(Trt)-OH en la posición de lactonización. Los demás residuos fueron seleccionados con grupos protectores de cadena lateral estables en TFA diluido y lábiles en TFA al 95%. Se incorporó un ligando flexible corto en la posición penúltima respecto al extremo N mediante acoplamiento de ácido Fmoc-8-amino-3,6-dioxaoctanoico. El residuo N-terminal fue Boc-Cys(Set)-OH para el uso eventual en conjugación con proteínas vehículo.

Condiciones específicas: se llevó a cabo un lote de síntesis con 1 mmol de resina hinchada en DMF durante al menos 1 hora. Se preparó una disolución del aminoácido protegido, DIC, y HOBt (4 equivalentes de cada) en 5 mL de DMF y se dejó reposar durante 5 minutos para la pre-activación, seguido de la adición de 0,5 mL de sym-colidina. El cóctel se añadió a la resina para acoplamiento, lo que generalmente se completó en 1 hora. A continuación la resina se lavó con DMF y se sometió a desprotección de Fmoc con piperidina al 20% (v/v) en DMF (2 $\times$ 7 min). Después se lavó la resina con DMF y se llevó a cabo la siguiente reacción de acoplamiento. Una vez completada la síntesis, la resina se lavó con DMF, después con CH₂Cl₂ y finalmente con éter antes de ser colocada en el desecador.

Ruptura (y desprotección de tritilo): se añadió la resina a un cóctel de TFA al 4%, triisopropilsilano (TIS) al 4% y H₂O al 0,5% en cloroformo, y se agitó durante 6 horas. La mezcla se filtró, dejando que el filtrado goteara en éter frío para precipitar el péptido. La mezcla de éter se centrifugó y el sobrenadante fue decantado. A continuación se lavó el péptido (2x) con éter re-suspendiendo el sólido en éter, centrifugando y decantando el sobrenadante. El sólido resultante se colocó en un desecador.

Purificación: El péptido **3** protegido completamente se disolvió en cloruro de metileno y se purificó mediante cromatografía de gel de sílice de fase normal eluyendo con metanol al 5% en cloruro de metileno.

B. Lactonización de (3)

El péptido lineal protegido **3** se disolvió en 1,2-diclorometano (secado previamente sobre MgSO₄ anhidro) para dar lugar a una concentración final no superior a 1,0 mM. La disolución se agitó y se calentó a 80°C y se añadieron 3 equivalentes de EDC y de 4-DMAP; a las 24 y las 48 horas se añadió a la reacción otro equivalente de EDC y de 4-DMAP. La reacción se monitorizó mediante HPLC. Después de 4 días, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se lavó con 2 $\times$ 200 mL de KHSO₄ 0,2 M (aq.), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, y se evaporó hasta sequedad. El péptido ciclado **4** se purificó mediante HPLC preparativa. Los rendimientos oscilan en el rango 30-60%, determinado mediante integración de HPLC analítica.

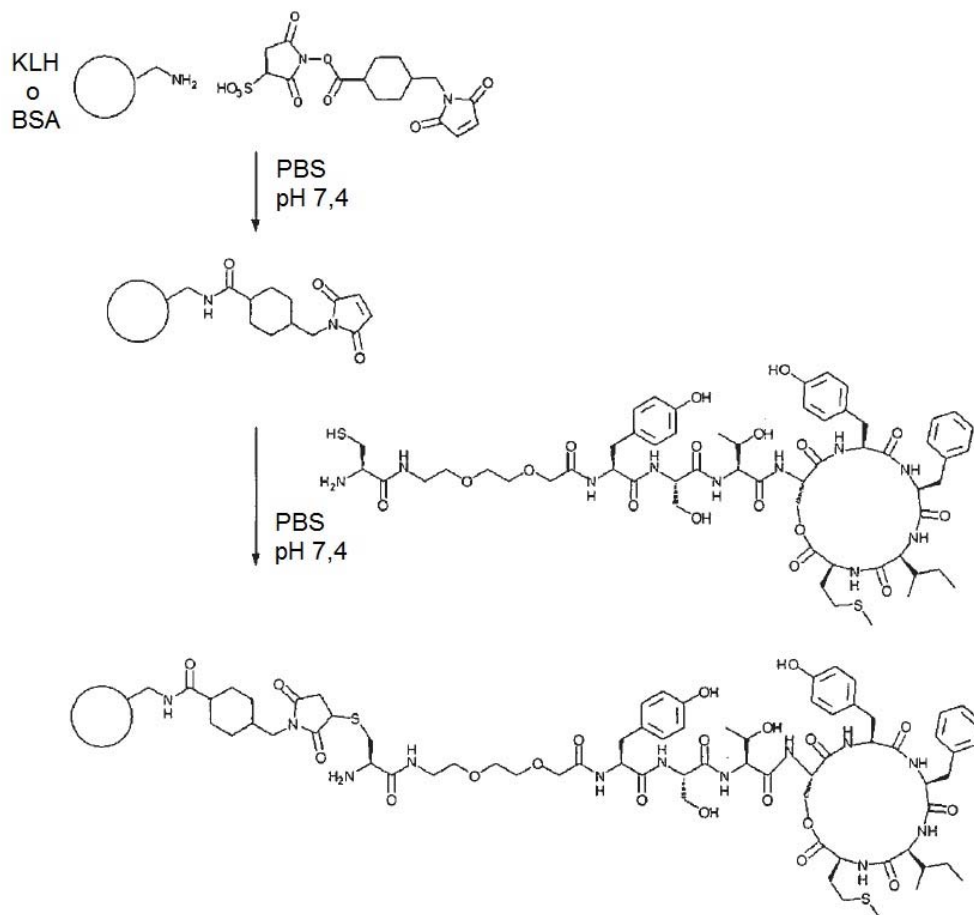
C. Desprotección global y desprotección de disulfuro de (4)

El péptido sólido purificado se disolvió en TFA que contenía un 2% de TIS y se agitó durante 1 hora. A continuación se evaporó la mezcla hasta sequedad. Se añadió agua y la mezcla se congeló y se liofilizó. El sólido liofilizado se disolvió entonces en H₂O con hidrocloreto de tris(2-carboxietil)fosfina (TCEP). La mezcla se agitó durante 1 hora y se inyectó directamente en HPLC preparativa para purificación, dando lugar al hapteno **5** de AP4. Las fracciones puras recogidas fueron agrupadas, congeladas y liofilizadas. ESI-MS: *m/z* calculado para C₅₇H₈₀N₁₀O₁₇S₂ (M + H), 1241,5; experimental, 1242,2. Ver la **Figura 2I-J**.

D. Conjugación de (5) a KLH/BSA

La conjugación del hapteno **5** a KLH/BSA se llevó a cabo como se muestra a continuación en el Esquema 2. Los detalles del procedimiento se describen en el texto siguiente.

Esquema 2 - Conjugación de Hapteno 5 a KLH/BSA



SEQ ID NO: 2 (INSDFLL, sin incluir grupos protectores)

Unión de Sulfo-SMCC: se resuspendieron 5 mg de la proteína vehículo en 0,9 mL de PBS, pH 7,4. A esta disolución se añadió 1 mg del ligando sulfo-SMCC (sulfosuccinimidil 4-(N-maleimidometil)-ciclohexano-1-carboxilato). La disolución se agitó durante 6-8 horas y el conjugado proteína-ligando se purificó mediante diálisis en PBS a 4 °C.

5 *Conjugación del hapteno 5:* al conjugado ligando-proteína en PBS se añadieron 100 µL de DMF que contenían 2 mg del hapteno 5. La disolución se agitó durante una noche y el conjugado proteína-hapteno se purificó mediante diálisis. El análisis MALDI-TOF confirmó la unión en promedio de ~ 6 haptenos por molécula de BSA (peso molecular del conjugado BSA-AIP4 = 75581 Daltons; BSA = 67000 Daltons; y hapteno = 1461,15 Daltons). Ver la **Figura 2K**.

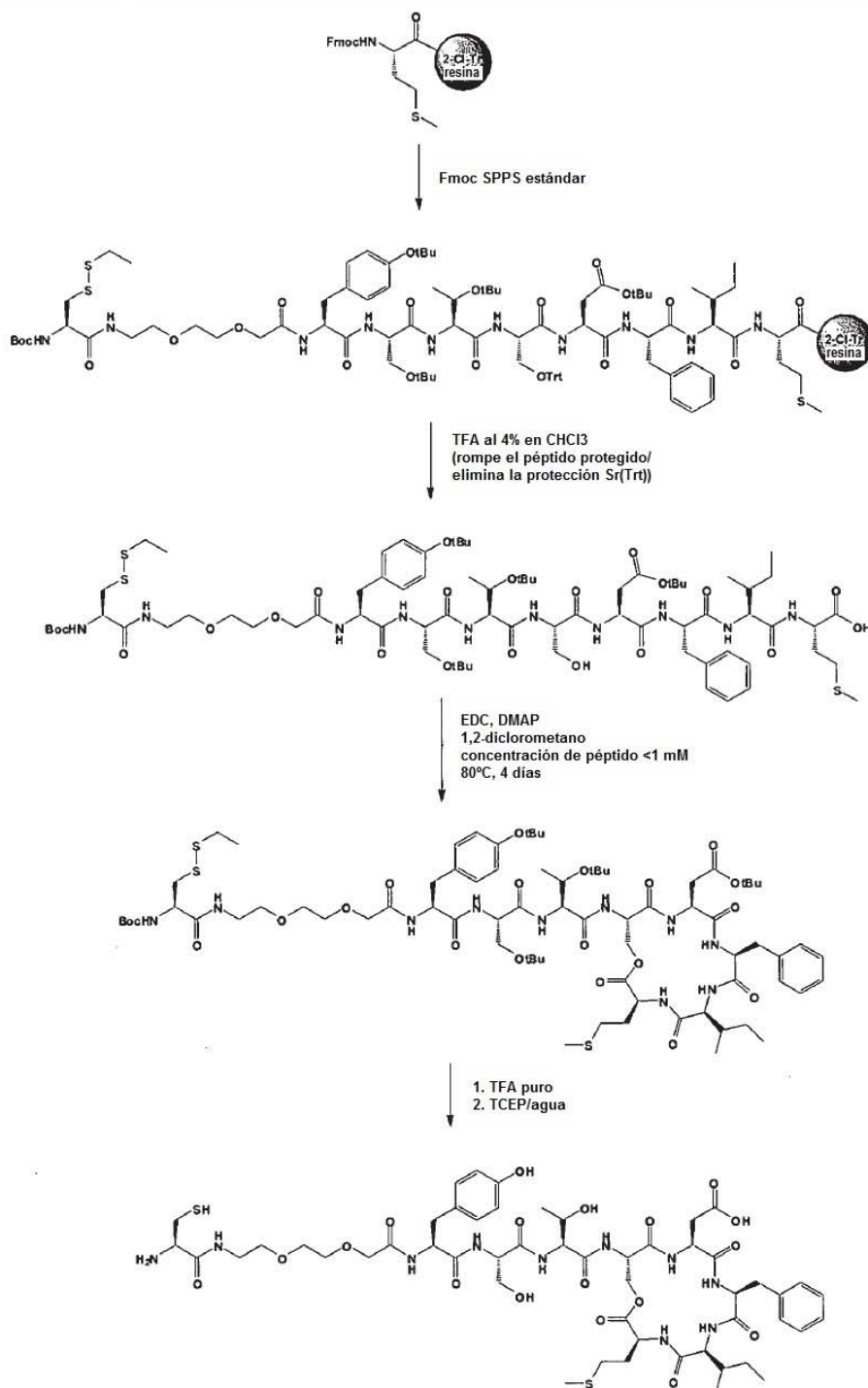
10 **Ejemplo 4 – Preparación de los análogos de lactona AP1, AP2, AP3 y AP4 como conjugados de haptenos sintéticos y de vehículo hapteno-proteína**

Para la inmunización y la activación de una respuesta inmune, la vacuna activa, y la generación de anticuerpos monoclonales, se prepararon conjugados de haptenos sintéticos, en la forma de conjugados de análogos de lactona de AP1, AP2, AP3 y AP4, y de vehículo hapteno-proteína usando los procedimientos descritos para la preparación del hapteno 5 de AP4 descrito anteriormente. Los esquemas de preparación son los siguientes.

15

Esquema 3

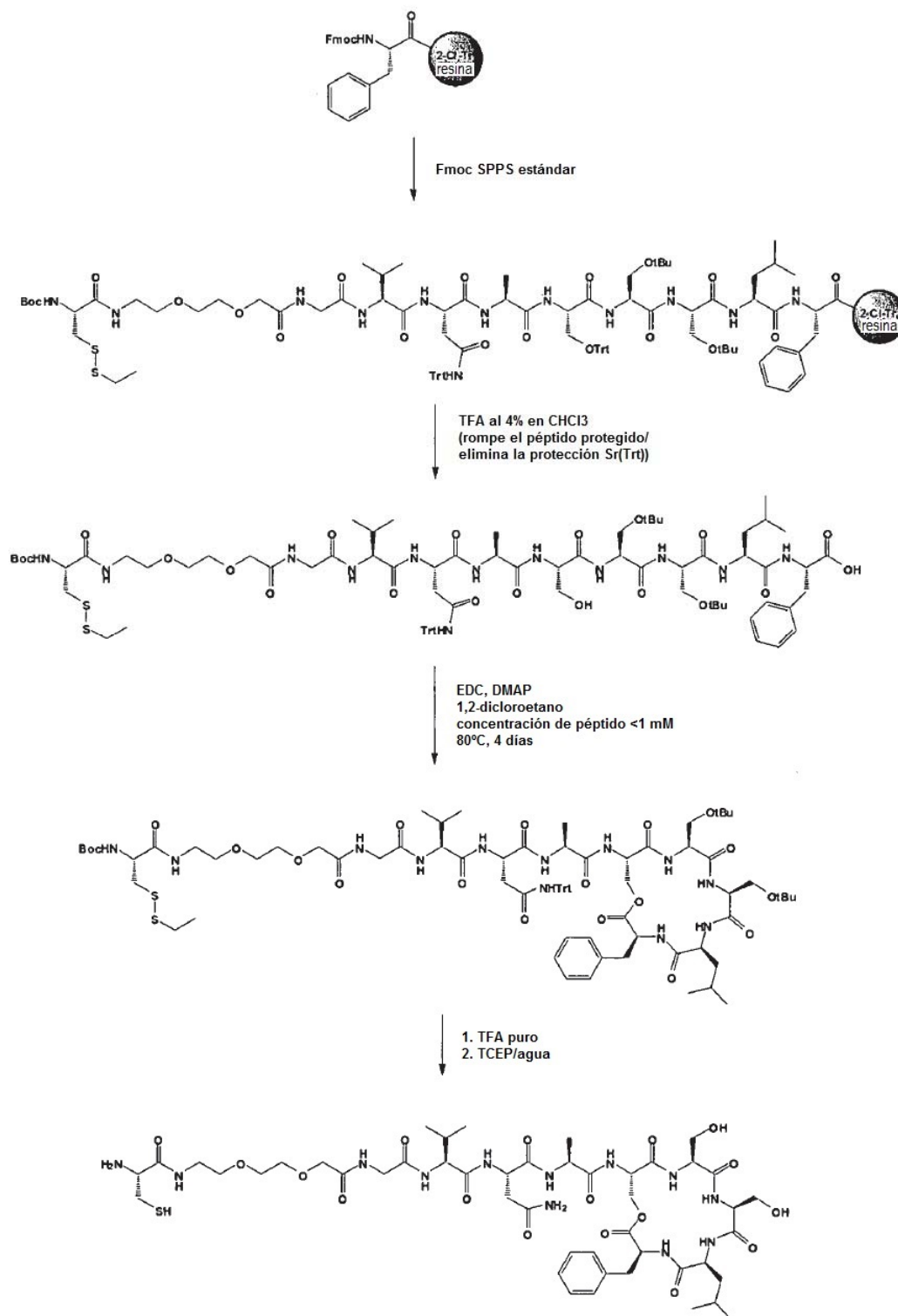
Preparación de un hapteno sintético (AP1) para inmunización y activación de una respuesta inmune/vacuna activa/generación de anticuerpos monoclonales de AIP-1



SEQ ID NO: 3 (YSTSDFIM, sin incluir grupos protectores)

Esquema 4

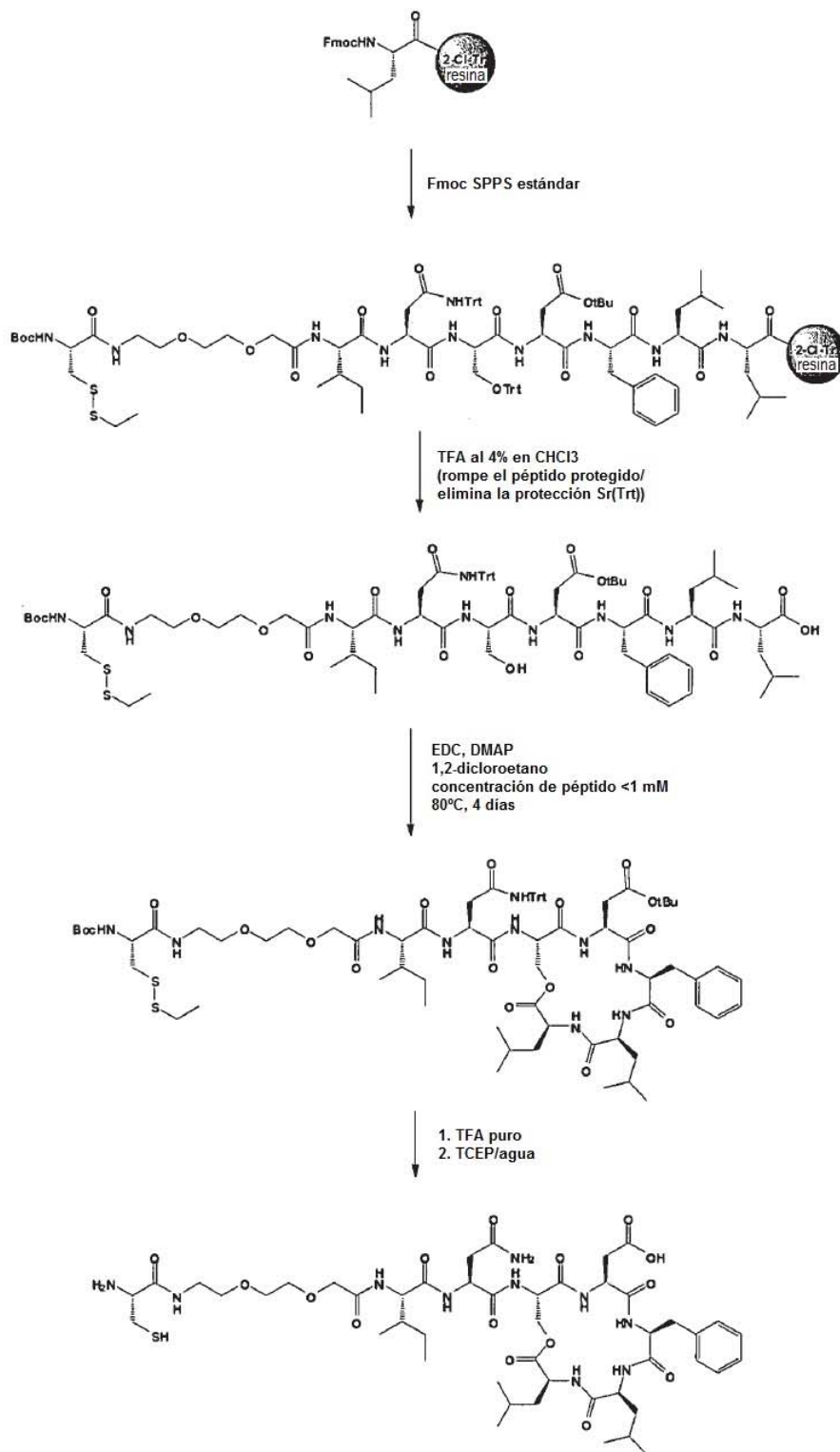
Preparación de un hapteno sintético (AP2) para inmunización y activación de una respuesta inmune/vacuna activa/generación de anticuerpos monoclonales de AIP-2



SEQ ID NO: 4 (GVNASSSLF, no incluye grupos protectores)

Esquema 5

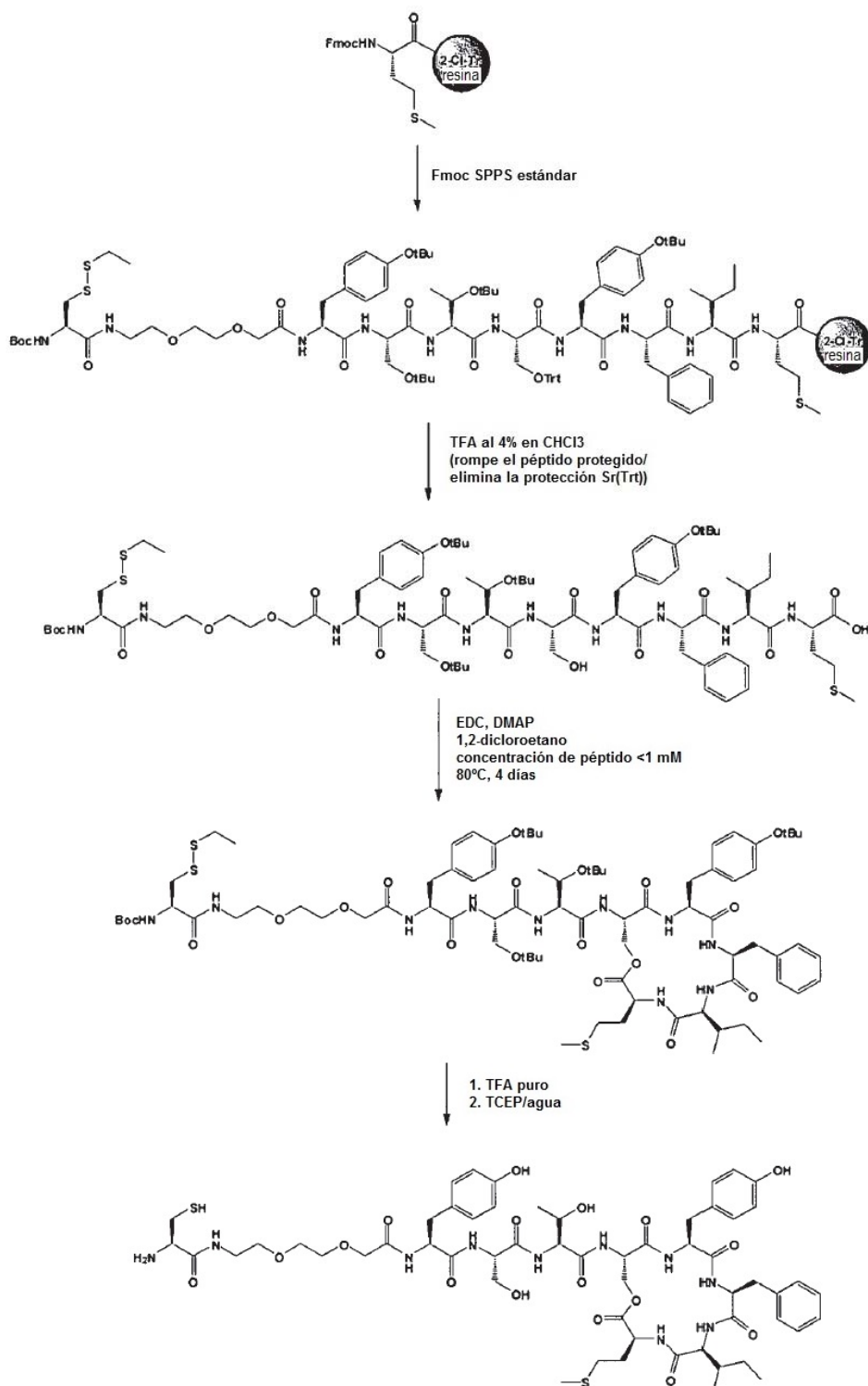
Preparación de un hapteno sintético (AP3) para inmunización y activación de una respuesta inmune/vacuna activa/generación de anticuerpos monoclonales de AIP-3



SEQ ID NO: 2 (INSDFL, sin incluir grupos protectores)

Esquema 6

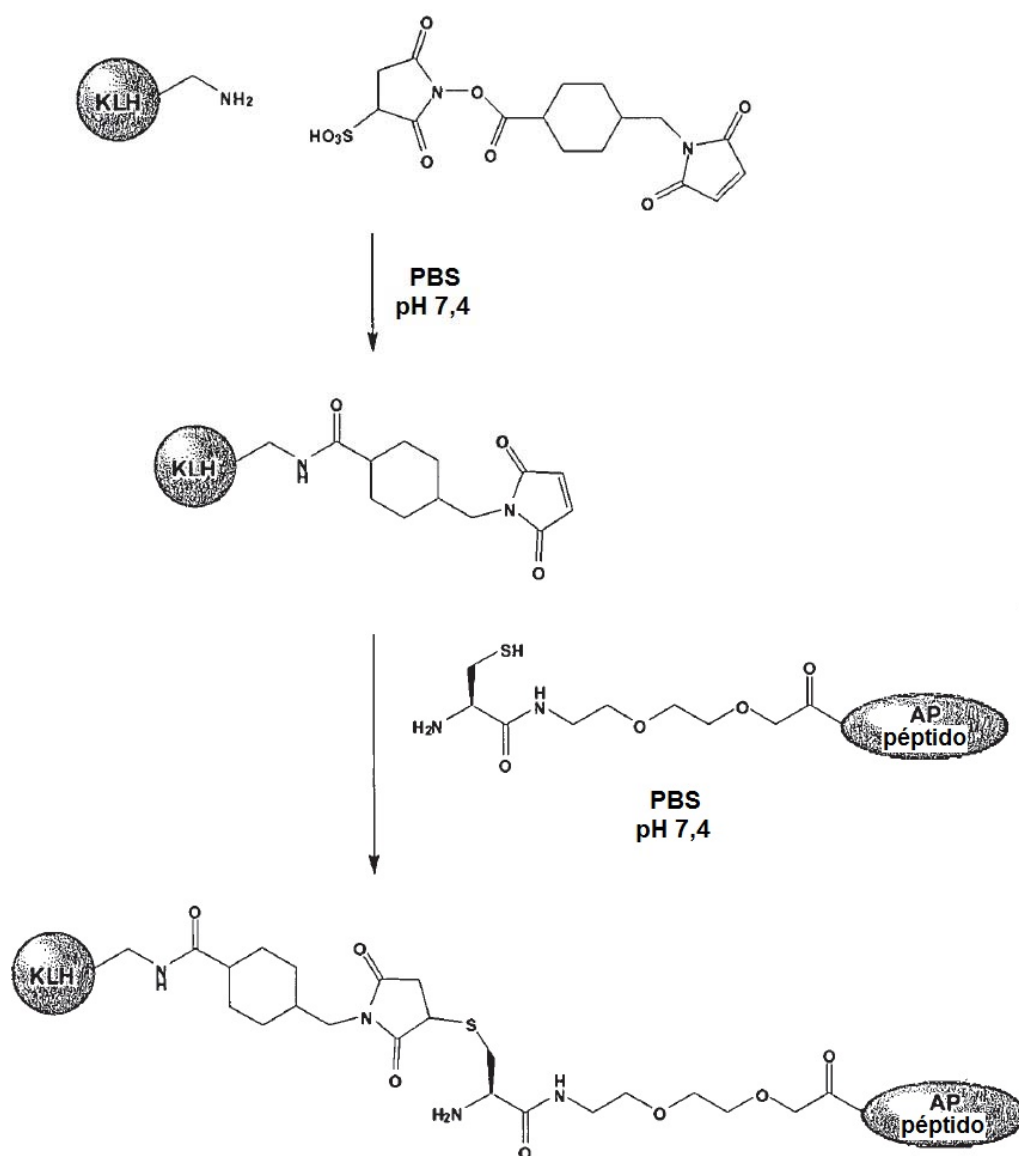
Preparación de un hapteno sintético (AP4) para inmunización y activación de una respuesta inmune/vacuna activa/generación de anticuerpos monoclonales de AIP-4



SEQ ID NO: 1 (YSTSYFIM, sin incluir grupos protectores)

Esquema 7

Preparación de conjugados de hapteno-proteína vehículo para inmunización y activación de una respuesta inmune/vacuna activa/generación de anticuerpos monoclonales de AIP-1-AIP-4

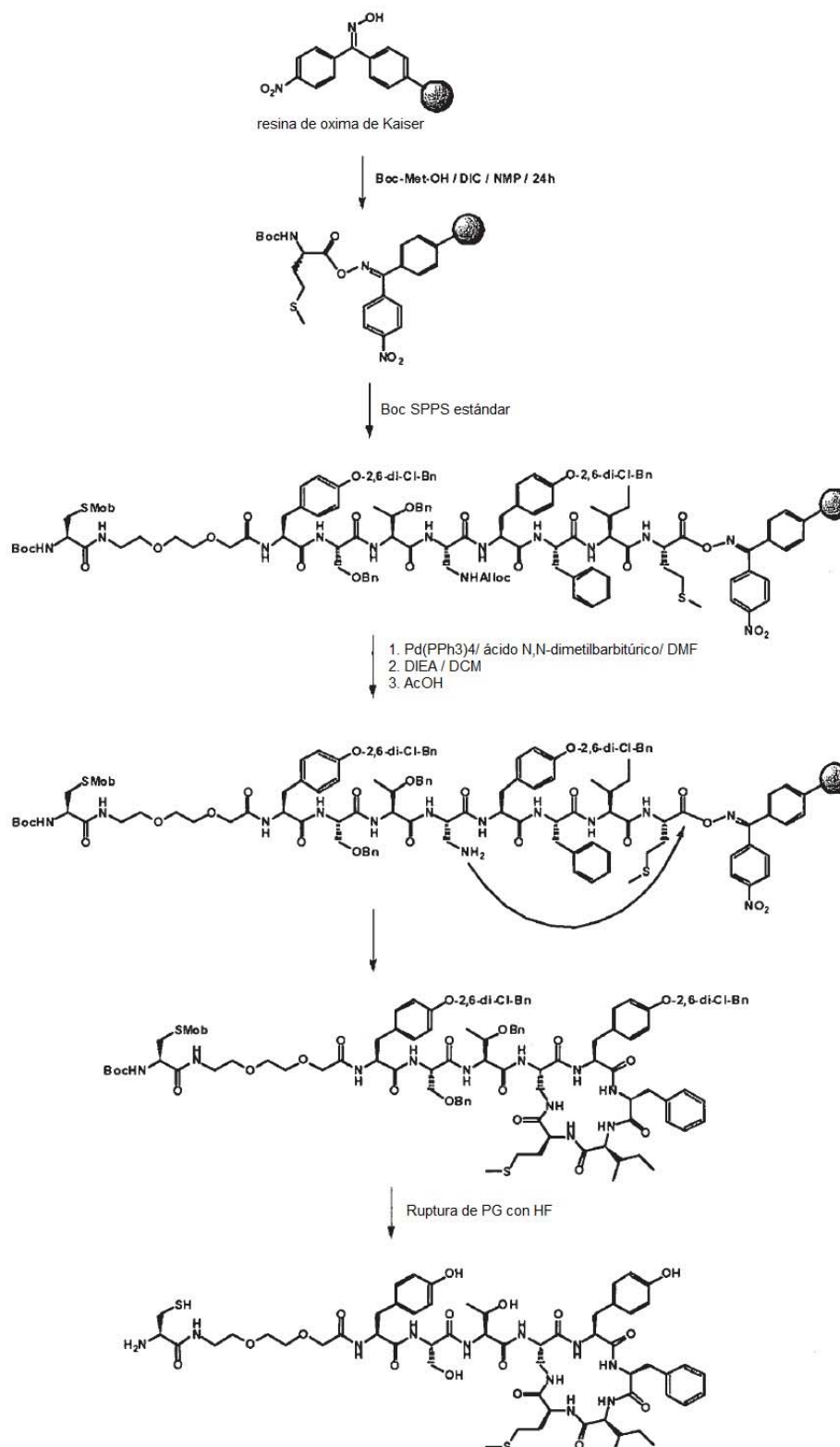


Ejemplo 5 – Preparación de los análogos de lactama, carbamida y semicarbazida de AP4 como haptenos sintéticos

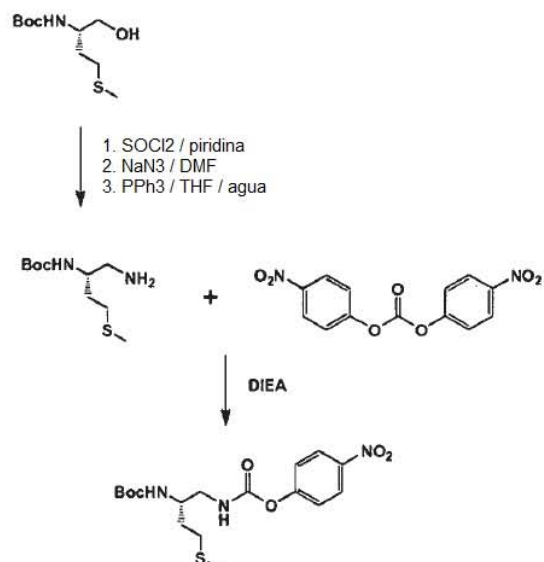
Los haptenos de péptido AIP de lactama, carbamida y semicarbazida cíclicos estables proteolíticamente se preparan usando la metodología bien documentada de ciclación de péptidos sobre una resina de oxima de Kaiser lábil frente a bases. Ver DeGrado et al., *J. Org. Chem.* 1980, 45, 1295-1300; De Grado et al., *J. Org. Chem.* 1982, 47, 3258-3261; Nakagawa et al., *J. Org. Chem.* 1983, 48, 678-685; Nakagawa et al., *J. Am. Chem. Soc.* 1985, 107, 7087-7092; Kaiser et al., *Science* 1989, 243, 187-192. Esta estrategia sintética se basa en la síntesis de péptidos en fase sólida basada en Boc, donde la ciclación del péptido coincide con la separación del péptido ciclado del soporte sólido. Osapay et al., *J. Am. Chem. Soc.* 1992, 114, 6966-6973; Taylor et al., *Biopolymers* 2002, 66, 49-75; y Li et al., *Curr. Org. Chem.* 2002, 6, 411-440. La síntesis de los péptidos de carbamida cíclicos requiere la estructura retro-inversa, tal como se describe en bibliografía. Chorev et al., *Biopolymers* 2005, 80, 67-84. El bloque de construcción prerequisite 1-*N*-Boc-4-(metiltio)butano-1,2-diamino se sintetiza a partir del Boc-metioninol disponible comercialmente y después se acopla a la cadena peptídica mediante el protocolo de nitrofenil carbamato según un antecedente de la bibliografía. Vince et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1999, 9, 853-856. Los siguientes esquemas esbozan la síntesis de análogos de lactama, carbamida y semicarbazida cíclicos proteolíticamente estables del péptido AIP-4. Estas metodologías sintéticas pueden aplicarse a la preparación de otros haptenos de péptido cíclico, p.ej., AIP-1, AIP-2, AIP-3, así como de otros péptidos de percepción de quórum estafilococales.

La síntesis del hapteno de AIP4 de lactama cíclico se resume en el Esquema 8. Los Esquemas 9 y 10 esbozan la síntesis de los intermediarios 1-*N*-Boc-4-(metiltio)butano-1,2-diamino *p*-nitrofenilcarbamato y *N*-Fmoc-Met-hidrazida *p*-nitrofenilcarbamato usados en la síntesis del hapteno de AIP4 de carbamida cíclico y del hapteno de AIP4 de semicarbazida cíclico, respectivamente. La síntesis de los haptenos de AIP4 de carbamida y semicarbazida se muestra en los Esquemas 11 y 12, respectivamente.

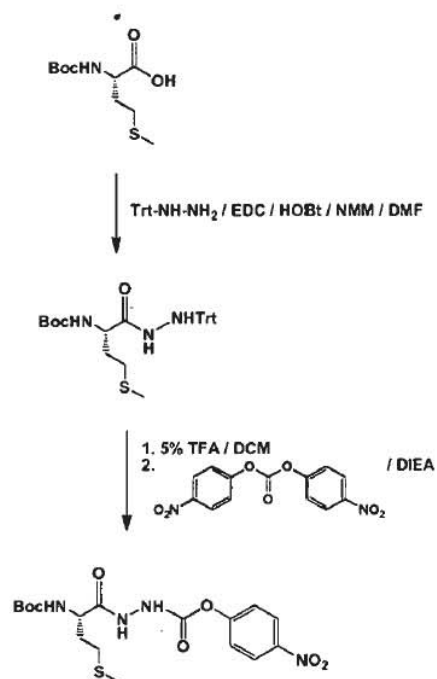
Esquema 8



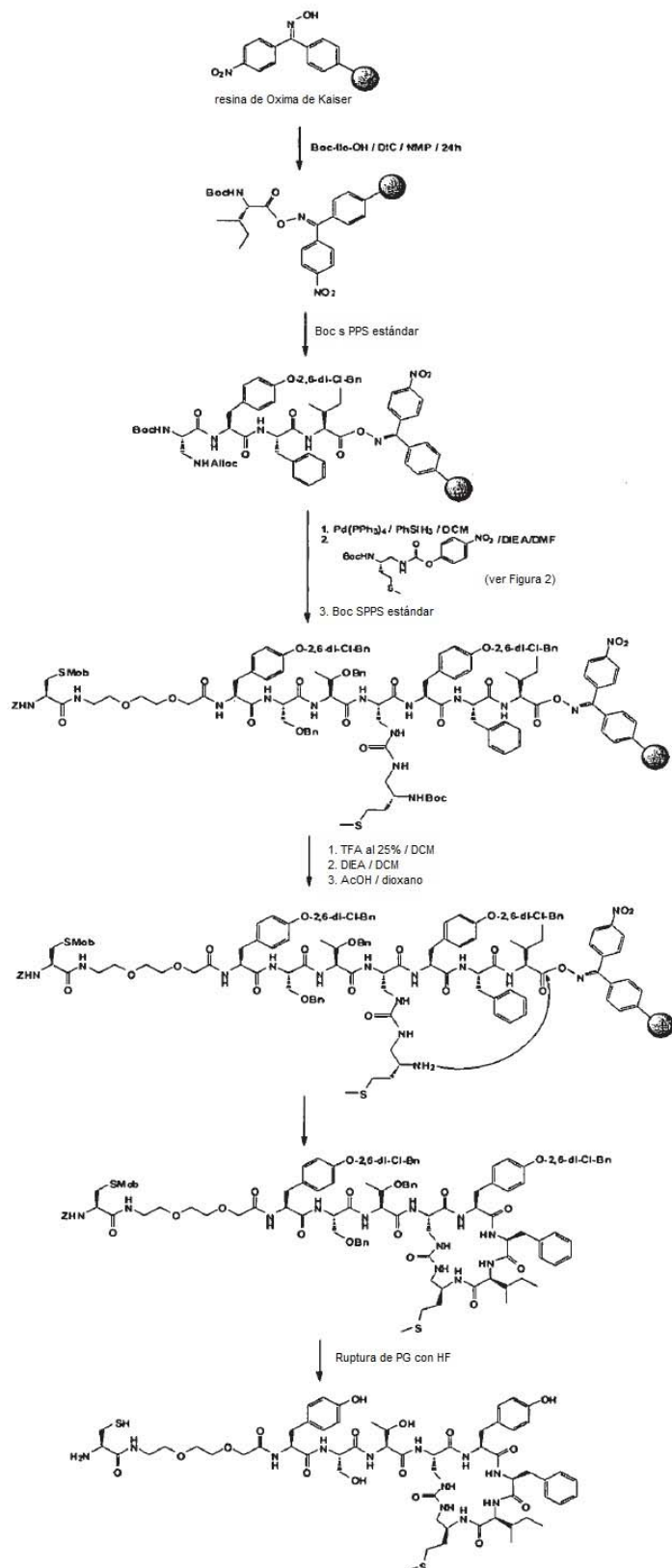
Esquema 9



Esquema 10

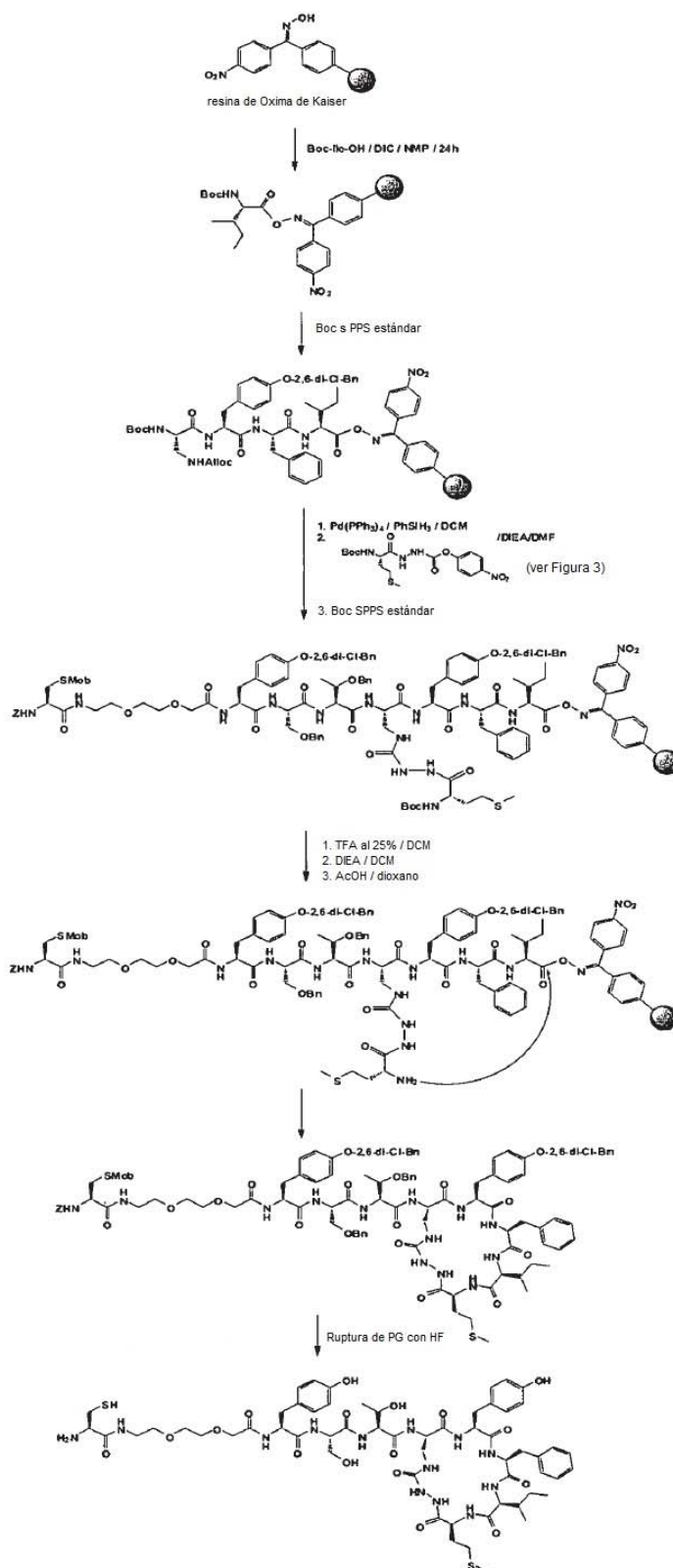


Esquema 11



SEQ ID NO: 1 (YSTSYFIM, sin incluir grupos protectores)

Esquema 12



SEQ ID NO: 1 (YSTSYFIM, sin incluir grupos protectores)

Ejemplo 6 – Análisis de la secreción de exoproteína en *S. aureus*

Tras un cultivo de una noche en una placa de agar a 37°C, se inoculó una única colonia de *S. aureus* (RN4850 o Wood 46) en 3 mL de medio CYGP y se cultivó durante una noche (18 horas) (ver Novick, *Methods Enzymol* 204: 587-636 (1991)). Las células cultivadas durante una noche fueron diluidas hasta $DO_{600} \sim 0,03$ en medio CYGP fresco, y se distribuyeron en tubos de cultivo celular de poliestireno de 5 mL, donde cada tubo contenía 0,5 mL de las células diluidas y el anticuerpo apropiado (0,2 mg/mL). Tras cultivar durante 20-24 horas a 37 °C en un incubador húmedo sin agitación, las muestras fueron transferidas a los tubos de microcentrifuga (1,5 mL) y se centrifugaron a 13.000 rpm durante 5 minutos. Los sobrenadantes fueron esterilizados mediante filtración a través de una unidad de filtro Millex®-GV (0,22 µm; Millipore, Irlanda), y se analizaron mediante SDS-PAGE (10% de gel Bis-Tris, Invitrogen, Carlsbad CA). Para confirmar la expresión de α -hemolisina y de proteína A, se llevaron a cabo análisis de transferencia Western blot usando el anticuerpo de α -hemolisina policlonal de oveja conjugado a HRP (Abcam Inc., Cambridge MA) y anticuerpo monoclonal de ratón anti-Proteína A (Sigma-Aldrich, St. Louis MO) y se usó como anticuerpo de control mAb de ratón SP2-6E11 (Park y Janda, datos no publicados). Para evaluar la actividad hemolítica, los sobrenadantes de *S. aureus* (75 µL × 3) fueron aplicados sobre la placa de agar de sangre de oveja, y las placas fueron incubadas a 37 °C durante 18 horas y a temperatura ambiente durante otras 24 horas.

Ejemplo 7 – Análisis de biopelícula estática

El análisis de biopelícula se llevó a cabo siguiendo un procedimiento de la bibliografía con unas pocas modificaciones (ver O'Toole, *Methods Enzymol* 310: 91-109 (1999)). Después de cultivar células de *S. aureus* (200 µL) se cultivaron en medio de caldo de triptona de soja (TSB) que contenía 0,2 % glucosa con o sin el anticuerpo (0,2 mg/mL) en la placa de 96 pocillos de poliestireno durante 20-24 horas sin agitación, la placa se lavó mediante inmersión en agua y se secó. Se añadió una disolución de cristal violeta (200 µL, 0,1% en agua) para teñir la biopelícula, y a continuación se lavó la placa vigorosamente con agua seguida de la adición de ácido acético (250 µL, al 30% en agua) para solubilizar el violeta cristal restante. Se midió la absorbancia a 570 nm con Spectramax 250 (Molecular Devices, Sunnyvale CA).

Ejemplo 8 – Análisis de PCR en tiempo real

Células RN4850 de *S. aureus* cultivadas durante una noche fueron diluidas hasta $DO_{600} \sim 0,03$ en medio CYGP fresco (1 mL) que contenía el anticuerpo y se cultivaron durante 20-24 horas ($DO_{600} \sim 2$) a 37 °C sin agitación. Se aisló ARN de las células usando el Mini Kit RNeasy® (QIAGEN Inc., Valencia CA) según las instrucciones del fabricante. El ARN aislado fue purificado adicionalmente tratándolo con ADNsa libre de ARNasa (QIAGEN Inc.) durante 30 minutos a temperatura ambiente. El ADN de primera cadena se sintetizó usando el Sistema de Síntesis SuperScript™ First-Strand para RT-PCR (Invitrogen) usando ~ 300 ng de ARN purificado. Los experimentos de RT-PCR se llevaron a cabo con al menos dos muestras independientes, y cada experimento se realizó por duplicado usando LightCycler® FastStart DNA Master^{PLUS} SYBR Green I (Roche Applied Science, Indianapolis, IN). Se usó el protocolo SYBR Green (Roche) para las condiciones de PCR, y se realizaron análisis de cuantificación relativa con el sistema LightCycler® 2.0 (Roche Applied Science) usando el gen *GyrA* doméstico como referencia. Las secuencias de los cebadores usados son las siguientes:

gyrA F: 5'-TGGCCCAAGACTTTAGTTATCGTTATCC-3' (SEQ ID NO: 5);

gyrA R: 5'-TGGGGAGGAATATTTGTAGCCATACCTAC-3' (SEQ ID NO: 6);

rnalIII F: 5'-GCACTGAGTCCAAGGAACTAACTC-3' (SEQ ID NO: 7);

rnalIII R: 5'-GCCATCCCAACTTAATAACCATGT-3' (SEQ ID NO: 8);

hla F: 5'-CTGAAGGCCAGGCTAAACCACTTT-3' (SEQ ID NO: 9);

hla R: 5'-GAACGAAAGGTACCATTGCTGGTCA-3' (SEQ ID NO: 10);

spa F: 5'-GCGCAACACGATGAAGCTCAACAA-3' (SEQ ID NO: 11);

spa R: 5'-ACGTTAGCACTTTGGCTTGGATCA-3' (SEQ ID NO: 12);

eta F: 5'-GTTCCGGGAAATTCTGGATCAGGT-3' (SEQ ID NO: 13);

eta R: 5'-GCGCTTGACATAATTCCCAATACC-3' (SEQ ID NO: 14);

sarA F: 5'-CTGCTTTAACAACCTTGTTGTTG-3' (SEQ ID NO: 15);

sarA R: 5'-CGCTGTATTGACATACATCAGCGA-3' (SEQ ID NO: 16);

saeA F: 5'-GCGCTTAACCTTAGGTGCAGATGAC-3' (SEQ ID NO: 17);

saeA R: 5'-ACGCATAGGGACTTCGTGACCATT-3' (SEQ ID NO: 18);

Ejemplo 9 – Modelo de infección dérmica en ratones

Todos los experimentos con ratones fueron llevados a cabo según las guías y recomendaciones de TSRI. Se obtuvieron ratones SKH1 eufémicos sin pelo, de 6-8 semanas de edad, de Charles River Laboratories y se alojaron en el vivario de bio-contención durante una semana antes de su uso en los experimentos. El agar de infusión cerebro cardíaca era de BBL (n°211065) y el caldo CYGP contenía un 1% de casaminoácidos (Fisher BP1424) un 1% de extracto de levadura (EMD 1.03753), 0,59% de cloruro sódico, 0,5% de dextrosa y sal disódica de fosfato de β -glicerol 60 mM (Fluka 50020) tal como se describe en Novick, *Methods Enzymol* 204: 587-636 (1991). Se suspendieron partículas de Cytodex 1 (GE Healthcare 17-0448-01) (1 gramo en 50 mL) en disolución salina tamponada con fosfato de Dulbecco sin calcio/magnesio (Gibco) durante una noche a 20°C. Se decantó el sobrenadante y las partículas se lavaron tres veces mediante suspensión en DPBS y sedimentación 1G seguida de autoclavado (121°C, 1,03 bar (15 psi), 15 minutos). Se cultivó RN4850 de *Staphylococcus aureus* (AIP4) a partir de una reserva congelada (BHI + 20% de glicerol) sobre placas de agar de infusión cerebro cardíaca a 35°C durante una noche. Se combinaron tres colonias representativas para inocular 2 mL de caldo CYGP, y después de una incubación de una noche sin agitación, se usaron 0,25 mL de cultivo para inocular 5 mL de CYGP seguido de la incubación a 35°C, 200 rpm durante 3 horas. El cultivo se centrifugó a 3.000 rpm (1.300xG) a 4°C durante 20 minutos, el sobrenadante se eliminó vertiéndolo, y la partícula bacteriana se suspendió en 1 mL de DPBS sin calcio/magnesio. El SKH1 recibió 200 μ L de inyecciones intradérmicas en el costado que contenían *S. aureus* (1×10^7 ó 1×10^8 bacterias), 4 μ L de volumen empaquetado de partículas de Cytodex, DPBS, anticuerpo anti-AIP4 o IgG de control (0,6 ó 0,06 mg). Los animales de control adicionales recibieron 200 μ L de inyecciones intradérmicas que contenían partículas de Cytodex o partículas más anticuerpo. Después de realizar las inyecciones, los ratones fueron monitorizados al menos tres veces al día a lo largo de un periodo de 4-7 días. A la conclusión del periodo de monitorización los ratones fueron sometidos a eutanasia y se recolectaron tejidos para análisis bacteriológico e histológico.

Ejemplo 10 – Inmunización pasiva de ratones con AP4-24H11

Se almacenó RN4850 de *S. aureus* a -80°C en medio de glicerol al 20%/BHI, se descongeló y se cultivó sobre placas de agar-BHI durante una noche, y se tomaron muestras de tres colonias separadas para inocular 2 mL de medio CYGP. El cultivo de inóculo se mantuvo 1 hora a 35°C sin agitar, seguido de agitación a 200 rpm durante 3 horas. Las alícuotas del cultivo de inóculo recién cultivado fueron transferidas a 5 mL de medio CYGP en 50 mL de tubos de polipropileno cónicos (dilución 1/20) seguido de agitación a 200 rpm, 35°C durante 3 horas. Las bacterias fueron agrupadas en partícula mediante centrifugación a 3.000 rpm (1300 x G) durante 10 minutos, 4 °C. Las partículas bacterianas fueron resuspendidas en disolución salina tamponada con fosfato de Dulbecco sin calcio o magnesio (DPBS⁻), y se enumeraron usando una cámara de conteo Petroff-Hausser. Se realizaron diluciones finales en DPBS⁻ de tal modo que se administraron 3×10^8 bacterias i.p. en 0,5 mL. Para mantener la viabilidad, las bacterias fueron administradas en las dos primeras horas desde la recolección.

Se administró i.p. en DPBS el Mab AP4-24H11, IgG de control de isotipo igualado (1 mg de cada uno) o DPBS a ratones SKH1 (6-9 semanas de edad; 6 animales por grupo de tratamiento) seguido dos horas después por 0,5 mL de DPBS⁻ i.p. que contenía 3×10^8 *S. aureus*. Los ratones fueron monitorizados varias veces en el día de inyección y dos veces cada día en los días posteriores, observando el deambular, el estado de alerta, la respuesta al manejo y midiendo la temperatura cutánea mediante termometría infrarroja (Raytek MiniTemp MT4) usando una zona de piel infraesternal de 1 cm de diámetro. Los animales que mostraron una temperatura superficial consistentemente por debajo de 30 °C y también una respuesta a manejo disminuida y un reflejo correcto debilitado fueron considerados moribundos y se sometieron a eutanasia.

Ejemplo 11 – Análisis ELISA de competición

Las concentraciones óptimas del conjugado AP4-BSA, así como las de cada mAb, fueron determinadas. Se recubrieron placas ELISA de 96 pocillos con la cantidad apropiada de conjugado AP4-BSA, respectivamente. Las placas fueron bloqueadas con leche desnatada al 4%, se lavaron y se añadieron los mAbs a la concentración óptima predeterminada. Las placas fueron lavadas y se añadió antígeno libre, es decir los AIPs 1-4 nativos, a los pocillos en una serie de concentraciones empezando a 100 μ M. La placa se incubó durante 1 hora a 37 °C, se lavó intensamente y se añadió conjugado de peroxidasa de rábano (HRP) anti-ratón de cabra (Pierce, Rockford, IL). Después de un periodo de incubación de 1 hora a temperatura ambiente, la placa se lavó intensamente de nuevo y se dejó desarrollar durante 15 minutos y se detuvo mediante la adición de H₂SO₄ 2 M. Se leyó la absorbancia a 450 nm y los valores se representaron usando GraFit (Erithacus Software Ltd). La concentración de antígeno libre a la que el valor de la absorbancia es un 50 % de la absorbancia máxima se consideró la K_d del anticuerpo para dicho antígeno.

Ejemplo 12 – Generación de anticuerpos monoclonales anti-AP4

En base a la información estructural publicada para el AIP-4 (Mayville *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 96: 1218-1223 (1999)), se diseñó y se sintetizó el hapteno AP4-5 para provocar una respuesta inmune de anticuerpos anti-

AIP-4 en ratones (**Esquema 1**). La explicación para el cambio químico desde la tiolactona nativa hasta un hapteno que contiene lactona se basa en una mayor estabilidad aminolítica de la lactona. Esta estrategia aseguró que los conjugados de hapteno permanecían estructuralmente intactos durante el proceso de inmunización y la posterior respuesta inmune; evitando así la generación de productos de degradación con propiedades químicas y biológicas desconocidas, tal como se ha descubierto previamente para otras moléculas QS. Esta sustitución también evitó un posible cambio intramolecular de tiol entre la tiolactona conservada y el tiol de cisteína pendiente. Por lo tanto, se incorporó Fmoc-Serina(Trt)-OH en la posición 4 en lugar del residuo de cisteína nativo.

El hapteno **5** se conjugó a las proteínas vehículo hemocianina de lapa de ojo de cerradura (KLH) y albúmina de suero bovino (BSA) a través de un ligando bifuncional (**Esquema 2**). Se inmunizó ratones Balb/c con el conjugado de KLH usando protocolos estándares (véase Kaufmann *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* 128: 2802-03 (2006)). En general, las inmunizaciones dieron como resultados títulos moderados (1600 – 3200), y en base a los análisis ELISA se seleccionaron 20 anticuerpos monoclonales (mAbs).

De éstos, se determinaron las afinidades de unión de tres mAbs de AP4. Sus afinidades de unión, mostradas en la siguiente tabla, se determinaron contra los cuatro AIPs naturales usando la metodología de ELISA de competición.

Constantes de unión de anticuerpos monoclonales AP4 seleccionados determinadas mediante ELISA de competición

AP4-mAb	AIP-1	AIP-2	AIP-3	AIP-4
23E6	~ 6 μ M	> 25 μ M	> 25 μ M	~ 390 nM
24H11	~ 5 μ M	> 25 μ M	> 25 μ M	~ 90 nM
29E10	~ 3 μ M	> 25 μ M	> 25 μ M	~ 24 nM

Todas las constantes de unión se midieron al menos dos veces, y se muestran los valores promedio. Aunque el AP4-29E10 poseía una afinidad mayor por AIP-4, no fue seleccionado para una evaluación biológica adicional debido a las dificultades técnicas encontradas durante la fase de producción de la proteína.

El AP4-24H11 poseía una fuerte afinidad de unión (K_d AIP-4 ~ 90 nM) y una elevada especificidad por AIP-4, aunque mostraba un poco de reactividad cruzada por los otros AIPs (K_d AIP-1 ~ 5 μ M; K_d AIP-2 => 25 μ M; K_d AIP-3 => 25 μ M). La capacidad del AP4-24H11 para discriminar entre AIP1 y AIP4 es notable, ya que estos dos oligopéptidos difieren solo en la posición 5 con un residuo de ácido aspártico en AIP-1, y un resto de tirosina en AIP-4. Se seleccionó el AP4-24H11 para evaluación biológica adicional.

Ejemplo 13 – El AP4-24H11 altera la expresión de factores virulentos en *S. aureus*

La α -hemolisina y la proteína A son dos factores de virulencia principal en *S. aureus*, y la expresión de dichas proteínas está regulada estrechamente por las redes de señalización de *S. aureus* que incluyen el sistema *agr* QS basado en AIP. El sistema *agr* QS regulado de forma positiva la expresión de la α -hemolisina, mientras que la producción de proteína A es regulada a la baja por la señalización de QS.

Para determinar si los anticuerpos anti-AIP son capaces de interferir con la señalización QS en *S. aureus*, si el mAb anti-AIP-4 AP4-24H11 podía modular la expresión de la α -hemolisina y la proteína A en cepas de *agr* del grupo IV, se examinaron el RN4850 y el NRS168. Los resultados de la Figura 3A indican que el AP4-24H11 afecta a la expresión y/o la secreción de exoproteínas de *S. aureus*, algunas de las cuales también podrían ser reguladas por los circuitos de *agr* QS. Como se observa en la Figura 4A, el mAb AP4-24H11 puede reducir significativamente la expresión de α -hemolisina en *S. aureus*, y no se observó ninguna actividad hemolítica en placas de agar de sangre con el sobrenadante tratado con AP4-24H11, tal como se muestra en la Figura 3B. Por el contrario, la expresión de proteína A aumentó significativamente por acción del mAb AP4-24H11 en RN4850, lo cual también es consistente con la inhibición de *agr* QS.

La única diferencia estructural entre AIP-1 y AIP-4 es la posición 5, y los datos sugieren que el AP4-24H11 es capaz de unirse a AIP-1 con una afinidad moderada (~ 5 μ M). Por lo tanto, se investigó si el AP4-24H11 podía afectar a la señalización QS en la cepa *agr* de grupo 1, a saber, Wood 46. El AP4-24H11 no fue capaz de bloquear la expresión de α -hemolisina en Wood 46 de forma tan efectiva como en RN4850. Sin embargo, fue evidente un descenso notable en la producción de α -hemolisina en Wood 46 cultivado en presencia de AP4-24H11 (Figura 4A). Estos datos sugieren que es posible generar mAbs de reactividad cruzada que suprimen la señalización QS de *S. aureus* de dos o más grupos *agr* diferentes.

Es posible que la reducción de la producción de toxina y de la secreción general de proteínas esté causada por un defecto de crecimiento mediado por anticuerpos, los resultados indican que no se observaron cambios de crecimiento significativos en *S. aureus* a lo largo de un periodo de crecimiento de 24 horas en presencia de AP4-24H11 (Figura 4B). Adicionalmente, no se observaron efectos de crecimiento discernibles con el mAb SP2-6E11, un control de isotipo no relacionado (κ_{Y2a}) para AP4-24H11.

Uno de los factores virulentos bacterianos importantes regulados por QS es la formación de biopelícula. En *S. aureus*, la formación de biopelícula está regulada negativamente por la señalización *agr* QS, que es uno de los problemas al controlar la virulencia de *S. aureus* mediante la inhibición de *agr* QS. De forma consistente con estudios previos, la inhibición de QS mediada por AP4-24H11 condujo a un aumento de la formación de biopelícula en RN4850 (Figura 4C). Aunque el aumento de la formación de biopelícula representa un problema significativo en la infección crónica de *S. aureus*, se considera un predicamento menor en las infecciones agudas y, por tanto, el mAb AP4-24H11 puede ser un modo efectivo para controlar dichas infecciones de *S. aureus*.

Ejemplo 14 – El AP4-24H11 altera la expresión de factores virulentos interfiriendo con el sistema *agr* QS

Para examinar adicionalmente la inhibición de *agr* QS mediante AP4-24H11, se llevó a cabo un análisis de reacción en cadena de polimerasa en tiempo real (RT-PCR) para evaluar si los cambios observados en la expresión del factor virulento estaban provocados realmente por la interferencia con el sistema *agr* QS, es decir, si la presencia de AP4-24H11 afecta a la transcripción de *rnaIII*, el producto inmediato de la autoinducción de *agr* y el principal efector de QS en *S. aureus*. Como era de esperar, el nivel transcripcional de *rnaIII* en RN4850 durante la fase de crecimiento estacionario se redujo significativamente (> 50 veces), por la acción de AP4-24H11. Por tanto, la alteración de la expresión de α -hemolisina y de proteína A es el resultado directo de la interferencia de la señalización de QS mediada por AIP-4 por acción de AP4-24H11 (Figura 4D). Además, los cambios mínimos en la expresión global de exoproteína (ver la Figura 3) podrían malinterpretarse como que el AP4-24H11 no bloquea la señalización de QS de forma eficiente. Sin embargo, el análisis de RT-PCR proporciona evidencias de que el AP4-24H11 inhibe de forma significativa el QS basado en AIP-4 en *S. aureus* RN4850.

Para analizar la especificidad de la interferencia de QS basada en anticuerpos en *S. aureus*, se investigaron los niveles transcripcionales de dos factores de virulencia adicionales, a saber, *sarA* (regulador accesorio estafilococal) y *saeR* (efector proteínico accesorio estafilococal), que controlan la respuesta al estrés ambiental, así como la expresión de factor de virulencia en *S. aureus*. Cabe destacar que no se observaron cambios significativos (≤ 2 veces) en la transcripción de *sarA* o *saeR*, lo que indica que el AP4-24H11 solo afecta al sistema *agr* QS (Figura 4D).

Se analizó la transcripción de α -hemolisina y de proteína A mediante RT-PCR como se ha indicado anteriormente. Tal como se ha establecido (ver arriba), se observaron cambios significativos en el nivel de expresión de proteína. En términos de transcripción, los genes *hla* y *spa* fueron suprimidos y elevados respectivamente ~ 3 a 5 veces, confirmando de nuevo que el *rnaIII* afecta no solo a la transcripción sino también a la traducción de dichas proteínas. Finalmente, se investigó la transcripción de exfoliatina A (*eta*). La exfoliatina es otra toxina regulada por *agr* QS producida exclusivamente por cepas de *S. aureus* que utilizan AIP-4. Los datos indicaron que el AP4-24H11 también redujo la transcripción de *eta* en ~ 10 veces (Figura 4D).

Ejemplo 15 – Desactivación de AP4-24H11 por el AIP-4 sintético

Para determinar si el AP4-24H11 inhibía el *agr* QS a través de la unión a AIP-4 y su secuestro del medio de crecimiento celular, o si el AP4-24H11 afecta a otros sistemas de señalización en *S. aureus* que incluyen el péptido lineal de inhibición de RNAIII (RAP), que a su vez afecta a la red *agr* QS, se llevó a cabo el siguiente experimento para determinar si la adición externa de AIP-4 podría restaurar la red de señalización de *agr* QS en *S. aureus* RN4850 en presencia de AP4-24H11. Resumidamente, el AP4-24H11 fue tratado con una cantidad equimolar de AIP-4 sintético antes de la adición de *S. aureus* al medio de crecimiento para asegurar la saturación de los sitios de unión de anticuerpo con el péptido AIP-4. Como se observa en la Figura 4E, la adición de AIP-4 sintético redujo de forma eficiente el efecto de parada de quórum del AP4-24H11, y como resultado, restauró completamente la expresión de α -hemolisina en *S. aureus* RN4850. Este descubrimiento proporciona una confirmación adicional de que el AP4-24H11 secuestra al AIP-4 en el medio de crecimiento de *S. aureus* e inhibe la señalización QS dependiente de AIP en *S. aureus* de un modo estrictamente dependiente de AIP-4.

Ejemplo 16 – El AP4-24H11 inhibe la apoptosis inducida por *S. aureus* en células de mamífero

Estudios recientes han demostrado que la incubación células T Jurkat con sobrenadante de cultivo de *S. aureus* da como resultado la inducción de apoptosis. Se trataron células Jurkat con los sobrenadantes de cultivos de *S. aureus* (RN4850 y Wood 46) realizados en presencia o en ausencia de AP4-24H11. Tras una incubación durante 4 horas con el sobrenadante, se evaluó la ruptura de poli(ADP-ribosa) polimerasa (PARP), un marcador bioquímico indicativo de la inducción de apoptosis, en extractos de proteínas de células Jurkat. Tal como se muestra en la Figura 5, el AP4-24H11 evitó la ruptura PARP inducida por sobrenadante de RN4850 (1 %) en células Jurkat, y también inhibió parcialmente el efecto del sobrenadante de Wood 46. Los resultados (Figura 4A y Figura 5) indican una correlación positiva entre la expresión de α -hemolisina y la apoptosis inducida por *S. aureus*.

Ejemplo 17 – El AP4-24H11 bloque la lesión dérmica inducida por *S. aureus* en ratones

A continuación se investigó el potencial del mAb AP4-24H11 para mitigar la lesión inducida por *S. aureus* *in vivo* empleando un modelo de infección subcutánea de ratón. Se suspendieron *S. aureus* RN4850 recién cultivadas de fase logarítmica en PBS que contenía partículas Cytodex y, cuando se indica, AP4-24H11 o IgG de control. Se realizaron inyecciones subcutáneas de suspensión bacteriana o de control de vehículo en el costado de ratones

SKH1 sin pelo, seguidas de una monitorización estrecha a lo largo de siete días. Las dosis administradas fueron 10^7 ó 10^8 bacterias (unidades formadoras de colonia; cfu) y 0,6 ó 0,06 mg de AP4-24H11 o de IgG de control. Los ratones que recibieron 10^7 cfu desarrollaron hiperemia/edema mínimos seguido de una induración limitada a lo largo de 7 días (ver **Figura 6**). Sin embargo, a las seis horas de la inyección los ratones que recibieron 10^8 cfu suspendidas en disolución salina o IgG de control mostraron una hiperemia / rojez de etapa temprana en la zona de inyección y que se extendía 3-5 mm horizontalmente y 5-10 mm verticalmente con un patrón diagonal a lo largo del costado (**Figura 7A**). Tras reexaminar a las 18 horas, las mismas áreas alrededor de la zona de inyección se desvitalizaron, y la piel se transformó en una costra frágil marrón rojiza. Durante el periodo de observación de 7 días, la costra endurecida comenzó a despegarse de la piel de apariencia relativamente normal circundante, y se observaron pequeñas cantidades de exudado purulento en la unión de tejido normal/necrótico. Por el contrario, la lesión cutánea desapareció en los ratones que recibieron 10^8 bacterias con 0,6 mg de AP4-24H11 (**Figura 7C**). Como era de esperar, la menor dosis de AP4-24H11 (0,06 mg) no fue protectora (**Figura 7B**), y los ratones de control que recibieron 10^8 cfu con 0,6 mg de IgG de control no fueron protegidos (ver **Figura 6**). Los ratones que recibieron una inyección de complejo PBS/Cytodex solo o que contenía 0,6 mg de AP4-24H11 permanecieron normales durante el periodo de observación con la excepción de alguna induración local ocasional (**Figura 7D**). Los animales que había recibido la dosis protectora de 0,6 mg de AP4-24H11 en combinación con *S. aureus* RN4850 no desarrollaron ninguna lesión significativa a lo largo del periodo de observación de 7 días.

Ejemplo 18 – Inmunización pasiva con ratones protegidos con AP4-24H11 de fatalidad inducida por *S. aureus*

Para evaluar la eficacia de una estrategia de inmunización pasiva usando AP4-24H11 contra una exposición letal a *S. aureus*, se inyectó a ratones SKH1 sin pelo 1 mL i.p. de AP4-24H11, de IgG de control o de vehículo (DPBS) seguido 2 horas después de 0,5 mL de DPBS⁻ que contenía 3×10^8 *S. aureus* RN4850. Tal como se muestra en la **Figura 8**, todos los ratones que recibieron AP4-24H11 (6/6) sobrevivieron durante el periodo de observación de 8 días. Por el contrario, solo uno de los ratones de control tratados con DPBS (1/6) y ninguno de los ratones de control tratados con IgG de control (0/6) sobrevivieron más de 24 horas. Estos datos validan adicionalmente nuestra estrategia inmunofarmacoterapéutica para combatir infecciones agudas de *S. aureus*.

Ejemplo 19 – Análisis ELISA competitivo de anticuerpos monoclonales contra AP-1, AP-3 y AP-4

Se prepararon los haptenos AP-1, AP-3 y AP-4 y anticuerpos monoclonales específicos para dichos haptenos como se describe en los Ejemplos 4 y 12 anteriores.

Para el análisis ELISA competitivo se determinaron las concentraciones óptimas de los conjugados AP1-BSA, AP3-BSA ó AP4-BSA, así como para cada mAb. Se recubrieron placas ELISA de 96 pocillos con la cantidad apropiada de conjugado AP1-BSA, AP3-BSA ó AP4-BSA, respectivamente. Las placas fueron bloqueadas con un 4% v/v de leche desnatada, se lavaron y se añadieron los mAbs a la concentración óptima predeterminada. Las placas fueron lavadas y se añadió antígeno libre, es decir los AIPs 1-4 nativos, a los pocillos en una serie de concentraciones comenzando en 100 μ M. La placa se incubó durante 1 hora a 37 °C, se lavó intensivamente y se añadió conjugado de peroxidasa de rábano (HRP) anti-ratón de cabra (Pierce, Rockford, IL). Tras un periodo de incubación de 1 hora a temperatura ambiente, la placa se volvió a lavar intensivamente y se añadió el sustrato de HRP (kit de sustrato TMB; Pierce), se dejó desarrollar la reacción durante 15 minutos y se detuvo mediante la adición de H_2SO_4 2 M. Se leyó la absorbancia a 450 nm y los valores se representaron usando GraFit (Erithacus Software Ltd). La concentración de antígeno libre correspondiente a un valor de absorbancia del 50 % de la absorbancia máxima se consideró la K_d del anticuerpo para su antígeno.

Los datos de afinidad y de reactividad cruzada se muestran en las siguientes tablas. Estos datos demuestran que usando la estrategia de haptenos descrita en la presente memoria, se obtienen anticuerpos monoclonales (mAbs) contra el análogo de lactona del péptido de tiolactona nativo como hapteno. Las afinidades de los mAbs oscilan entre bajo nanomolar y alto micromolar, y algunos mAbs, aunque no todos, presentaron reactividad cruzada, es decir reconocían el AIP nativo basado en el cual se diseñó el hapteno original, así como uno o dos de los otros AIPs naturales.

AP1 Sups	AIP1 wt	AIP2 wt	AIP3 wt	AIP4 wt
1H11	> 25 μ M	> 100 μ M	> 25 μ M	> 100 μ M
2A9	> 25 μ M	> 100 μ M	> 25 μ M	> 100 μ M
2C2	~ 800 nM	> 100 μ M	~ 3 μ M	> 100 μ M
2C10	> 25 μ M	> 100 μ M	> 25 μ M	> 100 μ M
2H9	~ 6 μ M	> 100 μ M	> 25 μ M	~ 12 μ M
3B1	~ 6 μ M	> 100 μ M	> 25 μ M	> 100 μ M
3B11	~ 6 μ M	> 100 μ M	> 25 μ M	> 100 μ M

ES 2 603 061 T3

3E11	> 25 µM	> 100 µM	> 25 µM	> 100 µM
4D3	~ 6 µM	> 100 µM	> 25 µM	> 100 µM
6H10	> 25 µM	> 100 µM	> 25 µM	> 100 µM
9A9	~ 6 µM	> 100 µM	~ 12 µM	> 100 µM
9B2	> 25 µM	> 100 µM	> 25 µM	> 100 µM
9B9	Sin datos	Sin datos	Sin datos	Sin datos
9C3	~ 6 µM	> 100 µM	> 25 µM	> 100 µM
9C4	~ 6 µM	> 100 µM	> 25 µM	> 100 µM
9F9	~ 3 µM	> 100 µM	~ 3 µM	> 100 µM
10D6	> 25 µM	> 100 µM	> 25 µM	> 100 µM
10F4	> 25 µM	> 100 µM	> 25 µM	> 100 µM
11B10	~ 3 µM	> 100 µM	> 25 µM	> 100 µM
12A10	> 25 µM	> 100 µM	> 25 µM	> 100 µM
13A11	~ 12 µM	> 100 µM	> 25 µM	> 100 µM
13H3	> 25 µM	> 100 µM	> 25 µM	> 100 µM
15B4	~ 800 nM	> 100 µM	~ 1 µM	> 100 µM
15G12	> 25 µM	> 100 µM	> 25 µM	> 100 µM
16E11	> 25 µM	> 100 µM	> 25 µM	> 100 µM
16F4	~ 25 µM	> 100 µM	> 25 µM	> 100 µM
16G9	~ 12 µM	> 100 µM	> 25 µM	> 100 µM
17F5	~ 12 µM	> 100 µM	> 25 µM	> 100 µM

AP3 Sups	AIP1 wt	AIP2 wt	AIP3 wt	AIP4 wt
18A7	> 625 µM	> 625 µM	> 625 µM	> 625 µM
21C4	156 µM	> 625 µM	> 625 µM	> 625 µM
21E10	> 625 µM	> 625 µM	> 625 µM	> 625 µM
21H11	> 625 µM	> 625 µM	> 625 µM	> 625 µM
22B3	> 625 µM	> 625 µM	> 625 µM	> 625 µM
22D1	156-312 µM	> 625 µM	78 µM	> 625 µM
22E12	> 625 µM	> 625 µM	> 625 µM	> 625 µM
22H10	156 µM	> 625 µM	312 µM	> 625 µM
23C9	> 625 µM	> 625 µM	> 625 µM	> 625 µM
23H1	> 625 µM	> 625 µM	> 625 µM	> 625 µM
24H9	> 625 µM	> 625 µM	> 625 µM	> 625 µM
25A3	> 625 µM	> 625 µM	> 625 µM	> 625 µM
25E2	> 625 µM	> 625 µM	> 625 µM	> 625 µM
25E9	156 µM	> 625 µM	> 625 µM	> 625 µM
25F5	625-312 µM	> 625 µM	156-312 µM	> 625 µM
26A2	> 625 µM	> 625 µM	> 625 µM	> 625 µM
26G3	> 625 µM	> 625 µM	> 625 µM	> 625 µM
26G11	> 625 µM	> 625 µM	> 625 µM	> 625 µM
27E1	> 625 µM	> 625 µM	> 625 µM	> 625 µM
28H8	> 625 µM	> 625 µM	> 625 µM	> 625 µM
29A2	~ 9,8 µM	> 625 µM	~ 612 nM	> 625 µM

29B8	> 625 µM	> 625 µM	> 625 µM	> 625 µM
29D5	> 625 µM	> 625 µM	> 625 µM	> 625 µM
30C9	156 µM	> 625 µM	> 625 µM	> 625 µM
30H8	> 625 µM	> 625 µM	> 625 µM	> 625 µM
30H11	156 µM	156 µM	4,9-2,5 µM	> 625 µM

AP4 Sups	AIP1 wt	AIP2 wt	AIP3 wt	AIP4 wt
9G2	> 25 µM	> 25 µM	> 25 µM	~ 700 nM
12A2	> 25 µM	> 25 µM	> 25 µM	> 25 µM
13G5	> 25 µM	> 25 µM	> 25 µM	> 25 µM
15B3	> 25 µM	> 25 µM	> 25 µM	> 25 µM
15C3	> 25 µM	> 25 µM	> 25 µM	> 25 µM
15E8	> 25 µM	> 25 µM	> 25 µM	> 25 µM
16D1	> 25 µM	> 25 µM	> 25 µM	> 25 µM
17G2	> 25 µM	> 25 µM	> 25 µM	> 25 µM
18D3	> 25 µM	> 25 µM	> 25 µM	> 25 µM
18G10	> 25 µM	> 25 µM	> 25 µM	> 25 µM
22B8	> 25 µM	> 25 µM	> 25 µM	> 25 µM
22D9	> 25 µM	> 25 µM	> 25 µM	> 25 µM
22F2	> 25 µM	> 25 µM	> 25 µM	> 25 µM
22G7	> 25 µM	> 25 µM	> 25 µM	> 25 µM
23C4	> 25 µM	> 25 µM	> 25 µM	> 25 µM
23E6	~ 6 µM	> 25 µM	> 25 µM	~ 390 nM
24H11	~ 5 µM	> 25 µM	> 25 µM	~ 98 nM
26E8	> 25 µM	> 25 µM	> 25 µM	> 25 µM
27E9	> 25 µM	> 25 µM	> 25 µM	> 25 µM
29E10	~ 3 µM	> 25 µM	> 25 µM	~ 24 nM

Todos los hibridomas competitivos fueron re-evaluados, mostrándose el promedio. El AP4-29E10 fue evaluado 5 veces distintas, mostrando una variabilidad que oscila entre 2 nM y 110 nM, pero centrada principalmente alrededor de 24 nM.

5

Las secuencias de aminoácidos y de nucleótidos correspondientes a anticuerpos monoclonales seleccionados fueron determinadas, y se muestran en las Tablas presentadas a continuación.

Secuencias de aminoácidos de las cadenas variables pesadas y ligeras de anticuerpos monoclonales de ratón

Anticuerpo	Cadena pesada variable	Cadena ligera variable
AP1-15B4	EVHLVESGGDLVKPGGSLKLS CAASGFASFDFAMSWVRQTP KRLEWVAIIKSDSYTYYPDS VRDRFTISRDNARNTLYLQMT SLRSEDALYYCTKIYDAYFY AMDYWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO: 19)	DIVRTQSPSLSLSVSLGDQASISC RSSQSLLSNNGNTYLHWYLPKPG QSPKLLIYKVSNRFGVDPDRFSG SGSGTDFTLKISILEAEDLGIYF CSQSTHFPTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 147)

AP4-24H11	EVKPQESGPGLVKPSQSLSLT CTVTGYSITSNYAWNWIROFP GNKLEWMGFISSYGTTYNPS LKSRSITRDTSKNQFFLQLH SVTIEDTGTIFYCTREGDYWGQ GTTLTVSS (SEQ ID NO: 20)	DIVMTQATLSLPVSLGDQASISC RSSQRLVPSNGNIYHLWFLQKPG QSPKLLIYKLSSRFSGVPDRFSG SGSGTDFTLKISRVESEDGIYF CSQTHVPYTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 148)
AP4-29E10-1	EVQLQQSGPELEKPGASVKIS CKASGHSFTGYNMNWKQSN KSLEWIGNIAPYYGVTAYNQK FKGKATLTGDKSSSTAYMQLK SLASEDSAVYYCVLDTSGYAS WGQGTILVTVSA (SEQ ID NO: 21)	DIVMTQATASLTVSLGQRATISC RASKSVSTSGYSYMHWYQQKPGQ PPKLLIYLASNLESGVPARFSGS GSGTDFTLNHPVEEEDAATYYC QHSREVPYTFGGGKLELK (SEQ ID NO: 149)
AP4-29E10-2	QVQLQQSGPELEKPGASVKIS CKASGHSFTGYNMNWKQSN KSLEWIGNIAPYYGVTAYNQK FKGKATLTGDKSSSTAYMQLK SLTSEDSAVYYCVLDTSGYAS WGQGTILVTVSA (SEQ ID NO: 22)	DIEMTQITASLTVSLGQRATISC RASKSVSTSGYSYMHWYQQKPGQ PPKLLIYLASNLESGVPARFSGS GSGTDFTLNHPVEEEDAATYYC QHSREVPYTFGGGKLELK (SEQ ID NO: 150)
AP1-15B4-Δ	GGDLVKPGGSLKLSCAASGFA FSDFAMSWVRQTPKRLEWVA IIKSDDSYTYYPDSVRDRFTI SRDNARNTLYLQMTSLRSED ALYYCTKIYDAYFYAMDYWGQ GTS (SEQ ID NO: 23)	PLSLSVSLGDQASISCRSSQSL HSNGNTYLHWYLOKPGQSPKLLI YKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDF TLKISILEAEDLGIYFCSQSTHF PTFGGGT (SEQ ID NO: 151)
AP4-24H11-Δ	GPGLVKPSQSLSLTCTVTGYS ITSNYAWNWIROFPGNKLEWM GFISSYGTTYNPSLKSRSI TRDTSKNQFFLQLHSVTIEDT GTIFYCTREGDYWGQGT (SEQ ID NO: 24)	TLSPVSLGDQASISCRSSQRLV PSNGNIYHLWFLQKPGQSPKLLI YKLSSRFSGVPDRFSGSGSGTDF TLKISRVESEDLGIYFCSQTHV PYTFGGGT (SEQ ID NO: 152)
AP4-29E10-1-Δ	GPELEKPGASVKISCKASGHS FTGYNMNWKQSNCKSLEWIG NIAPYYGVTAYNQKFKGKATL TGDKSSSTAYMQLKSLASEDS AVYYCVLDTSGYASWGQGT (SEQ ID NO: 25)	TASLTVSLGQRATISCRASKSVS TSGYSYMHWYQQKPGQPPKLLIY LASNLESGVPARFSGSGSGTDF LNHPVEEEDAATYYCQHSREVP YTFGGGT (SEQ ID NO: 153)
AP4-29E10-2-Δ	GPELEKPGASVKISCKASGHS FTGYNMNWKQSNCKSLEWIG NIAPYYGVTAYNQKFKGKATL TGDKSSSTAYMQLKSLTSEDS AVYYCVLDTSGYASWGQGT (SEQ ID NO: 26)	TASLTVSLGQRATISCRASKSVS TSGYSYMHWYQQKPGQPPKLLIY LASNLESGVPARFSGSGSGTDF LNHPVEEEDAATYYCQHSREVP YTFGGGT (SEQ ID NO: 154)

Secuencias de ácidos nucleicos que codifican las cadenas variables pesadas y ligeras de anticuerpos monoclonales de ratón

Anticuerpo	Cadena pesada variable	Cadena ligera variable
AP1-15B4	gaggtgcacctgggtgagctctgggggagacttagtgaagcctggggg tccctcaactctcctgtgcagcctctggtatcgcttccagtacttt gccatgtcttgggttcgagactccggagagaggtggagtggtc gcaattataaagtgatgattcttacacctactatccagacagtgtg aggacccattcaccatctccagagacaaatgccaggaaacccctttac ctgcaaatgaccagctctgaggtctgaagacacggcctgtattactgt acaaaaatctatgatgttacttctctatgctatgactactgggtcaa ggaacctcagtcacgcgtctcctcg (SEQ ID NO: 27)	gacattgtgaggacacagctctccactctccctgtctgtcagttggag atcaagcctccatctctgtagatctagtcagagccttttacacagtaa tggaaacacctatttacattgttacgtcagaaagccaggtctcca aaactcctgatctacaaagtttccaaacgatttctgggtcccagaca ggttcagtgctgaggtgagtcaggagacagatttcacactcaagatcagcat attggaggtcaggtatctgggaattttatttctgtctcaagtacacat tttccgacgttcggtgaggaccacaaagctggaataaaaa (SEQ ID NO: 155)
AP4-24H11	gaggtgaagcctcaggagtcaggacctggcctgggtgaaaccttctcag tctctgtccctcactgcactgtcactggctactcaatcacacagtaaat tatgccttgaaactggatccggcagtttccaggaaacaaactggagtggtg atggccttcataaagtctcctatggaacctactacacaccttctctc aaaagtcgattctctatcactcagagacacatccaaagacagttcttc ctgcaattgcattctgtgactattgagacacagggcacatatattctgt acaagagaggtgactactggggccaaaggcaccactctcacagtctcc tca (SEQ ID NO: 28)	gacattgtgatgactcaggctacactctccctgcctgcctgtcagttggag accaagcctccatctcttgcagatccagtcagcgttctgttccagtaa tggaaacatttattacattggttccctgcagaagccaggtcagttcca aagctcctgatctacaaacttccagtcgatttctgggtcccagaca ggttcagtggtcagtgatcaggagacagatttcacactcaagatcagcag agtgagtgctgaggtatctgggaattttatttctgtctcaaaactacacat gttccatacacgttccgaggggggaccaaagctggaaatacaaa (SEQ ID NO: 156)
AP4-29E10-1	gaggtccagctgcaaacagtcgagcctgagctggagagcctggcgct tcagtgaaagatatcctgcaaggcttctgttcattcattcactggctac aacatgaactgggtgaagcagagcaatgacaagagccttgagtggtt ggaaatattgctccttactatggtgttactgcctacacacagaaagttc aagggaaggccacattgactggagacaaatccctcagcactgcctac atgcagctcaagagcctggcatctgaggactctgagtcattactgt gtcctagacacctggggtacgcttctctggggccaaagggactcttggt actgtctctgca (SEQ ID NO: 29)	gacattgtgatgactcaggctactgtcttcttaactgtatctctggggc agagggccaccatctcatgcaggccagcaaaagtgtcagttacatctgg ctatagttatatgcactggtaccaaagacagaaacccaggtacacccaaa ctcctcatctatcttgcatccaaacctagaatctgggtccctgccaggt tcagtggtcagtggtctgggacagacttaccctcaacatccatcctgt ggagggagggatgctgcaacctattactgtcagcagtagggaggtt ccgtacacgttcggaggggggaccaaagctggagctgaaa (SEQ ID NO: 157)
AP4-29E10-2	caggtccagctgcagcagctctgggctgagctggagagcctggcgctt cagtgaaagatatcctgcaaggcttctgttcattcattcactggctacaa catgaactgggtgaagcagagcaatgacaagagccttgagtggttggaa aatattgctccttactatggtgttactgcctacacacagaaagttcaagg gcaaggccacattgactggagacaaatccctcagcactgcctacatgca gctcaagagcctgacatctgaggactctgagtcattactgtgtccta gacacctggggtacgcttctctggggccaaagggactctgtggtcactgtct ctgca (SEQ ID NO: 30)	gacattgagatgaccacagattactgttcttcaactgtatctctggggc agagggccaccatctcatgcaggccagcaaaagtgtcagttacatctgg ctatagttatatgcactggtaccaaagacagaaacccaggtacacccaaa ctcctcatctatcttgcatccaaacctagaatctgggtccctgccaggt tcagtggtcagtggtctgggacagacttaccctcaacatccatcctgt ggagggagggatgctgcaacctattactgtcagcagtagggaggtt ccgtacacgttcggaggggggaccaaagctggagctgaaa (SEQ ID NO: 158)

AP1-15B4-Δ	gggggagacttagtgaaagcctggggggtccctcaaaactctctctgtgca gcctctggattcgctttcagtgactttgcccattgctctgggttgcag actccggagaagagctggagtggtcgcaatcattaaaaagtgatgat tcttacacctactatccagacagtgtagggaccgattcaccatctcc agagacaaatgccaggaaacacccctttacctgcaaatgaccagctgagg tctgaagacacggccttgattactgtacaaaaatctatgatgcttac tcttatgctatggactactggggtcaaggaaacctca (SEQ ID NO: 31)	ccactctccctgtctgtcagttcttgagagatcaagcctccatctcttgta gatctagtcagagccttttacacagtaaatggaaacacactatttacattg gtacctgcagaagccagccagctctccaaactcctgatctacaaagt tccaaaccgattttctgggtcccagacaggttcagtggcagtgatcag ggacagatttcacactcaagatcagcatattggaggctgaggatctggg aatttattctgctctcaaggtacacattttccgacgttcgggtggaggc acc (SEQ ID NO: 159)
AP4-24H11-Δ	ggacctggcctggtgaaaccttctcagttctgtctgtccctcaacctgcact gtcactggctactcaatcaccagtaattatgctggaaactggatccgg cagtttccaggaaacaaactggagtggtggcttcataagttcctat ggaacctactacctacaaccttctctcaaaagtgcattctctatcact cgagacacatccaagaacacagttcttctcgcaattgcattctgtgact attggagcacagggcacatatcttctgtacaagagaggggtgactactgg aaccaaaaccaccact (SEQ ID NO: 32)	acactctccctgcctgtcagttcttgagagacaaagcctccatctcttgca gatccagtcagcgccttgttcccagtaaatggaaacatttattacattg gttctgcagaagccagggccagctctccaaagctcctgatctacaaactt tccagtcgattttctgggtcccagacaggttcagtggcagtgatcag ggacagatttcacactcaagatcagcagagtgaggctgaggtctggg aatttattctgctctcaaaactacacatgttccatacacgttcggaggg ggacc (SEQ ID NO: 160)
AP4-29E10-1-Δ	ggacctgagctggagaagcctggcgcttcagtgaaagatatcctgcaag gcttctggtcattcattcactggctacaacatgaactgggtgaagcag agcaatgacaagagccttgagtgattggaaatatgtctccttactat gggttactgcctacaacagaagttcaagggcaaggccacattgact ggagacaaatcctccagctgcctacatgcagctcaagagcctggca tctgaggactctgcagttattactgtgtccttagacacacctcgggctac gcttctctggggccaaaggactctg (SEQ ID NO: 33)	actgcttcccttaactgtatctctggggcagagggccaccatctcatgca ggggcagcaaaagtgtcagtaacatctggctatagttatatgcactggta ccaaacagaaaccaggacagccaccccaaaactcctcatctcttgcaccc aacctagaatctgggtccctgccaggttcagtggcagtggtctggga cagactcacccctcaacatccatcctgtggaggaggaggtgctgcaac ctattactgtcagcacagtagggagggttccgtacacgttcggagggggg acc (SEQ ID NO: 161)
AP4-29E10-2-Δ	gggcctgagctggagaagcctggcgcttcagtgaaagatatcctgcaagg cttctggtcattcattcactggctacaacatgaactgggtgaagcagag caatgacaagagccttgagtgattggaaatatgtctccttactatggt gttactgcctacaacacagaagttcaagggcaaggccacatgactggag acaaatcctccagcactgcctacatgcagctcaagagcctgacatctga ggactctgcagttctattactgtgtccttagacacacctcggggtacgttcc tggggcccaaggactctg (SEQ ID NO: 34)	actgcttcccttaactgtatctctggggcagagggccaccatctcatgca ggggcagcaaaagtgtcagtaacatctggctatagttatatgcactggta ccaaacagaaaccaggacagccaccccaaaactcctcatctcttgcaccc aacctagaatctgggtccctgccaggttcagtggcagtggtctggga cagactcacccctcaacatccatcctgtggaggaggaggtgctgcaac ctattactgtcagcacagtagggagggttccgtacacgttcggagggggg acc (SEQ ID NO: 162)

Ejemplo 20 – Evaluación de otros anticuerpos anti-AIP

Se evaluó la capacidad de ruptura del quórum de algunos de los anticuerpos anti-AIP recién obtenidos, p.ej. los anticuerpos anti-AP1 y anti-AP3. Para las cepas del grupo I (RN6390B y Wood 46), se evaluaron dos anticuerpos monoclonales, AP1-2C2 y AP1-15B4, que mostraron una elevada afinidad hacia AIP-1 en el ensayo ELISA competitivo. La Figura 9 muestra que los anticuerpos anti-AP1 también inhiben de forma eficiente la percepción de quórum de las cepas del grupo I, dando como resultado cambios en la expresión de factores virulentos. Adicionalmente, también se evaluaron los anticuerpos anti-AP3 contra una de las cepas del grupo III, RN8465. Debido a la baja expresión de exoproteína en RN8465, los efectos de ruptura del quórum no se determinaron con precisión.

Ejemplo 21 – Efectos terapéuticos de vacunas basadas en péptido cíclico

Para evaluar la eficacia de las vacunas basadas en péptidos cíclicos, se llevaron a cabo los siguientes experimentos. Los calendarios de vacunación activa y pasiva son los siguientes:

Calendario de vacunación activa

15	Título inicial:	día -1	
	Inmunización inicial:	día 0	50-200 µg de proteína
	Título pre-recuerdo 1:	día 6	
	Recuerdo 1:	día 7-14	
		(1-2 semanas desde la inmunización inicial)	50-200 µg de proteína
20	Título pre-recuerdo 2:	día 20	
	Recuerdo 2:	día 21-28	
		(1-2 semanas desde el recuerdo 1)	50-200 µg de proteína
	Título pre-exposición:	día X (1 día antes de la exposición)	
	Exposición	día X (1 semana antes del recuerdo 2)	

Calendario de vacunación pasiva

25	Título inicial:	día -1	
	Inmunización:	día 0	100-1000 µg de IgG/ratón
	Título pre-exposición:	día 1	
	Exposición	día 2	

Las vacunas se administran mediante inyección intravenosa, intramuscular, intraperitoneal o subcutánea a ratas Balb/c macho de 25-30 g y de entre 8-12 semanas de edad. En cada grupo de tratamiento se incluyen 20 animales.

Para determinar si la vacuna protege al animal frente a una exposición a sistema letal, se usa la cepa de *S. aureus* de cualquiera de un grupo agr conocido. Se administran aproximadamente 10^8 - 10^9 C.F.U. de las bacterias mediante inyección intraperitoneal. Se determinan las temperaturas corporales y la supervivencia cada 12 horas. La muerte o la supervivencia después de 10 días representan el punto final del estudio. Los detalles adicionales se han descrito anteriormente.

Para determinar si la vacuna protege al animal frente a sepsis, se usa la cepa de *S. aureus* de cualquiera de un grupo agr conocido. Se administran aproximadamente 10^7 - 10^8 C.F.U. de las bacterias mediante inyección intravenosa. De este modo, la *S. aureus* se administra directamente a la corriente sanguínea y se extiende hematogéneamente por todo el cuerpo. Se determinan las temperaturas corporales y la supervivencia cada 12 horas. La muerte o la supervivencia después de 10 días representan el punto final del estudio.

Para determinar si la vacuna protege al animal frente a artritis séptica, se usa la cepa LS-1 de *S. aureus* (una cepa adaptada a ratón perteneciente al grupo agr 1), o cualquier cepa de un grupo agr conocido que sea capaz de producir espontáneamente artritis. Se administran aproximadamente 10^6 - 10^7 C.F.U. de las bacterias mediante inyección intravenosa. Se determinan las temperaturas corporales y la supervivencia cada 12 horas, el hinchamiento de articulaciones (puntuación), la rojez, cambios en los patrones de movimiento y morbilidad. La muerte o la supervivencia después de 28 días representan el punto final del estudio.

Para determinar si la vacuna protege al animal frente a un absceso renal, se usa la cepa de *S. aureus* de cualquier grupo agr conocido. Se administran aproximadamente 10^6 - 10^7 C.F.U. de las bacterias mediante inyección intravenosa. Los animales son evaluados en base a la actividad, estado de alerta y condición del pelo (puntuación 0-2 para normal, ligeramente anormal, muy anormal). Adicionalmente, se extraen los riñones asépticamente y se evalúan histológicamente (formación de absceso; 0 – no abscesos visibles; 1 – 1 absceso pequeño; 2 – varios abscesos; y 3 – riñones con abscesos graves) y se recuperan los recuentos de C.F.U. a partir de riñones homogeneizados. La muerte o la supervivencia después de 7 días representan el punto final del estudio.

Se puede usar el mismo modelo para determinar si las vacunas pueden bloquear la formación de abscesos renales, en cuyo caso se considera el comportamiento general y el absceso renal en base a evaluación histológica de los riñones.

Para determinar si la vacuna protege al animal frente a una propagación por todo el cuerpo, así como de colonizar un catéter, se usa el modelo de cuerpo extraño. Se implanta un trozo de catéter en un espacio subcutáneo del ratón. Después de 24 horas se administra una suspensión de cepa de *S. aureus* de cualquier grupo agr conocido mediante inyección subcutánea de aproximadamente 10⁶-10⁸ C.F.U. en el lecho del catéter. Se evalúa la capacidad de las bacterias para propagarse por todo el cuerpo y para colonizar el catéter determinando la temperatura corporal, la supervivencia cada 12 horas, la formación de abscesos subcutáneos y el recuento de C.F.U. recuperadas del catéter a diversos tiempos. La muerte o la supervivencia después de 7 días representan el punto final del estudio. De forma alternativa, en este modelo se podría usar un catéter colonizado.

Para determinar si la vacuna protege al animal frente a mastitis, se administró a ratones CD1 lactantes mediante inyección intramamaria de aproximadamente 10²-10⁴ C.F.U. de una cepa de *S. aureus* de cualquier grupo agr conocido. Se determinó el recuento de C.F.U. de las glándulas mamarias a diversos tiempos y se expresó como C.F.U./glándula o C.F.U./gramo de tejido mamario. También se evalúa la cantidad de leche presente en la glándula y la supervivencia, y la muerte o la supervivencia a los 5 días marcan el punto final del estudio. Éste es un modelo establecido de mastitis bovina provocado por infección intramamaria que induce la inflamación de la glándula mamaria. El *S. aureus* provoca mastitis clínica, pero más frecuentemente produce infecciones subclínicas que tienden a hacerse crónicas y difíciles de erradicar mediante terapias antimicrobianas convencionales.

Ejemplo 22 – La vacunación activa con AP4-KLH protege a los ratones frente a una exposición sistémica letal a *S. aureus*

Se inmunizó ratones i.p. con 100 µg del inmunoadyuvante junto con ADN bacteriano que contenía como adyuvantes oligodesoxinucleótidos que contienen estructuras de dinucleótido citosina-guanosina no metiladas (CpG-ODNs). Chuang et al., *J Leukoc Biol* 71: 538-44 (2002). Los animales recibieron inmunizaciones de recuerdo 7 días y 21 días después de la vacunación inicial. Se tomaron muestras de suero para análisis del título de anticuerpos anti-AIP-4 de todos los animales antes del experimento de infección.

Los resultados que ilustran los efectos protectores de la vacunación en ratones SKH1 sin pelo que habían recibido 0,5 mL de PBS i.p. que contenían 3 x 10⁸ *S. aureus* RN4850 (Park et al., *Chem Biol* 14: 1119-1127 (2007)) se resumen en la siguiente tabla.

La vacunación activa contra AIP4 protege a los ratones frente a una exposición letal a *S. aureus*

Vacuna	Supervivientes
AIP4-KLH	4/6
KLH	1/6
PBS	2/6

Como se ha mostrado anteriormente, 4 de los 6 ratones que recibieron el conjugado AP4-KLH sobrevivieron durante el periodo de observación de 8 días. Por el contrario, solo uno de los ratones de control vacunados con KLH (1/6) y 2 de los ratones inmunizados con PBS (2/6) sobrevivieron al periodo de observación.

El análisis de los títulos de anticuerpos reveló que los conjugados y el protocolo de inmunización provocaron una respuesta inmune con títulos en el rango de 1:1000, es decir, la dilución a la cual el 50% de la fuerza de señal máxima se sigue observando, evaluado usando metodología ELISA estándar. Este análisis también demostró que la inmunización inducía una respuesta inmune específica de AIP-4 con reactividades cruzadas para AIP1 y AIP3 (títulos anti-AIP4: hasta 1:6400; títulos anti-AIP1: hasta 1:6400; títulos anti-AIP3: hasta 1:3200).

Ejemplo 23 – Evaluación de anticuerpos anti-AIP1

Todos los mAbs anti-AIP1 obtenidos fueron evaluados contra la cepa RN6390B de *S. aureus* del grupo I. Los resultados de la **Figura 10B** muestran que una serie de anticuerpos anti-AIP1 inhibieron eficientemente la percepción de quórum del *S. aureus* de grupo I dando como resultado cambios en la expresión de hemolisina. El mAb AP1-15B4 (nº4) exhibió la actividad más potente en los experimentos de inmunización.

La formación de biopelícula mediante la cepa RN6390B de *S. aureus* también fue evaluada en presencia del mAb AP1-15B4, ya que no se había descrito un aumento de la formación de biopelícula en respuesta a la inhibición de señalización *agr* QS en *S. aureus*. Los resultados de la **Figura 10B** muestran un aumento en la formación de biopelícula por la cepa RN6390B de *S. aureus* en presencia del mAb AP1-15B4.

Ejemplo 24 – Selección de anticuerpos scFv humanos usando tecnología de presentación de fagos

- 5 Se realizó un escrutinio de una biblioteca de presentación de fagos generada usando el método descrito por Gao et al. (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99: 12612-6 (2002)) usando los conjugados AP1-BSA, AP3-BSA y AP4-BSA para identificar anticuerpos scFv anti-AIP-1, AIP-3 y anti-AIP-4. Las partículas de fagos presentadoras de anticuerpos fueron substraídas frente a BSA primero para eliminar clones específicos de BSA, así como ligandos no específicos. Después de 4 rondas de cribado, los clones seleccionados fueron analizados mediante secuenciamiento de ADN y ELISA contra BSA y AP1-BSA, AP3-BSA y AP4-BSA. En las siguientes tablas se muestran las secuencias de aminoácidos de los anticuerpos scFv, las secuencias de ADN que codifican las cadenas variables pesadas y ligeras, así como las secuencias de ADN que codifican los anticuerpos scFv.

Secuencias de aminoácidos de anticuerpos scFv humanos

AP1-2	QVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYSTSHWISWRQMPGKGLWMMGRIDPDSYSNYSFQGHVVISVDKSIISTAYLQWSSLKASDTAIYY CARQLIVVPAAPYYYYGMDVWGQGLTVTVSSGGGGGGGGGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQTVNSYLAWYQKPGQAPRLI IYGASSRATGIPDRFSGSGGTDFLTISRLEPEDFAVYQCQYGGSSHPWTFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 35)
AP1-6	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVKSCASGGTFSSYAI SWVRAPQPGQGLWMMGGIPIFGTANYAQKFGQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAIYY CARVFGSESDPDIWSGYGMEVWGQGLTVTVSSGGGGGGGGGGGGSEIVMTQSPSSASVSGDRVTITCRASQGISWLA WYQKPGKAPK LLIYAASSLQSRVPSRFSGSGGTDFLTITSSLPQEPEDFAVYQCQANSFPYTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 36)
AP1-8	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVKSCASGGTFSSYAI SWVRAPQPGQGLWMMGGIPIFGTANYAQKFGQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAIYYC ARAGITGTTAPPDYWGQGLTVTVSSGGGGGGGGGGGGSEIVMTQSPSSASVSGDRVTITCRASQGISWLA WYQKPGKAPKLLIYAASSLQ GVTSRFSGSGGTDFLTITSSLPQEPEDFAVYQCQSYSTPTFGGKLEIK (SEQ ID NO: 37)
AP1-11	QVQLVQSGSELKPKGASVKLSKRASGYTFTSYSMVWRAPGEGLEWMMGGINTNGNTYAQGFRTFVTFSDSVSTAYLQISSLKAEDTAIYY CARDWAYSGSNPLGQNP SDHWGQGLTVTVSSGGGGGGGGGGGGSEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSRNLAWYQKPGQAPRLIY DTSTRATGIPARFSGSGGTDFLTITSSLOESDAVYCCOYINWPPPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 38)
AP1-15	QVQLQQWAGLLKPKSETLSLTCAVYGGSFSGYRTWIRQSPVKGLEWIGEVNDRGSENYNPSFKSLRTISIDTSKNLSLKLRFMTAADTAVYSCA RIRPRYGMVWGQGLTVTVSSGGGGGGGGGGGGSEIVMTQTPLSPPVTLQGPASISCRSSQSLVHSDGNTYLTWTFHQRPGQPPRVLIHKVSNL FSGVPDRFSGSGGTDFLTISRVEAEDVGVYCMQATQLYTFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 39)
AP1-16	EVQLVQSGAEVKKPGASVKSVKSGYTLTSLSMHWVRQAPGKGLWMMGGIDPEDEGTISAQKFGQGRVTMTEDTSTDTAYMDLSSLRSEDTAIYYC ATQRLCSGGRCYSHFDYWGQGLTVTVSSGGGGGGGGGGGGSETTLTQSPAIMSASPGERVMTCSASSIRIYIYQKPGSSPRLLIYDTSNV APGVPRFSGSGGTSYSLTINRMEAEADAATYCCQEWSSGYPTFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 40)
AP1-19	QMQLVQSGAEVKKPGSSVKVKSCASGGTFNTYVISWRQAPGQGLWMMGWI SAYNGNTNYAQKLGQGRVTMTTDTSTSTAYMELSLRSDDTAVYY CARVWSPLDYWGQGLTVTVSSGGGGGGGGGGGGSEIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNMNLAWYQKPGQPPKLLIYWAST RESGVPRFSGSGGTDFLTITSSLQAEADA VYCCOYIYSTPTFGGKLEIK (SEQ ID NO: 41)
AP3-1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVKCKSGYTFYGYMHWVRQAPQGLWMMGWINPNNGNTNYDQKFGQGRVAMTRDTSTSTAYMELSLRSDDTAVYY CARDNGRVTTCGYWGQGLTVTVSSGGGGGGGGGGGGSEIVLTQPSLSGAPGQSVTISCAGTSSIGAGYDVQWYQQLPGKTPKLLIYGNDR PSGVPRFSGSRSYTSASLVITRVQIEDEADYCCQSYDSSLIGPQFGGGTKLTVLG (SEQ ID NO: 42)
AP3-2	QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCTASGYNFASYWIGWRQMPGQGLWMMGIIYPGDSDFRYSFQGVQVTISADKSIISTAYLQWSSLKASDTATYY CVRRVPLYTNHLYDWGQGLTVTVSSGGGGGGGGGGGGSAIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISNYLAWFQKPGKAPKSLIYAASS LOSGVPSKYSGSGGTDFLTITSSLOPEDFAVYCCOYKSYPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 43)
AP3-3	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVKSCASGYTFTSDYFMHWVRQAPGQGLWMMGVINPTGGSTTYAQSFQGRVTMTDTSTSTAYMELSSLRSEDTAIYY CTRVGYYGMDVWGQGLTVTVSSGGGGGGGGGGGGSEIVMTQSPSTLSASVGDRTITCRASQSTSRFLN WYQKPGKAPKLLIYAASSLHSGV PSRFSGSGGTDFLTITSSLOPEDFAVYCCOOTSYPPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 44)
AP3-5	QVQLVQSGGGVVQGRSLRLSCAASGFTFTNFGMHWVRQAPGKGLWVALIISDGYRQAYADSVKGRFTISGDNSKNTVYIQMNSLTSEDTAIYY CAIIPVLRIFDWEFDYWGQGLTVTVSSGGGGGGGGGGGGSETTLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSPYLAWYQKPGQAPRLIYGA SNRATGIPDRFSGSGGTDFLTITSSLOAEDEAVYCCOYNTPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 45)
AP3-6	QVQLQQWAGLLKPKSETLSLTCAVYSGFTRDYWGVIROPFGKGLWIEIGEINHSNTNYNPSLKRVTTSVDKSKNQFSLKLTSTVAADTAIYYC ARRRLSSDLFMRGVGMDVWGQGLTVTVSSGGGGGGGGGGGGSEIVMTQTPGTISSSPGERATLSCRASQGVSSNNLAWYQKPGQAPRLIYD ASNRATGIPDRFSGSGGTDFLTISRLEPEDFAVYCHQYGSSTPTFGGKVEIK (SEQ ID NO: 46)
AP3-8	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVKSCASGYTFTSYGISWRQASQGLWMMGWI SAYNGNTNYAQKLGQGRVTMTTDTSTSTAYMELSLRSDDTAVYY CARVPRYFDWLLYGDYFDYWGQGLTVTVSSGGGGGGGGGGGGSEIVMTQSPSTLSVSGDRVTITCRASQGISWLA WYQKPGKAPKLLIY AASSLOSVPDRFSGSGGTDFLTITSSLOPEDFAVYCCOANSFPLTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 47)

AP3-10	QVQLVQSGAEVKEPGSSVKVSKASGGTFSSYAIYWRQAPGQGLEWMGWIIPILGIANYAQKFGQGRVITITADKSTSTAYMELSSLSRSEDYAVYCA ARAAGHSTNYYYGMDVWGQGLVTVSSGGGGGGGGSSQTVVTOEPSLTVSLGGTVTLTLCSSSTGAVTSCHYPYWFQKPGQAPRTLIYDT SNKHSWTPAREFSGSIIIGCKAAITLSGAQPEDEAEVYCIISYSGTRVFGGGTKITVLG (SEQ ID NO: 48)
AP3-13	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTNYMHWRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFGQGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLSRSEDYAVY CARDKEYSRIGYFDYWGQGLVTVSSGGGGGGGGSSYELMQPSSVSPGTARITCSGDLAKKCARWFQKPGQAPVLIYIKDSER PSGIPEFSGSSSGTITLTISGAQVEDEADYCYSAADNLLGVFGGGTKVTVLG (SEQ ID NO: 49)
AP3-20	QITLKESGPALVKPTQTLTLTCNFSGLSTYGGGVGNLRQPPGKALEWLAVIYWSGKRYSPSVKNRLTITKDTSKNHVVLTMNTNMDPVDYATY YCAHLMMDTSITTHWFDPWGQGLVTVSSGGGGGGGGSSAIRMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISNYLAWYQKPGKAPKLLIYAA STLQSGVPSRFSGSGGTDFLTITISLQPEDVATYYCQKYNAPGTFGGTKVEIK (SEQ ID NO: 50)
AP4-8	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYFTFTNYFIHWVRQAPGQGLEWMGLNPTDSGLTYAQNFQGRITMTSDTSTNTVYMELSSLSRSDDTAMY CAREGGADTRVHSSFDYWGQGLVTVSSGGGGGGGGSSQAVLTQPPSVSGSPGQSITISCTGTSSDVEAYNYVSWYQQHPGKAPKLMY DVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYCYSSYTSRTWVFGGGTKVIVL (SEQ ID NO: 51)
AP4-14	QVQLQESGGGLVQPGRSIRLSCAASGFTFDYALHWVRQAPGKLEWVSGISWNSVTYKAVSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNALRSEDYALYYC AKARGALLEADTPSDDWGQGLVTVSSGGGGGGGGGGSDIVMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQKPGKAPKLLIYAASS LOSGLVPSRFSGSGGTDFLTITISLQPEDVATYYCOKYNAPWTFGGGTKVDIK (SEQ ID NO: 52)
AP4-20	QVQLQQSGAGLLRPSETLSLTCLGYSFSGHYWNIWIRQSPKEKGLVWIGELTHSGTNNYNPSLKSRVITSVDTSKNQYSLKLSFVTPADYAVYCA RGDYGYWYFDLWGRGLVTVSSGGGGGGGGSSQSVLTQPPSPVPAPGKVTISCSGSSSNIGNNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDTNKRPSG IPDRFAGSKSGTSATILGITGLGTGDEADYCYCGTWDSSLASAGVFGGGTKITVL (SEQ ID NO: 53)

Secuencias de nucleótidos que codifican las cadenas variables pesadas y ligeras de anticuerpos scFv humanos

Anticuerpo	Cadena pesada variable	Cadena ligera variable
AP1-2	caggtgcagctggtgcagctctgagcagaggtgaaaaagcccgggga gtctctgaggatctcctgcaagggttctggatacagctttaccagcc actggatcagctgggtgcgccagatgcccggaaggcctggagtgg atggggaggattgatcctagtactcttatagcaactacagccctc cttccaaggccacgtcatcctcagttgacaagtccatcagcactg cctacttgagtgagcagcctgaaggcctcgacaccccatatat tactgtgcgagacagctcattgtagtagtaccagctgctccctatta ctactactacggtatgagcgtctggtgggccaaggaaacccctggtca ccgtctctctca (SEQ ID NO: 54)	gaaattgtgtgacgcagctctccaggcaccctgtcttctccagg ggaaagagccaccctctcctgcaggggccagctcagactgttaacagct acttagcctggtaccagtagaaaacctggccaggctcccaggctcctc atctatggtgcattccagcagggccactggcatccagacaggttcag tggcagtggtctggtgacagacttcaactcaccatcagcagactgg agcctgaagattttgcagtgattactgtcagcagtatgtagctca catcctggacgttcggccaaagggaacaaaggtggagatcaaacgtgg cctcggggctggtgcgactacaaaagatgacgatgacaaa (SEQ ID NO: 55)
AP1-6	caggttcagctggtgcagctctgggctgaggtgaagaagcctgggtc ctcgggtgaaggctcctgcaaggcttctggaggcaccttcagcagct atgctatcagctgggtgcgacagggccctggacaagggtttagtggtg atgggaggatcactcctatcttggtaacgcaaaactacgcacagaa gttccagggcagagtcacgattaccgggacgaatccacgagcacag cctacatggagctgagcagcctgagatctgaggacacggccatat tactgtgcgagagctcttgggtcagagtcgcaagatccgtccgatat ttggagtggttatcaggtatggaagctctggggccaaggaaacccctgg tcacccgtctctca (SEQ ID NO: 56)	gacatccagatgacccagctctccgtcttccgtgtctgcatctgtagg agacagagtcaccatcacttctcgggcaggtcaggtatttagcagct ggttagcctggtatcagcagaaaaccagggaagccctaaagctcctg atctatgctgcattccagtttgcaagtaggtcccatcaaggttcag cggcagtggtatctggacagatttcaactcaccatcagcagcctgc agcctgaagattttgcaacttactattgtcaacaggctaacagtttc ccgtacacttttggccagggaacaaagctggagatcaaacgtggcct cggggctggtgcgactacaaaagatgacgatgacaaa (SEQ ID NO: 57)
AP1-8	caggtgcagctggtgagctctgggctgaggtgaagaagcctgggtc ctcgggtgaaggctcctgcaaggcttctggaggcaccttcagcagct atgctatcagctgggtgcgacagggccctggacaagggtttagtggtg atgggaggatcactcctatcttggtaacgcaaaactacgcacagaa gttccagggcagagtcacgattaccgggacgaatccacgagcacag cctacatggagctgagcagcctgagatctgaggacacggcctgtat tactgtgcgagagcgggtataactggaactacggctccccagacta ctggggccagggcacccctggtcacccgtctctca (SEQ ID NO: 58)	gtcatctggatgacccagctctccatcctcctcctgtctgcatctgtagg agacagagtcaccatcacttgcgggcaagtcagagcatttagcagct atttaaatgggtatcagcggaaaaccagggaagccctaaagctcctg atctatgctgcattccagtttgcaagtaggtcccatcaaggttcag tggcagtggtatctggacagatttcaactcaccatcagcagctctgc aacctgaagattttgcaacttactactgtcaacagagttacagtacc cctccgacgttctggccaagggaacaaagctggagatcaaaa (SEQ ID NO: 59)
AP1-11	caggtgcagctggtgcagctccggatctgagttaaagaagcctggggc ctcagtgaaagcttctcctgagggcttctggatacacattcactagt attccatggtttgggtgcgacagggccctggagaaggctttagtggtg atgggaggatcaacacaaactgggaacccaactatgccccagg cttcacagaacgggttctctctctctcctgacagctctgtcagcacgg catactgcgaatcagcagcctaaaggctgaggacactgcccgtgtat tactgtgcgagagattgggcgtatagcggcagctggcccttaggcca gaaccctctgaccactggggccagggcacccctggtcacccgtctcct ca (SEQ ID NO: 60)	gaaatagtgatgacgcagctctccaggcaccctgtctgtgtctccagg ggaaagagccaccctctcctgcaggggccagtcagagtgttagccgca acttagcctggtaccagcagaaaacctggccaggctcccaggctcctc atctatgatacatccaccaggggccactggatccagccaggttcag tggcagtggtctggtgacagagttcaactcaccatcagcagcctgc agtctgaagattctgcagtttattactgtcagcagataatctgtg cctccactcacttctcggcgagggaacaaaggtggagatcaaaa (SEQ ID NO: 61)

AP1-15	caggtgcagctacagcagtggtggcgaggtggtggaagccttcgga gacctgtccctcacctgcgtgtctatggtgggtccttcagtggtt actaccggacctggatcccgccagtcctccagtgaggggctggagtg atggggaagtcaatgatcgtggaagcccaactacacccgtcctt caagtagctgactcacatataatcgacacgtccaaagaactagtatt ccctgaagttgagatttatgaccgcgcgggacacggctgtatatctg tgtcgagaaattagcctaggtacgtatggacgtctggggccaggg gacaatggtcacctctcctcagcgcgggcggtctct (SEQ ID NO: 62)	Gatattgtgatgaccagactccactctcctcactctcctcactgtcaccccttgg acagcggcctccatctctctgcaggtctagtcaagcctcgtacaca gtgatgaaacacactacttgacttggtttccaccagagccagccag ctccaagagtcctcattcataaggtttctaacctgttctctgggt cccagacagattcagtggcagtggggcagggacagatttcacactga aaatcagcaggtggaagctgaggtatgcgggtttattactgcatg caagctacacaattgtacacttttgccaggggaccacaggtggaaat caaa (SEQ ID NO: 63)
AP1-16	gaggtccagctgtacagctctgggtgaggtgaaagaagcctggggc ctcagtgaaaggtctcctgcaaggtttccggatacacacctcactgaat tatccatgcactgggtgcgacaggtcctctggaaaagggttgagtgg atgggaggttttgatcctgaagatggtgaaacaatctccgcgcagaa gttccagggcagagtcacatgacagaggacacacatctacagacacag cctacatggatctgagcagcctgagatctgaggacacagccgtttat tactgtgcaacgcagcgttgtgtagtggtgctgctactccca ctttgactactggggccaggccacacggtcacccgtctcctca (SEQ ID NO: 64)	gaaacgacactcacgcagctccagcaatcatgtctgcactctccagg ggagaggtcaccatgacctgacgtgccagctcaagtatacgtttaca tatattggtaccaacagagcctggatcctccccagactcctgatt tatgacacatccaacgtggctcctggagtccttttgcctcagtg cagtggtctgggacctcttattctctcacaaatcaacogaatggagg ctgaggtgctgccacttattactgccaggagtgagtggttatccg tacacgttcggagggggaccacaggtggagatcaaa (SEQ ID NO: 65)
AP1-19	cagatgcagctggtgcagctctgggtgaggtgaaagaagcctgggtc ctcggtgaaaggtctcctgcaaggtcttgaggcaccttcaacacct atgttatcagttgggtgcgacagggccctggacaagggttgagtgg atgggatggatcagcgttacaatggttaacacaaactatgcacagaa gctccagggcagagtcacatgaccacagacacatccacgagcacag cctacatggagctgaggtgagcctgagatctgacgacacggccgtgtat tactgtgcgagaggttgagtcctcctgactactggggccagggcac cttactacacgtctctca (SEQ ID NO: 66)	gacatcgtgatgaccagctccagactccctgggtgtgtctctggg cgagagggccaccatcaactgcaagtcacagccagagtggtttataca gtcccaacaatatgaactacttagcttggtaccagcagaaaaccagga cagctcctaagctgctcatttacttggtgcatctacccgggaatccgg ggtccctgaccgattcagtggcagcgggtctgggacagatttcactc tcaccatcagcagcctgcaggtgaggtgaagatgcggcagtttattactgt cagcagttattatagtagtactcctccgacgttcggccaagggaaccaagct ggaatcaaa (SEQ ID NO: 67)
AP3-1	caggtgcagctggtgcaatctgggtgaggtgaaagaagcctggggc ctcagtgaaaggtctcctgcaaggtttctggatacacaccttcacggct actatatgcactgggtgccacagggccctggacaagggttgagtgg atgggatggatcaaccctaacaatggtggcacaaactatgaccagaa gtttcagggcaggggtcgccatgaccagggacacgtccatctccacag cctacatggagctgagcaggtgagatctgacgacacgtccgtgtat tactgtgcgagagataatgggaggtgaccacagggggtactgggg ccagggcacacctggtcacctctcctca (SEQ ID NO: 68)	cagctgtgttgacgcagcctccctcattgtctggggcccccgggaca gagtgccaccatctcctgcgtgggaccagttccagcatcggggcag gttacgatgtacagtggtaccagcaacttccaggaaaaacccccaaa ctcctcatctacgggaatgataatcgccctcaggggtccctgaccg attctctggatccaggtcttacacctcagcctccctggatcacta gagtcacagattgaggtgaggtgattattactgccagtcgtatgac agcagctctcattggtcctcaattcggcggg (SEQ ID NO: 69)

AP3-2	caggtgcagctggtgcaatctgggctgaggtgaaaaagcccgggga gtctctgaagatctctgtacggcctccggatacaactttgccagct actggatcggctgggtgcgccagatccccgggcaaggcctggagtgg atgggatcatctatcctggtgactctgataccagatacagtcctgc ctccaaggccaggtcaccatctcagccgacaaagtcctcagcacccg cctacctgcagtgagcagcctgaaggcctcgacacccgccacgtat tactgtgtgagacgggtccctctacactaaacaacctacacttga ctatggggccagggaacctggtcaccgtctctctca (SEQ ID NO: 70)	gaggtgcagctggtgcagctggggtgaagtgaagaagcctggggc ctcagtgaaagttctctgtaaggcatctggatacaccttcagcgact actttatgcaactgggtgcgacagggccctggacaagggttgagtgg atgggagtaatacaacccaactggtgttccacaacctacgcacagag ctccagggcagagtcaccatgaccagagacacgctccacgagcatag tctacatggagctgagcagcctgagatctgaagacacggccgtgtac tactgtacgcgagtcggctactacgggtatggacgtctggggccaagg cacctgttcacccgtctctca (SEQ ID NO: 72)	gacatcgtgatgaccagctctccatccacccctgtctgcatctgtagg agacagagtcaccatcacttgcggggcaagtcagagcactagcaggt ttttaaatggtatcagcagaaaacctgggaaagccctaaactcctg atctatgctgcatccagtttgcatagtggcgtccatcaagggttcag tggcagtgatctgggacagatttcaactctcaccatcagcagctgc aacctgaagattttgcaacttactactgtcaacagacttccagttac cctctcacttctcgggcggaggaccacaagggtggaaatcaaa (SEQ ID NO: 73)
AP3-3	gaggtgcagctggtgcagctggggtgaagtgaagaagcctggggc ctcagtgaaagttctctgtaaggcatctggatacaccttcagcgact actttatgcaactgggtgcgacagggccctggacaagggttgagtgg atgggagtaatacaacccaactggtgttccacaacctacgcacagag ctccagggcagagtcaccatgaccagagacacgctccacgagcatag tctacatggagctgagcagcctgagatctgaagacacggccgtgtac tactgtacgcgagtcggctactacgggtatggacgtctggggccaagg cacctgttcacccgtctctca (SEQ ID NO: 74)	caggtccagctggtgcagctggggtgaagtgaagaagcctgggggag gtccctgagactttcctgtgcggcctctggattcaccttcacaaact ttggcatgcactgggtccggcaggtccaggaagggtggtgagtggtg gtggcactcatctcatctgtagtatagacaggcctatgcagactc cgtgaaggccggttcaccatctccggagacaaactccaagaacacag tgtatctgcaaatgaacagcctgacaagtggagacacggctgtttat tactgtgccatcataccccctgtattacgggatttttgattgggaatt tgactactggggccagggaacctggtcacccgtctctca (SEQ ID NO: 76)	gaaacgacactcagcagctctccaggcacccctgtcttctgtctccagg ggaaagagccacctctcctgcaggggccagtcagggtgttagcagca cctacttagcctggtaccagcagaaaacctggccagggtcccaggctc ctcatttatggtgcatctaacaggggccactggcatcccagacaggtt cagtgagtggtggtctgggacagacttcaactctcaccatcagcagcc tgaggctgaagatgaggcagtttattactgtcagcaataactacaat actccgtcacttctcggcggaggagggaccacaagggtggaaatcaaa (SEQ ID NO: 75)
AP3-5	caggtgcagctggtgcagctggggtgaagtgaagaagcctggggc ctcagtgaaagttctctgtaaggcatctggatacaccttcagcgact actttatgcaactgggtgcgacagggccctggacaagggttgagtgg atgggagtaatacaacccaactggtgttccacaacctacgcacagag ctccagggcagagtcaccatgaccagagacacgctccacgagcatag tctacatggagctgagcagcctgagatctgaagacacggccgtgtac tactgtacgcgagtcggctactacgggtatggacgtctggggccaagg cacctgttcacccgtctctca (SEQ ID NO: 72)	caggtccagctggtgcagctggggtgaagtgaagaagcctgggggag gtccctgagactttcctgtgcggcctctggattcaccttcacaaact ttggcatgcactgggtccggcaggtccaggaagggtggtgagtggtg gtggcactcatctcatctgtagtatagacaggcctatgcagactc cgtgaaggccggttcaccatctccggagacaaactccaagaacacag tgtatctgcaaatgaacagcctgacaagtggagacacggctgtttat tactgtgccatcataccccctgtattacgggatttttgattgggaatt tgactactggggccagggaacctggtcacccgtctctca (SEQ ID NO: 74)	gaaacgacactcagcagctctccaggcacccctgtcttctgtctccagg ggaaagagccacctctcctgcaggggccagtcagggtgttagcagca cctacttagcctggtaccagcagaaaacctggccagggtcccaggctc ctcatttatggtgcatctaacaggggccactggcatcccagacaggtt cagtgagtggtggtctgggacagacttcaactctcaccatcagcagcc tgaggctgaagatgaggcagtttattactgtcagcaataactacaat actccgtcacttctcggcggaggagggaccacaagggtggaaatcaaa (SEQ ID NO: 75)
AP3-6	caggtgcagctacagcagtgggggtgaggtgaaagccttcgga gacctgtccctcacctgcgtgtctctatagtggtcttttactcgtg actactgggtggtggtccggcagccccccgggaaagggtggtgagtg attgggaaatacaatcatagtggaagcaccacactacaacccgtccct caagagtcgagtcaccacgtcggtgacaaagtcacaaatcagttct ccctgaagttgacctctgtgacccggcgacacggctgtctattac tgtgcgagacgcggcttcttagcgacctcttcatcggggggttgg cggatggacgtctggggccaaggcacccctggtcacccgtctctca (SEQ ID NO: 76)	gaggtgcagctggtgcagctggggtgaagtgaagaagcctggggc ctcagtgaaagttctctgtaaggcatctggatacaccttcagcgact actttatgcaactgggtgcgacagggccctggacaagggttgagtgg atgggagtaatacaacccaactggtgttccacaacctacgcacagag ctccagggcagagtcaccatgaccagagacacgctccacgagcatag tctacatggagctgagcagcctgagatctgaagacacggccgtgtac tactgtacgcgagtcggctactacgggtatggacgtctggggccaagg cacctgttcacccgtctctca (SEQ ID NO: 74)	gataattgtgatgaccagactccaggcacccctgtcttctgtctccagg ggaaagagccacctctcctgcaggggccagtcagggtgttagcagca acttagcctggtaccagcagaaaacctggccagggtcccagggtcctc atctatgatgcatacaacaggggccactggcatcccactcagggttcag tggcagtggtggtggtggtggtggtggtggtggtggtggtggtggtg aacctgaagattttgcaagtgatttactgtcaccagtggttagctca ccgtacaccttggccagggggaccacaagggtggaaatcaaa (SEQ ID NO: 77)

AP3-8	gaggtgcagctggtgcagctctggagctgaggtgaagaagcctggggc ctcagtgaaaggtctcctgcaaggtctctggttacacctttaccagct atggtatcagctgggtgcgacaggtcctctggacaagggttgagtgg atgggatggtatcagcgtttacaatggttaacacaaactatgcacagaa gtccagggcagagtcacctgaccacagacacatccacgagcacag cctacatggagctgagagcctgagatctgacgacacggcgtgtat tactgtgcgagagtagcccgatattttgactggttattatacgggag cgactactttgactactggggccagggaacccctggtcacccgtctcct ca (SEQ ID NO: 78)	gacatccagatgaccagtgatctccttccacccctgtctgtatctgtagg agacagagtcaccatcacttgtcgggcagtcagggtattagcagct ggtagcctggtatcagcagaaaccagggaagccctaaagctcctg atctatgctgcacccagtttgcaaaagtgggtcccatcaaggttcag cggcagtggtatctggacagatttcactctcactatcagcagcctgc agcctgaagattttgcaacttactattgtcaacagggttaacagtttc ccgctcactttcggcgaggagccaagctggagatcaaaa (SEQ ID NO: 79)
AP3-10	caggtgcagctggtgcaatctggagctgaggtgaaggagcctgggtc ctcgggtgaaggtctcctgcaaggtctctggaggcaccttcagcagct atgctatctactggtgcgacaggtccctggacaagggttgagtgg atgggatggtatcctcctatccttgggtatagcaaaactacgcacagaa gttccagggcagagtcacgattaccggcgacaaaatccacgagcacag cctacatggagctgagcagcctgagatctgaggacacggcgtgtat tactgtgcgagagctgcgggtcatagtagtaactactactactacgg tatggacgtctggggccaaaggcacccctggtcacccgtctcctca (SEQ ID NO: 80)	cagactggtgagccagggagccctcactgactggtgtccctaggagg gacagtcactctcactgtggtccagcactggagctgtcaccagtg gtcattatccctactggttccagcagaagcctggccaagcccccagg acactgattatgatacaagcaacaacacactcctggacccctgccc gttctcaggtccctccttgggggcaaaagctgacctgacctttcgg gtgcgacccctgaggtgaggtgaggtgagttactgttctcctat agtgtactcgggtgttcggcgaggaggaccaagctgacctgacctca (SEQ ID NO: 81)
AP3-13	gaggtgcagctggtgcagctctggggtgaggtgaagaagcctggggc ctcagtgaaaggttctcctgcaaggtatctgggtatcacacctcaacaa actatagcactgggtgcgacaggtccctggacaagggttgagtgg atgggaataatacaacctagtggtgtagcacaaagctacgcacagaa gttccagggcagagtcacctgactaggacacagtcacacgagcacag tctacatggagctgagcagcctgagatctgaggacacggcgtgtat tactgtgcgagagatttcaagagtagacgtacgggtacgggtactttga ctactggggccaggcacccctggtcacccgtctcctca (SEQ ID NO: 82)	tcctatgagctgatgcagccatcctcagtgctcagtggtcctcgggaca gacagccaggtacacctgctcaggagatgtactggcaaaaaatgtg ctcgggtgttccagcagaagccagccaggtccctgtgtggtgatt tataaagacagtgagcggccctcagggtatccctgagcgtatctcgg ctccagctcagggacacacagtcaccttgacctcagcggggccacag ttgaggtgaggtgactattactgttactctgctggtgacacaac ctgggggtgttcggcgaggaggaccaaggtcacccgtccta (SEQ ID NO: 83)
AP3-20	cagatcaccttgaaaggagctggtcctcgctggtgaaacccacaca gacctcacgctgacctgcaacttctctggttctcctcagcactt atggaggggtgtgggtggtcctcctgagccccccaggaaaggccctg gagtggcttgccgtcatttattggagtgtggttaaacgtacagccc ctctgtaagaacgggtcacctacacatcaccaaggacacctccaaaaac acgtggctctgacaaatgaccaacatggacctgtggacacagccacc tattattgtgcacaccttatgtggtacatctattactaccactg gttcgacccctggggccagggaacccctggtcacccgtctcctca (SEQ ID NO: 84)	gccatccggatgaccagtgatcctcctcctcctgctgcatctgtagg agacagagtcaccatcacttgcgggcagtcagggttagcaatt atttagcctggtatcagcagaaaccagggaagtccctaaagctcctg atctatgctgcacccacttgaatcaggtcaggggtcccatctcgggtcag cggcagtggtatctggacagatttcactctcaccatcagcagcctgc agcctgaagatgttgcaacttactgtcaaaagtataacagtgcc cctgggacgttcggccaagggaccaaggtggagatcaaaa (SEQ ID NO: 85)

Ácidos nucleicos que codifican las scFvs humanas

Anticuerpo	Cadena variable pesada
AP1-2	cagggtgcagctggtgcagctcggagcagaggtgaaaaagcccccggggagctctctgaggaatctctcgcgaagggttctcgatatacagctttacacagcc actggatcagctgggtgccagatgccgggaagcctggagtggaatggggaggaattgatcctagtgactcttatagcaactacagcccctc ctccaaaggccagctcatctcagtgacaaagtcctcagcaactcctactgcagtgagcagcctggaaggcctcggaaccgccatata tactgtgcgagacagctcaattgtagtagtaccagctgtccctattactactactacaggtatggacdtctggggccaaagaaaccttggtca ccgctcctcagggcggcggtctggcgaggtggcagcagcgggtggcgatccgaaattggttgacgcagctccagggaccctgtcttt gttccaggggaagaccctctctcggagggccagctcagactgttaacagctacttagcctggtagccagtagaaacctggccaggtccc agdgtcctcatctatgggtgcattcagcgccagcactggatcccgagacaggttcagtggcagtggtctcgggacagacttccatccacctca gcagactggagcctgaagatttgagtgattactgtcagcaggtatggtagctcacatccgtggacgttcggccaggggaccaaaggtggagat caaacctaacctcccaaaactaatcgaactacaaaataaaccaatgacaaa (SEQ ID NO: 54)

[illegible]

AP1-19	cagatgcagctggtgcagctctggggctgaggtgaagaagcctgggtcctcggtgaaggtctcctgcaaggtctcctgcaaggtctcctggaggacaccttcaacacct atgttatcagttgggtgcagagccctggacaaggtctgagtggatgggtgagatcagcgttacaatggttaacacaaactatgcacagaa gctccaggcagagtcacattacacacagacacatccacagacagcctacatgagctgagagcctgagatctgacgacacggccgtgtat tactgtcgagagtttgagtccttgactactgggcccagggcacctgggtcacgtctcctcagggcgggtggtctctggcgaggtggca ggcggtggcggtccgacatcgtgacccagttccagactcctgggtctgtctctggcgagagggccacatcaactgcaagtcocag ccagagttttatcacggtccaaacatatagaactactagttgggtaccagagaaacacagacagacgtcctaaagctgctcattactgggca tctaccgggaatccgggtccctgacggttactgagggcaggggtctggagacagatttcaactcaccatcagcagctgcaggtcgaaggt cgcgagtttactgtcagcagattatagttactcctcgaggttggccaggttggccagggaccaaagctggagatcaaacgtggcctcggggctgggt nnaactacaanataacatnacaana (SEO ID NO: 60) caggtgcagctggtgcaatctggggctgaggtgaagaagcctgggctcagtgaggtcctcgaaggtctcctggatacaccttccoggtc actatatcagctgggtgccacagccctggacaaggtctgagtggatgggtgagatgagatcaacctaaactggtggccacaaactatgcacagaa gtttcaggcagaggtcgccatgaccagggacagtcctcctccacagcctacatgagctgagcagctgagatctgacgacacactgcggtgat tactgtcgagagataatggaggtgacacaggggtactactgggcccagggcacctgggtcacgtctcctcagggcggtcggtctggcg gaggtggcagcagcgggtggcggtcccgagttctgttgagcagcctcctcattgttgggcccgggacagagtggtccacatctcctggc tgggacacagttccagcatcggggcaggttacgatgtacagtggtaccagcaactccaggaaaaccccccaactcctcatctacgggaatgat aatcgccctcaggggtccctgacggttctctggatccaggttcaacctcagctcctgggtcctcactagagtcaggtccagatgaggtgag ctgatttactgcaggtcgtatgacagcagctctctgttgcctcaattcggcgggggaccaaagctgacgtcctaggtggtcctcgggggcct atccactacaanaataacatnacaanaac (SEO ID NO: 61) caggtgcagctggtgcaatctggggctgaggtgaagaagcctgggggaggtctctgagatcctcctgacggcctcgggatacaacttggccagct actggtcgggtgggtgcagagtcggcggaaggtcgggtgagtgaggtgggtgagatcctcctgggtgactctgataccagatcacagtcggctc cttccaaagccaggtcacctcctcagccagacaggtccatcagcagccctcactgcagtgagcagcctggaagcctcgacaccccgacgtat tactgtgagacgggtccctcctacatacaaacactcctgactattgggcccagggcacctgtcagcgtctcctcagggcggtggcg gctcggcgaggtggcgagcgggtggcggtcccgatccagatgacccagctccatcctcactgtgtcgtgagtagagacagagtcac catcactgtcggcgagtcagggcattagcaattatttagctgggttcagcagaaacacagggaagccctaaagtccctgatctatgctgca tcagttgtcaagtggggtcccatcaaaagtacagcgagtgaggtcgtggagagatttcaactcaccatcagcagcctgagcgtggaagatt ttccaaactattactcccaacatataaagatttaccctcacttccatccgacgaaggaacaaatgaaatcaaaa (SEO ID NO: 62) gaggtgcagctggtgcagctctggggctgaggtgaagaagcctggggcctcagtgaggttctcgtgaagcattctggatacaccttccagcagct actttatgcactgggtgcagagccctggacaaggtctgagtggatggagtaatacaacccaaactggtggttccacaacactacgcacagag cttccaggcgagagtcacattacagagacacgtccacagacatagttacatggagctgagcagcctgagatctgagacacagggcgtgtgtac tactgtcgagagtcgggtactacggtatggagctctgggcccagggcacctgggtcacgtctcctcagggcggtcggtctggcgaggtg gcagcgcggtggcggtccgacatggtgagtcacccagttccatccacccctgtctgactgtgagtagacagagtcacatcacttgcggggc aaagtgcagcactagcaggttttaaatgggtatcagcagaaacctgggaagccctaaactcgtgatctatgctgacatccagtttgcagat ggcgcccatcaaggttcagtgagcaggtggttcagcagcatttcaactcaccatcagcagtcgtcaacctgaaagatttgcacacttactact gtcaacagactccagttacccctcacttctggcgaggaccaaaggtggaatcaaacgtggcctcggggctgggtcgcactacaagaatga cnaatnacaana (SEO ID NO: 63) caggttcagctggtgcagctctggggcgaggtgggtccaggttggaggggtccctgagacttctcgtggggccttggtgattcacttcaacaact ttggcatgcactgggtccggcaggtccaggaaggggtgggtgggtggcactcactcctcgtgagatagacagggcctatgcagactc cgtgaagggcggttcacattctcggagacacactccaaagacacagtgatctgcaaatgaacagcctgacagtgaggacacggctgttat tactgtgcacatcaacccctgtattacggatttttgatgggaaatttgactactggggccagggaaacccctggtaacggtctcctcagggcggtg ggcgctctggcgaggtggcagcggtggcggtccgaacacacactcagcagctctccaggcaccttctttgtctccagggggaagagc cacccctcctgcagggccagtcagaggtttccagccctacttagcctgttaccagagaaactggcagggctccagggctccctcattat ggtgcactcaacagggccactggcatccagacaggttcagtggaagtggttgggacagacttcaactcaccatcagcagcctgcaggtg aagatgagcaggtttattactgtcagcaataactacaataactccgctcacttctggcgaggaccaaaggtggaatacaaacgtggcctcgggg cctgntcgaactacaagatnacaatnacaana (SEO ID NO: 64)
AP3-1	
AP3-2	
AP3-3	
AP3-5	

[illegible]

79

Ejemplo 25 – Supresión de la expresión de hemolisina en RN4850 por acción de un scFv humano anti-AIP4, el AP4-4-20

De los 20 clones obtenidos en el cribado de una biblioteca de presentación de fago de anticuerpo, el clon más potente, el AP4-4-20, fue expresado como anticuerpo scFv en *E. coli*. El anticuerpo scFv expresado fue purificado y se evaluó para determinar su capacidad para suprimir la expresión de hemolisinas en *S. aureus* RN 4850 como se indica a continuación.

El *S. aureus* RN4850 fue incubado en presencia de scFv AP4-4-20 (2,7 μ M) en medio CYGP durante 24 horas, y se evaluó la expresión de α -hemolisina mediante análisis de transferencia Western usando sobrenadantes de cultivo de *S. aureus*. Los resultados se muestran en la **Figura 11**. El mAb AP4-24H-11 (1,3 μ M) y un control de anticuerpo scFv no relacionado (10 μ M) se usaron como controles positivo y negativo, respectivamente. En presencia de los anticuerpos 4-20 y AP4-24H11 específicos de AIP-4, se puede detectar una clara reducción en la secreción de hemolisinas, lo que es fuerte indicativo de la inhibición de QS dependiente de AIP en *S. aureus*.

Ejemplo 26 – El mAb anti-AIP1 AP1-15B4 protege a ratones frente a la exposición sistémica letal a MRSA USA300 en terapia post-exposición

La eficacia de nuestra estrategia de inmunización pasiva fue demostrada en un escenario post-exposición usando el mAb AP1-15B4 en un modelo de ratón de exposición letal a *S. aureus*. Ratones C57BL/6 recibieron 1 mg de AP1-15B4 (i.p.), IgG de control de isotipo o PBS 2 horas después de que hubieran sido infectados con al menos 1×10^8 *S. aureus* USA300, una cepa MRSA *agr* I. Ver Diep et al., *Lancet* 2006, 367, (9512), 731-739. En realidad el USA300 es una de las cepas MRSA adquiridas en comunidad (CA-MRSA) más comunes y constituye una amenaza creciente para civiles y personal militar. Hageman et al., *Diagn Microbiol Infect Dis* 2008; James et al., *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2008, 93, (1), F40-4; Tenover et al., *J Clin Microbiol* 2006, 44, (1), 108-18; Beilman et al., *Surg Infect (Larchmt)* 2005, 6, (1), 87-92. Tal como se muestra en la **Figura 12**, 4 de cada 6 ratones que recibieron AP1-15B4 sobrevivieron al periodo de observación de 48 horas. Por el contrario, solo dos de los ratones de control tratados con PBS (2/6) y 2 de los ratones tratados con IgG de control (2/6) sobrevivieron más de 24 horas. Estos datos demuestran por vez primera la existencia de una ventana terapéutica para una estrategia de detención del quórum en *S. aureus*. Esto valida adicionalmente nuestra estrategia inmunofarmacoterapéutica para prevenir infecciones de *S. aureus*, ya que demuestra que nuestros anticuerpos de detención de quórum pueden ser administrados después de la infección del paciente.

Todas las patentes y publicaciones referenciadas o mencionadas en la presente memoria son indicativas de los niveles de habilidad de los especialistas en la técnica a la que pertenece la descripción. Los solicitantes se reservan el derecho de incorporar físicamente a esta especificación cualesquier o todos los materiales e información de cualquiera de dichas patentes o publicaciones mencionadas.

Los métodos y composiciones específicos descritos en la presente memoria son representativos de ejemplos preferidos y son ejemplos, y no se pretende que sean limitativos del alcance de la descripción. Otros objetivos, aspectos y ejemplos se les ocurrirán a los especialistas en la técnica tras considerar esta especificación, y quedan abarcados dentro de la descripción tal como se define por el alcance de las reivindicaciones. Será fácilmente evidente para los especialistas en la técnica que se pueden realizar sustituciones y modificaciones variadas a la invención descrita en la presente memoria sin alejarse del alcance de la invención. La invención descrita ilustrativamente en la presente memoria se puede llevar a la práctica de forma adecuada en ausencia de cualquier elemento o elementos, o limitación o limitaciones, que no estén descritos específicamente en la presente memoria como esenciales. Los métodos y procesos descritos de forma ilustrativa en la presente memoria se pueden llevar a la práctica de forma adecuada en diferentes órdenes de las etapas, y que no están necesariamente restringidos a los órdenes de etapas indicados en la presente memoria o en las reivindicaciones. Tal como se usa en la presente memoria y en las reivindicaciones anexas, las formas singulares “un”, “una”, y “el”, “la” incluyen la referencia al plural a menos que el contexto claramente dicte lo contrario. Por lo tanto, por ejemplo, una referencia a “un anticuerpo” incluye una pluralidad (por ejemplo, una disolución de anticuerpos o una serie de preparaciones de anticuerpo) de dichos anticuerpos, e igual con el resto. Bajo ninguna circunstancia puede interpretarse la patente como limitada a los ejemplos específicos o a los ejemplos o métodos específicamente descritos en la presente memoria. Bajo ninguna circunstancia puede interpretarse la patente como limitada por ninguna aseveración realizada por algún Examinador o por cualquier otro oficial o empleado de la Oficina de Patentes y Marcas, a menos que dicha aseveración sea adoptada expresamente, de manera específica y sin calificación o reserva, en un escrito de respuesta de los Solicitantes.

Los términos y expresiones que han sido empleados se usan como términos de descripción y no de limitación, y no existe intención en el uso de dichos términos y expresiones de excluir cualquier equivalente de las características mostradas y descritas o porciones de las mismas, pero se reconoce que dentro del alcance de la invención, tal y como se reivindica, son posibles varias modificaciones. Por tanto, debe entenderse que aunque la presente invención ha sido descrita específicamente mediante ejemplos y características opcionales preferidos, la modificación o la variación de los conceptos descritos en la presente memoria pueden ser recurridos por los especialistas en la técnica, y que dichas modificaciones y variaciones se consideran dentro del alcance de esta invención tal como se define a través de las reivindicaciones anexas.

5 La invención ha sido descrita ampliamente y de forma genérica en la presente memoria. Todas las subespecies y los grupos subgenéricos que entran dentro de la descripción genérica también forman parte de la invención. Esto incluye la descripción genérica de la invención con la condición o limitación negativa de eliminar cualquier materia objeto del género, independientemente de si el material escindido es recitado específicamente en la presente memoria o no.

10 Otras realizaciones se encuentran incluidas en las reivindicaciones siguientes. Adicionalmente, cuando las características o aspectos de la invención se describen en términos de grupos de Markush, los especialistas en la técnica reconocerán que la invención también queda descrita en términos de cualquier miembro individual o subgrupo de miembros del grupo de Markush.

DOCUMENTOS CITADOS

- Fuqua, C., Winans, S.C., y Greenberg, E.P. (1996). Census and consensus in bacterial ecosystems: the LuxR-LuxI family of quorum-sensing transcriptional regulators. *Annu Rev Microbiol* 50, 727-751.
- 5 Neelson, K.H., Platt, T., y Hastings, J.W. (1970). Cellular control of the synthesis and activity of the bacterial luminescent system. *J Bacteriol* 104, 313-322.
- de Kievit, T.R., e Iglewski, B.H. (2000). Bacterial quorum sensing in pathogenic relationships. *Infect Immun* 68, 4839-4849.
- Kaplan, H.B., y Greenberg, E.P. (1985). Diffusion of autoinducer is involved in regulation of the *Vibrio fischeri* luminiscence system. *J. Bacteriol* 163, 1210-1214.
- 10 Lazazzera, B.A., y Grossman, A.D. (1998). The ins and outs of peptide signaling. *Trends Microbiol* 6, 288-294.
- Novick, R.P. (2003). Autoinduction and signal transduction in the regulation of staphylococcal virulence. *Mol Microbiol* 48, 1429-1449.
- Meijler, M.M., Hom, L.G., Kaufmann, G.F., McKenzie, K.M., Sun, C., Moss, J.A., Matsushita, M., y Janda, K.D. (2004). Synthesis and biological validation of a ubiquitous quorum-sensing molecule. *Angew Chem Int Ed Engl* 43, 2106-2108.
- 15 Schauder, S., Shokat, K., Surette, M.G., y Bassler, B.L. (2001). The LuxS family of bacterial autoinducers: biosynthesis of a novel quorum-sensing signal molecule. *Mol Microbiol* 41, 463-476.
- Gotz, F. (2002). Staphylococcus and biofilms. *Mol Microbiol* 43, 1367-1378.
- Hall-Stoodley, L., Costerton, J.W., y Stoodley, P. (2004). Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nat Rev Microbiol* 2, 95-108.
- 20 Lyon, G.J., y Muir, T.W. (2003). Chemical signaling among bacteria and its inhibition. *Chem Biol* 10, 1007-1021.
- Rasmussen, T.B., y Givskov, M. (2006). Quorum sensing inhibitors: a bargain of effects. *Microbiology* 152, 895-904.
- Smith, R.S., e Iglewski, B.H. (2003). *P. aeruginosa* quorum-sensing systems and virulence. *Curr Opin Microbiol* 6, 56-60.
- 25 Chan, W.C., Coyle, B.J., y Williams, P. (2004). Virulence regulation and quorum sensing in staphylococcal infections: competitive AgrC antagonists as quorum sensing inhibitors. *J Med Chem* 47, 4633-4641.
- Geske, G.D., Wezeman, R.J., Siegel, A.P., y Blackwell, H.E. (2005). Small Molecule inhibitors of bacterial quorum sensing and biofilm formation. *J Am Chem Soc* 127, 12762-12763.
- 30 Lyon, G.J., Mayville, P., Muir, T.W., y Novick, R.P. (2000). Rational design of a global inhibitor of the virulence response in *Staphylococcus aureus*, based in part on localization of the site of inhibition to the receptor-histidine kinase, AgrC. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97, 13330-13335.
- Muh, U., Hare, B.J., Duerkop, B.A., Schuster, M., Hanzelka, B.L., Heim, R., Olson, E.R., y Greenberg, E.P. (2006). A structurally unrelated mimic of a *Pseudomonas aeruginosa* acyl-homoserine lactone quorum-sensing signal. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103, 16948-16952.
- 35 Smith, K.M., Bu, Y., y Suga, H. (2003). Library screening for synthetic agonists and antagonists of a *Pseudomonas aeruginosa* autoinducer. *Chem Biol* 10, 563-571.
- Kaufmann, G.F., Sartorio, R., Lee, S.H., Mee, J.M., Altobelli, L.J., 3rd, Kujawa, D.P., Jeffries, E., Clapham, B., Meijler, M.M., y Janda, K.D. (2006). Antibody interference with N-acyl homoserine lactone-mediated bacterial quorum sensing. *J Am Chem Soc* 128, 2802-2803.
- 40 Miyairi, S., Tateda, K., Fuse, E.T., Ueda, C., Saito, H., Takabatake, T., Ishii, Y., Horikawa, M., Ishiguro, M., Standiford, T.J., y Yamaguchi, K. (2006). Immunization with 3-oxododecanoil-L-homoserine lactone-protein conjugate protects mice from lethal *Pseudomonas aeruginosa* lung infection. *J Med Microbiol* 55, 1381-1387.
- Massey, R.C., Horsburgh, M.J., Lina, G., Hook, M., y Recker, M. (2006). The evolution and maintenance of virulence in *Staphylococcus aureus*: a role for host-to-host transmission? *Nat Rev Microbiol* 4, 953-958.
- 45 George, E.A., y Muir, T.W. (2007). Molecular mechanisms of agr quorum sensing in virulent staphylococci. *Chembiochem* 8, 847-855.

- Sakoulas, G., Elipoulos, G.M., Moellering, R.C., Jr., Novick, R.P., Venkataraman, L., Wennersten, C., DeGirolami, P.C., Schwaber, M.J., y Gold, H.S. (2003). Staphylococcus aureus accessory gene regulator (agr) group II: is there a relationship to the development of intermediate-level glycopeptide resistance? *J Infect Dis* 187, 929-938.
- 5 Wright, J.S., 3rd, Jin, R., y Novick, R.P. (2005). Transient interference with staphylococcal quorum sensing blocks abscess formation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102, 1691-1696.
- Ji, G., Beavis, R., y Novick, R.P. (1997). Bacterial interference caused by autoinducing peptide variants. *Science* 276, 2027-2030.
- 10 Mayville, P., Ji, G., Beavis, R., Yang, H., Goger, M., Novick, R.P., y Muir, T.W. (1999). Structure-activity analysis of synthetic autoinducing thiolactone peptides from Staphylococcus aureus responsible for virulence. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96, 1218-1223.
- Shigenaga, A., Moss, J.A., Ashley, F.T., Kaufmann, G.F., Janda, K.D. (2006). Solid-phase synthesis and cyclative cleavage of quorum sensing depsipeptide analogs by acylphenyldiazene activation. *SYNLETT* 4, 551-554.
- 15 Kaufmann, G.F., Sartorio, R., Lee, S.H., Rogers, C.J., Meijler, M.M., Moss, J.A., Clapham, B., Brogan, A.P., Dickerson, T.J., y Janda, K.D. (2005). Revisiting quorum sensing: Discovery of additional chemical and biological functions for 3-oxo-N-acylhomoserine lactones. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102, 309-314.
- Vuong, C., Saenz, H.L., Gotz, F., y Otto, M. (2000). Impact of the agr quorum-sensing system on adherence to polystyrene in Staphylococcus aureus. *J Infect Dis* 182, 1688-1693.
- Harraghy, N., Kerdoudou, S., y Herrmann, M. (2007). Quorum-sensing systems in staphylococci as therapeutic targets. *Anal Bioanal Chem* 387, 437-444.
- 20 Novick, R.P., Ross, H.F., Projan, S.J., Kornblum, J. Kreiswirth, B., y Moghazeh, S. (1993). Synthesis of staphylococcal virulence factors is controlled by a regulatory RNA molecule. *Embo J* 12, 3967-3975.
- Valle, J., Toledo-Arana, A., Berasain, C., Ghigo, J.M., Amorena, B., Penades, J.R., y Lasa, I. (2003). SarA and not sigmaB is essential for biofilm development by Staphylococcus aureus. *Mol Microbiol* 48, 1075-1087.
- 25 Xiong, Y.Q., Willard, J., Yeaman, M.R., Cheung, A.L., y Bayer, A.S. (2006). Regulation of Staphylococcus aureus alpha-toxin gene (hla) expression by agr, sarA, and sae in vitro and in experimental infective endocarditis. *J Infect Dis* 194, 1267-1275.
- Jarraud, S., Lyon, G.J., Figueiredo, A.M., Gerard, L., Vandenesch, F., Etienne, J., Muir, T.W., and Novick, R.P. (2000). Exfoliatin-producing strains define a fourth agr specificity group in Staphylococcus aureus. *J Bacteriol* 182, 6517-6522.
- 30 Balaban, N., Goldkorn, T., Nhan, R.T., Dang, L.B., Scott, S., Ridgley, R.M., Rasooly, A., Wright, S.C., Larrick, J.W., Rasooly, R., y Carlson, J.R. (1998). Autoinducer of virulence as a target for vaccine and therapy against Staphylococcus aureus. *Science* 280, 438-440.
- Shaw, L.N., Jonnson, I.M., Singh, V.K., Tarkowski, A., y Stewart, G.C. (2007). Inactivation of traP has no effect on the Agr quorum sensing system or virulence of Staphylococcus aureus. *Infect Immun*.
- 35 Tsang, L.H., Daily, S.T., Weiss, E.C., y Smeltzer, M.S. (2007). Mutation of traP in Staphylococcus aureus has no impact on expression of agr or biofilm formation. *Infect Immun*.
- Bantel, H., Sinha, B., Domschke, W., Peters, G., Schulze-Osthoff, K., y Janicke, R.U. (2001). alpha-Toxin is a mediator of Staphylococcus aureus-induced cell death and activates caspases via the intrinsic death pathway independently of death receptor signaling. *J Cell Biol* 155, 637-648.
- 40 Casadevall, A., Dadachova, E., y Pirofski, L.A. (2004). Passive antibody therapy for infectious diseases. *Nat Rev Microbiol* 2, 695-703.
- Yang, G., Gao, Y., Dong, J., Liu, C., Xue, Y., Fan, M., Shen, B., y Shao, N. (2005). A novel peptide screened by phage display can mimic TRAP antigen epitope against Staphylococcus aureus infections. *J Biol Chem* 280, 27431-27435.
- 45 Yang, G., Gao, Y., Dong, J., Xue, Y., Fan, M., Shen, B., Liu, C., y Shao, N. (2006). A novel peptide isolated from phage library to substitute a complex system for a vaccine against staphylococci infection. *Vaccine* 24, 1117-1123.
- Novick, R.P. (1991). Genetic systems in staphylococci. *Methods Enzymol* 204, 587-636.
- O'Toole, G.A., Pratt, L.A., Watnick, P.I., Newman, D.K., Weaver, V.B., y Kolter, R. (1999). Genetic approaches to study of biofilms. *Methods Enzymol* 310, 91-109.

- Eleaume, H., y Jabbouri, S. (2004). Comparison of two standardisation methods in real-time quantitative RT-PCR to follow *Staphylococcus aureus* genes expression during in vitro growth. *J Microbiol Methods* 59, 363-370.
- DeGrado, W.F.; Kaiser, E.T. Polymer-bound oxime esters as supports for solid-phase peptide synthesis. The preparation of protected peptide fragments. *J. Org. Chem.* 1980, 45, 1295-1300.
- 5 DeGrado, W.F.; Kaiser, E. T. Solid-phase synthesis of protected peptides on a polymer-bound oxime: preparation of segments comprising the sequence of a cytotoxic 26-peptide analog. *J. Org. Chem.* 1982, 47, 3258-3261.
- Nakagawa, S. H.; Kaiser, E. T. Synthesis of protected peptide segments and their assembly on a polymer-bound oxime: application to the synthesis of a peptide model for plasma apolipoprotein A-I. *J. Org. Chem.* 1983, 48, 678-685.
- 10 Nakagawa, S. H.; Lau, H. S.; Kezdy, F. J.; Kaiser, E. T. The use of polymer-bound oximes for the synthesis of large peptides usable in segment condensation: synthesis of a 44 amino acid amphiphilic peptide model of apolipoprotein A-1. *J. Am. Chem. Soc.* 1985, 107, 7087-7092.
- Kaiser, E. T.; Mihara, H.; Laforet, G. A.; Kelly, J. W.; Walters, L.; Findeis, M. A.; Sasaki, T. Peptide and protein synthesis by segment synthesis-condensation. *Science* 1989, 243, 187-192.
- 15 Osapay, G.; Taylor, J. W. Multicyclic Polypeptide Model Compounds. 2. Synthesis and Conformational Properties of a Highly α -Helical Uncosapeptide Constrained by Three Side-Chain to Side-Chain Lactam Bridges. *J. Am. Chem. Soc.* 1992, 114, 6966-6973.
- Taylor, J. W. The Synthesis and Study of Side-Chain Lactam-Bridged Peptides. *Biopolymers* 2002, 66, 49-75.
- 20 Li, P.; Roller, P. P.; Xu, J. Current Synthetic Approaches to Peptide and Peptidomimetic Cyclization. *Curr. Org. Chem.* 2002, 6, 411-440.
- Chorev, M. The Partial Retro-Inverso Modification: A Road Traveled Together. *Biopolymers* 2005, 80, 67-84.
- Vince, R.; Brownell, J. Akella, L.B. Synthesis and activity of γ -(L- γ -azaglutamyl)-S-(*p*-bromobenzyl)-L-cysteinylglycine: A metabolically stable inhibitor of glyoxalase I. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1999, 9, 853-856.

LISTA DE SECUENCIAS

<110> The Scripps Research Institute

5 <120> Interrupción de la percepción de quórum en bacterias mediada por anticuerpos

<130> P100912EP52

<150> US 60/982,593

10 <151> 25-10-2007

<160> 181

<170> FastSEQ for Windows Versión 4.0

15 <210> 1

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

20 <220>

<223> péptido sintético a

<400> 1

Tyr Ser Thr Ser Tyr Phe Ile Met

25 1 5

<210> 2

<211> 7

<212> PRT

30 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> péptido sintético a

35 <400> 2

Ile Asn Ser Asp Phe Leu Leu

1 5

<210> 3

<211> 8

40 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> péptido sintético a

45 <400> 3

Tyr Ser Thr Ser Asp Phe Ile Met

1 5

<210> 4

50 <211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

55 <223> péptido sintético a

<400> 4

Gly Val Asn Ala Ser Ser Ser Leu Phe

60 1 5

<210> 5

<211> 28

<212> DNA
 <213> Staphylococcus aureus

 <400> 5
 5 tggccaaga ctttagttat cgttatcc 28

 <210> 6
 <211> 29
 <212> DNA
 10 <213> Staphylococcus aureus

 <400> 6
 tggggaggaa tattgtagc catacctac 29

 <210> 7
 <211> 25
 <212> DNA
 15 <213> Staphylococcus aureus

 <400> 7
 20 gcactgagtc caaggaaact aactc 25

 <210> 8
 <211> 24
 25 <212> DNA
 <213> Staphylococcus aureus

 <400> 8
 30 gccatcccaa ctaataacc atgt 24

 <210> 9
 <211> 24
 <212> DNA
 35 <213> Staphylococcus aureus

 <400> 9
 ctgaaggcca ggctaaacca cttt 24

 <210> 10
 <211> 25
 <212> DNA
 40 <213> Staphylococcus aureus

 <400> 10
 45 gaacgaaagg taccattgct ggtca 25

 <210> 11
 <211> 24
 <212> DNA
 50 <213> Staphylococcus aureus

 <400> 11
 gcgcaacacg atgaagctca acaa 24

 <210> 12
 <211> 24
 <212> DNA
 55 <213> Staphylococcus aureus

 <400> 12
 60 acgttagcac ttggcttg atca 24

 <210> 13
 <211> 24
 65 <212> DNA
 <213> Staphylococcus aureus

<400> 13
gttcgggaa attctggatc aggt 24

5 <210> 14
<211> 24
<212> DNA
<213> Staphylococcus aureus

10 <400> 14
gcgcttgaca taattccaa tacc 24

<210> 15
<211> 26
15 <212> DNA
<213> Staphylococcus aureus

<400> 15
ctgctttaac aactgtggt tgtttg 26

20 <210> 16
<211> 24
<212> DNA
<213> Staphylococcus aureus

25 <400> 16
cgctgtattg acatacatca gcga 24

<210> 17
30 <211> 25
<212> DNA
<213> Staphylococcus aureus

<400> 17
35 cgcttaact ttaggtgcag atgac 25

<210> 18
<211> 24
<212> DNA
40 <213> Staphylococcus aureus

<400> 18
acgcataggg acttcgtgac catt 24

45 <210> 19
<211> 120
<212> PRT
<213> Murina

50 <400> 19
Glu Val His Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe Ser Asp Phe
20 25 30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Ile Ile Lys Ser Asp Asp Ser Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
50 55 60
Arg Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Arg Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Thr Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Lys Ile Tyr Asp Ala Tyr Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 20
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Murina

5

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

10 <210> 21
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> Murina

15 <400> 21
 Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Glu Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly His Ser Phe Thr Gly Tyr
 20 25 30
 Asn Met Asn Trp Val Lys Gln Ser Asn Asp Lys Ser Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Asn Ile Ala Pro Tyr Tyr Gly Val Thr Ala Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Gly Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Gln Leu Lys Ser Leu Ala Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Val Leu Asp Thr Ser Gly Tyr Ala Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ala
 115

20 <210> 22
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> Murina

<400> 22
 Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Glu Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly His Ser Phe Thr Gly Tyr
 20 25 30
 Asn Met Asn Trp Val Lys Gln Ser Asn Asp Lys Ser Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Asn Ile Ala Pro Tyr Tyr Gly Val Thr Ala Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Gly Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Gln Leu Lys Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Val Leu Asp Thr Ser Gly Tyr Ala Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ala
 115

25

<210> 23
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Murina

5

<400> 23
 Gly Gly Asp Leu Val Lys Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala
 1 5 10 15
 Ala Ser Gly Phe Ala Phe Ser Asp Phe Ala Met Ser Trp Val Arg Gln
 20 25 30
 Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val Ala Ile Ile Lys Ser Asp Asp
 35 40 45
 Ser Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Arg Asp Arg Phe Thr Ile Ser
 50 55 60
 Arg Asp Asn Ala Arg Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Thr Ser Leu Arg
 65 70 75 80
 Ser Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Thr Lys Ile Tyr Asp Ala Tyr
 85 90 95
 Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser
 100 105

<210> 24
 <211> 101
 <212> PRT
 <213> Murina

10

<400> 24
 Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln Ser Leu Ser Leu Thr Cys Thr
 1 5 10 15
 Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asn Tyr Ala Trp Asn Trp Ile Arg
 20 25 30
 Gln Phe Pro Gly Asn Lys Leu Glu Trp Met Gly Phe Ile Ser Ser Tyr
 35 40 45
 Gly Thr Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Phe Ser Ile Thr
 50 55 60
 Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe Leu Gln Leu His Ser Val Thr
 65 70 75 80
 Ile Glu Asp Thr Gly Thr Tyr Phe Cys Thr Arg Glu Gly Asp Tyr Trp
 85 90 95
 Gly Gln Gly Thr Thr
 100

15

<210> 25
 <211> 104
 <212> PRT
 <213> Murina

20

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

25

<210> 26
 <211> 104
 <212> PRT
 <213> Murina

<400> 26

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

<210> 27

<211> 360

<212> DNA

<213> Murina

<400> 27

gaggtgcacc tgggtggagtc tgggggagac ttagtgaagc ctgggggggtc cctcaaactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt cgctttcagt gactttgcc tgtcttgggt tgcgcagact 120
 ccggagaaga ggctggagtg ggtcgcaatc attaaaagt atgattctta cacctactat 180
 ccagacagtg tgagggaccg attcaccatc tccagagaca atgccaggaa caccctttac 240
 ctgcaaatga ccagtctgag gtctgaagac acggccttgt attactgtac aaaaatctat 300
 gatgcttact tctatgctat ggactactgg ggtcaaggaa cctcagtcac cgtctcctcg 360

<210> 28

<211> 339

<212> DNA

<213> Murina

<400> 28

gaggtgaagc ctcaggagtc aggacctggc ctggtgaaac cttctcagtc tctgtccctc 60
 acctgcactg tcaactggcta ctcaatcacc agtaattatg cctggaactg gatccggcag 120
 tttccaggaa acaaaactgga gtggatgggc ttcataagtt cctatggaac cactacctac 180
 aaccttctc tcaaaagtgc attctctatc actcgagaca catccaagaa ccagttcttc 240
 ctgcaattgc attctgtgac tattgaggac acaggcacat atttctgtac aagagagggg 300
 gactactggg gccaaaggcac cactctcaca gtctcctca 339

<210> 29

<211> 348

<212> DNA

<213> Murina

<400> 29

gaggtccagc tgcaacagtc cggacctgag ctggagaagc ctggcgcttc agtgaagata 60
 tcctgcaagg cttctggtca ttattcact ggctacaaca tgaactgggt gaagcagagc 120
 aatgacaaga gccttgagtg gattggaaat attgtcctt actatggtgt tactgcctac 180
 aaccagaagt tcaagggcaa ggccacattg actggagaca aatcctccag cactgcctac 240
 atgcagctca agagcctggc atctgaggac tctgcagtct attactgtgt cctagacacc 300
 tcgggctacg cttcctgggg ccaagggact ctggttaactg tctctgca 348

<210> 30

<211> 348

<212> DNA

<213> Murina

<400> 30

caggtccagc tgcaacagtc tgggcctgag ctggagaagc ctggcgcttc agtgaagata 60
 tcctgcaagg cttctggtca ttattcact ggctacaaca tgaactgggt gaagcagagc 120
 aatgacaaga gccttgagtg gattggaaat attgtcctt actatggtgt tactgcctac 180
 aaccagaagt tcaagggcaa ggccacattg actggagaca aatcctccag cactgcctac 240
 atgcagctca agagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgt cctagacacc 300
 tcgggctacg cttcctgggg ccaagggact ctggtcactg tctctgca 348

<210> 31
 <211> 324
 <212> DNA
 <213> Murina

5

<400> 31
 ggggggagact tagtgaagcc tgggggggtcc ctcaaactct cctgtgcagc ctctggattc 60
 gcttttcagtg actttgccat gtcttgggtt cggcagactc cggagaagag gctggagtgg 120
 gtcgcaatca ttaaaagtga tgattcttac acctactatc cagacagtgt gagggaccga 180
 ttcacatctt ccagagacaa tgccagggaac accctttacc tgcaaatgac cagtctgagg 240
 tctgaagaca cggccttgta ttactgtaca aaaatctatg atgcttactt ctatgctatg 300
 gactactggg gtcaaggaac ctca 324

10

<210> 32
 <211> 303
 <212> DNA
 <213> Murina

<400> 32
 ggacctggcc tggtgaaacc ttctcagtct ctgtccctca cctgcactgt cactggctac 60
 tcaatcacca gtaattatgc ctggaactgg atccggcagt ttccaggaaa caaactggag 120
 tggatgggct tcataagttc ctatggaacc actacctaca acccttctct caaaagtcga 180
 ttctctatca ctcgagacac atccaagaac cagtctctcc tgcaattgca ttctgtgact 240
 attgaggaca caggcacata tttctgtaca agagaggggtg actactgggg ccaaggcacc 300
 act 303

15

<210> 33
 <211> 312
 <212> DNA
 <213> Murina

<400> 33
 ggacctgagc tggagaagcc tggcgcttca gtgaagatat cctgcaaggc ttctgggtcat 60
 tcattcactg gctacaacat gaactgggtg aagcagagca atgacaagag ccttgagtgg 120
 attggaata ttgctcctta ctatggtgtt actgcctaca accagaagtt caagggaag 180
 gccacattga ctggagacaa atcctccagc actgcctaca tgcagctcaa gagcctggca 240
 tctgaggact ctgcagtcta ttactgtgtc ctagacacct cgggctacgc ttcctggggc 300
 caagggactc tg 312

25

<210> 34
 <211> 312
 <212> DNA
 <213> Murina

<400> 34
 gggcctgagc tggagaagcc tggcgcttca gtgaagatat cctgcaaggc ttctgggtcat 60
 tcattcactg gctacaacat gaactgggtg aagcagagca atgacaagag ccttgagtgg 120
 attggaata ttgctcctta ctatggtgtt actgcctaca accagaagtt caagggaag 180
 gccacattga ctggagacaa atcctccagc actgcctaca tgcagctcaa gagcctgaca 240
 tctgaggact ctgcagtcta ttactgtgtc ctagacacct cgggctacgc ttcctggggc 300
 caagggactc tg 312

30

<210> 35
 <211> 251
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

```

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

225      230      235      240
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
245      250

```

5

```

<210> 36
<211> 252
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

10

<400> 36

```

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

```

<210> 37

5 <211> 243

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 37

```

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

```

10

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

<210> 38
 <211> 249
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 38
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Ser Met Val Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gly Ile Asn Thr Asn Thr Gly Asn Pro Thr Tyr Ala Gln Gly Phe
 50 55 60
 Thr Glu Arg Phe Val Phe Ser Phe Asp Ser Ser Val Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Trp Ala Tyr Ser Gly Ser Trp Pro Leu Gly Gln Asn Pro
 100 105 110
 Ser Asp His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
 115 120 125
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val
 130 135 140
 Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg Ala
 145 150 155 160
 Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Asn Leu Ala Trp
 165 170 175
 Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Asp Thr
 180 185 190
 Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser
 195 200 205
 Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser Glu Asp Ser
 210 215 220
 Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ile Trp Pro Pro Leu Thr Phe
 225 230 235 240
 Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 245

<210> 39
 <211> 242
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 39

```

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

```

<210> 40

<211> 245

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 40

```

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

```

```

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

```

<210> 41
 5 <211> 244
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

```

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

```

<210> 42
 <211> 246
 <212> PRT
 15 <213> Homo sapiens

```

<400> 42
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
  1      5      10      15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
      20      25      30

```

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

<210> 43
5 <211> 244
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 43
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Lys Ile Ser Cys Thr Ala Ser Gly Tyr Asn Phe Ala Ser Tyr
20 25 30
Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60
Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Arg Arg Val Pro Leu Tyr Thr Asn Asn His Tyr Leu Asp Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
115 120 125
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Ala Ile Gln Met Thr Gln Ser
130 135 140
Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
145 150 155 160
Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys
165 170 175
Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln
180 185 190
Ser Gly Val Pro Ser Lys Tyr Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
195 200 205
10 Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr
210 215 220
Cys Gln Gln Tyr Lys Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys
225 230 235 240
Val Glu Ile Lys

<210> 44
<211> 239

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 44

Glu 1	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Ser	Asp	Tyr
Phe	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
Gly	Val	Ile	Asn	Pro	Thr	Gly	Gly	Ser	Thr	Thr	Tyr	Ala	Gln	Ser	Phe
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Ile	Val	Tyr
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
Thr	Arg	Val	Gly	Tyr	Tyr	Gly	Met	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu
Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly
Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Thr	Leu	Ser
Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser
Thr	Ser	Arg	Phe	Leu	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro
Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Ala	Ala	Ser	Ser	Leu	His	Ser	Gly	Val	Pro	Ser
Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser
Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Thr	Ser
Ser	Tyr	Pro	Leu	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	

<210> 45

$\langle 211 \rangle$ 246

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 45

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

```

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

```

<210> 46
 <211> 247
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

```

<400> 46
Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1      5      10      15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Ser Gly Ser Phe Thr Arg Asp
      20      25      30
Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
      35      40      45
Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
      50      55      60
Ser Arg Val Thr Thr Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65      70      75      80
Lys Leu Thr Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
      85      90      95
Arg Arg Arg Leu Ser Ser Asp Leu Phe Met Arg Gly Val Gly Gly Met
      100      105      110
Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
      115      120      125
Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met
      130      135      140
Thr Gln Thr Pro Gly Thr Leu Ser Ser Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr
145      150      155      160
Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Gly Val Ser Ser Asn Leu Ala Trp Tyr
      165      170      175
Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser
      180      185      190
Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Leu Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
      195      200      205
Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala
      210      215      220
Val Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Tyr Thr Phe Gly Gln
225      230      235      240
Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
      245

```

<210> 47
 <211> 248
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 47

```

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

```

<210> 48

5

<211> 249

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 48

```

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

```

10

130		135		140
Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Leu Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr				
145		150		155
Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly His Tyr Pro Tyr Trp				
	165		170	
Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Thr Leu Ile Tyr Asp Thr				
	180		185	
Ser Asn Lys His Ser Trp Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu				
	195		200	
Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala Gln Pro Glu Asp Glu				
	210		215	
Ala Glu Tyr Tyr Cys Leu Leu Ser Tyr Ser Gly Thr Arg Val Phe Gly				
225		230		235
Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly				
	245			

<210> 49
 5 <211> 245
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 49
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Phe Lys Glu Tyr Ser Arg Thr Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
115 120 125
Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Ser Tyr Glu Leu Met Gln Pro
130 135 140
Ser Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln Thr Ala Arg Ile Thr Cys Ser
145 150 155 160
Gly Asp Val Leu Ala Lys Lys Cys Ala Arg Trp Phe Gln Gln Lys Pro
165 170 175
Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr Lys Asp Ser Glu Arg Pro Ser
180 185 190
Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Ser Ser Gly Thr Thr Val Thr
195 200 205
Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Val Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys
210 215 220
Tyr Ser Ala Ala Asp Asn Asn Leu Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys
225 230 235 240
Val Thr Val Leu Gly
245

<210> 50
 <211> 246
 <212> PRT
 15 <213> Homo sapiens

<400> 50

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

<210> 51

5 <211> 249

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 51

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

10

```

      180      185      190
Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser
      195      200      205
Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu
      210      215      220
Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Ser Arg Thr Trp Val Phe
      225      230      235      240
Gly Gly Gly Thr Lys Val Ile Val Leu
      245

```

<210> 52
 <211> 246
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

```

<400> 52
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
  1      5      10      15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
  20      25      30
Ala Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
  35      40      45
Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Val Thr Val Lys Tyr Ala Val Ser Val
  50      55      60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
  65      70      75      80
Leu Gln Met Asn Ala Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
      85      90      95
Ala Lys Ala Arg Gly Ala Leu Leu Glu Ala Ala Asp Thr Pro Ser Asp
      100      105      110
Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
      115      120      125
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr
      130      135      140
Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile
      145      150      155      160
Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln
      165      170      175
Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser
      180      185      190
Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
      195      200      205
Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr
      210      215      220
Tyr Tyr Cys Gln Lys Tyr Asn Ser Ala Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly
      225      230      235      240
Thr Lys Val Asp Ile Lys
      245

```

<210> 53
 <211> 244
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

```

<400> 53
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Gly Leu Leu Arg Pro Ser Glu
  1      5      10      15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Gly Leu Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly His
  20      25      30
Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Val Trp Ile
  35      40      45

```


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

<210> 54
 5 <211> 801
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 54
 cagggtgcagc tgggtgcagtc tggagcagag gtgaaaaagc ccgggggagtc tctgaggatc 60
 tccctgcaagg gttctggata cagctttacc agccactgga tcagctgggt gcgccagatg 120
 cccgggaaag gcttggagt gatggggagg attgaccta gtgactctta tagcaactac 180
 agccctcct tccaaggcca cgtcatcatc tcagttgaca agtccatcag cactgcctac 240
 ttgcagtga gacgcctgaa ggcctcggac accgccatat attactgtgc gagacagctc 300
 attgtagtag taccagctgc tccctattac tactactact acggtatgga cgtctggggc 360
 caaggaaccc tggtcaccgt ctctcaggc ggcgggggc ctggcgagg tggcagcagc 420
 ggtggcggat ccgaaattgt gttgacgcag tctccaggca ccctgtcttt gtctccaggg 480
 gaaagagcca ccctctcctg cagggccagt cagactgtta acagctactt agcctggtac 540
 cagtagaaac ctggccaggc tcccaggctc ctcatctatg gtgcatccag cagggccact 600
 ggcattccag acagggttcag tggcagtggg tctgggacag acttcactct caccatcagc 660
 agactggagc ctgaagattt tgcagtgtat tactgtcagc agtatggtag ctcacatccg 720
 tggacgttcg gccaaaggac caaggtggag atcaaactg gcctcggggg cctggtcgac 780
 10 tacaagatg acgatgacaa a 801

<210> 55
 <211> 801
 <212> DNA
 15 <213> Homo sapiens

<400> 55
 cagggttcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60
 tccctgcaagg cttctggagg caccctcagc agctatgcta tcagctgggt gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagt gatgggagg atcatcccta tctttggtac agcaaaactac 180
 gcacagaagt tccagggcag agtcacgatt acccgggacg aatccacgag cacagcctac 240
 atggagctga gacgcctgag atctgaggac acggccatat attactgtgc gagagtcttt 300
 ggttcaggat cgcaagatcc gtccgatatt tggagtgggt attacggtat ggaagtctgg 360
 ggccaaggaa ccctggtcac cgtctcctca ggcggtggcg gctctggcgg aggtggcagc 420
 ggcggtggcg gatccgacat ccagatgacc cagtctccgt cttccgtgtc tgcattctga 480
 ggagacagag tcaccatcac ttgtcgggag agtcagggt ttagcagctg gttagcctgg 540
 tatcagcaga aaccagggaa agcccctaag ctctgatct atgctgcatc cagtttgcaa 600
 agtagggtcc catcaagggt cagcggcagt ggatctggga cagatttcac tctcaccatc 660
 agcagcctgc agcctgaaga ttttgcaact tactattgtc aacaggctaa cagtttccc 720
 tacacttttg gccaggggac caagctggag atcaaactg gcctcggggg cctggtcgac 780
 20 tacaagatg acgatgacaa a 801

<210> 56
<211> 729
<212> DNA
<213> Homo sapiens

5

<400> 56
caggtgcagc tgggtggagtc tggggctgag gcgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggagg caccttcagc agctatgcta tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttgttac agcaaaactac 180
gcacagaagt tccaggggcag agtcacgatt accgcggacg aatccacgag cacagcctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggcctgtt attactgtgc gagagccggt 300
ataactggaa ctacggctcc ccagactac tggggccagg gcaccctggt caccgtctcc 360
tcaggcggcg gcggtccggc cggaggtggc agcggcgggtg gcggatccgt catctggatg 420
accagctctc catcctccct gtctgcatct gtaggagaca gagtcccat cacttgccgg 480
gcaagtccga gcattagcag ctattttaat tggatcagc ggaaaccagg gaaagccctc 540
aagctcctga tctatgctgc atccagtttg caaagtgggg tcacatcaag gttcagtggtc 600
agtggatctg gcacagattt cactctcacc atcagcagtc tgcaacctga agattttgca 660
acttactact gtcaacagag ttacagtacc cctccgacgt tcggccaagg gaccaagctg 720
gagatcaaa 729

<210> 57
<211> 792
<212> DNA
<213> Homo sapiens

10

<400> 57
caggtgcagc tgggtgcagtc cggatctgag ttaaagaagc ctggggcctc agtgaagctt 60
tcctgcaggg cttctggata cacattcact agttattcca tgggttgggt gcgacaggcc 120
cctggagaag ggcttgagtg gatgggaggg atcaacacca aactgggaa cccaacgtat 180
gcccagggtc tcacagaacg gtttgtcttc tccttcgaca gctctgtcag cacggcatat 240
ctgcaaatca gcagcctaaa ggctgaggac actgccgtgt attactgtgc gagagatttg 300
gcgtatagcg gcagctggcc cttaggccag aacccttctg accactgggg ccagggcacc 360
ctggtcaccc tctcctcagg cggcggcggc tctggcggag gtggcagcgg cgggtggcga 420
tccgaaatag tgatgacgca gtctccagcc accctgtctg tgtctccagg ggaaagagcc 480
accctctcct gcagggccag tcagagtgtt agccgcaact tagcctggtg ccagcagaaa 540
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat gatacatcca ccagggccac tggatccca 600
gccaggttca gtggcagtg gtctgggaca gagtccactc tcaccatcag cagcctgcag 660
tctgaagatt ctgcagttta ttactgtcag cagtataata tctggcctcc actcactttc 720
ggcggaggga ccaaggtgga gatcaaacgt ggctcggggg gcctggtcga ctacaaagat 780
gacgatgaca aa 792

15

<210> 58
<211> 774
<212> DNA
<213> Homo sapiens

20

<400> 58
caggtgcagc tacagcagtg gggcgagga ttgttgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
acctgcgctg tctatggttg gtccctcagt ggttactacc ggacctggat ccgccagtcc 120
ccagtgaagg ggctggagtg gattggggaa gtcaatgatc gtggaagccc caactacaac 180
ccgtccttca agagtcgact caccatatac atcgacacgt ccaagaacta gttatccctg 240
aagttgagat ttatgaccgc cgcggacacg gctgtatatt cgtgtgcgag aattaggcct 300
aggtacggta tggacgtctg gggccagggg acaatggtca ccgtctcctc aggcggcggc 360
ggctctggcg gaggtggcag cagcgtggc ggatccgata ttgtgatgac ccagactcca 420

ctctcctcac ctgtcaccct tggacagccg gcctccatct cctgcaggtc tagtcaaagc 480
ctcgtacaca gtgatgaaa cacctacttg acttggtttc accagaggcc aggcagcct 540
ccaagagtc cacttcataa ggtttctaac ctgttctctg gggctcccaga cagattcagt 600
ggcagtgagg cagggacaga tttcacactg aaaatcagca ggggtggaagc tgaggatgtc 660
ggggtttatt actgcatgca agctacacaa ttgtacactt ttggccaggg gaccaaggtg 720
gaaatcaaac gtggcctcgg gggcctggtc gactacaaag atgacgatga caaa 774

25

<210> 59
<211> 735
<212> DNA
<213> Homo sapiens

30

```

<400> 59
gagggtccagc tgggtacagtc tgggggctgag gtgaagaagc ctgggggcctc agtgaaggctc 60
tcctgcaagg tttccggata caccctcact gaattatcca tgcactgggt gcgacaggct 120
cctggaaaag ggcttgagtg gatgggaggt tttgatectg aagatgggtg aacaatctcc 180
gcgcagaagt tccagggcag agtcaccatg accgaggaca catctacaga cacagcctac 240
atggatctga gcagcctgag atctgaggac acggccggtt attactgtgc aacgcagcgc 300
ttgtgtagtg gtggtcgctg ctactccac tttgactact ggggccaggg caccacggctc 360
accgtctcct caggcggcgg cggctctggc ggaggtggca gcggcgggtg cggatccgaa 420
acgacactca cgcagtcctc agcaatcatg tctgcatctc caggggagag ggtcaccatg 480
acctgcagtg ccagctcaag tatacgttac atatattggg accaacagaa gcctggatcc 540
tccccagac tcctgattta tgacacatcc aacgtggctc ctggagtcct ttttcgcttc 600
agtggcagtg ggtctgggac ctcttattct ctcaaatca accgaatgga ggctgaggat 660
gctgccactt attactgcca ggagtggagt ggttatccgt acacgttcgg aggggggacc 720
aagggtggaga tcaaaa 735

```

```

<210> 60
<211> 777
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 60
cagatgcagc tgggtgcagtc tgggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggctc 60
tcctgcaagg cttctggagg caccctcaac acctatgtta tcagttgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagcgtt acaatggtaa cacaaactat 180
gcacagaagc tccagggcag agtcaccatg accacagaca catccacgag cacagcctac 240
atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagagtttg 300
agtccccttg actactgggg ccagggcacc ctggtcaccg tctcctcagg cggcgggtggc 360
tctggcggag gtggcagcgg cgggtggcgg tccgacatcg tgatgacca gtctccagac 420
tcctgggtg tgtctctggg cgagagggcc acctcaact gcaagtccag ccagagtgtt 480
ttatacagct ccaacaatat gaactactta gcttggtacc agcagaaacc aggacagcct 540
cctaagctgc tcatattactg ggcactctacc cgggaatccg gggtccctga ccgattcagt 600
ggcagcgggt ctgggacaga ttctactctc accatcagca gcctgcaggc tgaagatgcg 660
gcagtttatt actgtcagca gtattatagt actcctccga cgttcggcca agggaccaag 720
ctggagatca aacgtggcct cgggggcctg gtcgactaca aagatgacga tgacaaa 777

```

```

<210> 61
<211> 783
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 61
caggtgcagc tgggtgcaatc tgggggctgag gtgaagaagc ctgggggcctc agtgaaggctc 60
tcctgcaagg gttctggata caccctcacc ggctactata tgcactgggt gccacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcaacccta acaatgggtg cacaaactat 180
gaccagaagt ttcagggcag ggtcgccatg accagggaca cgtccatctc cacagcctac 240
atggagctga gcaggtctgag atctgacgac actgccgtgt attactgtgc gagagataat 300
gggaggggtg ccacaggggg ctactggggc cagggcaccc tggtcaccgt ctccctcaggc 360
ggcggcgggt ctggcggagg tggcagcagc ggtggcggat cccagtctgt gttgacgcag 420
cctccctcat tgtctggggc cccgggacag agtgtcacca tctcctgcgc tgggaccagt 480
tccagcatcg gggcagggtta cgtgtacag tggtagcagc aacttccagg aaaaaccccc 540

aaactcctca tctacgggaa tgataatcgg ccctcagggg tccctgaccg attctctgga 600
tccaggtctt acacctcagc ctccctggtc atcactagag tccagattga ggatgaggct 660
gattattact gccagtcgta tgacagcagt ctattgggtc ctcaattcgg cggggggacc 720
aagctgaccg tcctaggtgg cctcgggggc ctggtcgact acaaagatga ccatgacaaa 780
tac 783

```

```

<210> 62
<211> 732
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

<400> 62
cagggtgcagc tgggtgcaatc tgggggctgag gtgaaaaagc ccgggggagtc tctgaagatc 60
tcctgtacgg cctccggata caactttgcc agctactgga tcggctgggt gcgccagatg 120
cccgggcaag gcctggagtg gatggggatc atctatcctg gtgactctga taccagatac 180
agtccgtcct tccaaggcca ggtcaccatc tcagccgaca agtccatcag caccgcctac 240
ctgcagtgga gcagcctgaa ggcctcggac accgccacgt attactgtgt gagacgggtc 300
cccctctaca ctaacaacca ctacctgac tattggggcc agggcaccct ggtcaccgtc 360
tcctcaggcg gcggcggctc tggcggaggt ggcagcggcg gtggcggatc cggcatccag 420
atgacccagt ctccatcctc actgtctgca tctgtaggag acagagtcac catcacttgt 480
cgggcgagtc agggcattag caattattha gcctggtttc agcagaaacc agggaaagcc 540
cctaagtccc tgatctatgc tgcattcagt ttgcaaagtg ggggtccatc aaagtacagc 600
ggcagtggtat ctggggacaga tttcactctc accatcagca gcctgcagcc tgaagatttt 660
gcaacttatt actgccaaca gtataagagt taccctctca ctttcggcgg agggaccaag 720
gtggagatca aa 732

<210> 63
5 <211> 762
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 63
gaggtgcagc tgggtgcagtc tgggggctgaa gtgaagaagc ctgggggcctc agtgaaggtt 60
tcctgtaagg catctggata caccttcagc gactacttta tgcaactgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggagta atcaaccctc ctgggtgggtc cacaacctac 180
gcacagagct tccagggcag agtcaccatg accagagaca cgtccacagag catagtctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaagac acggccgtgt actactgtac gcgagtcggc 300
tactacggta tggacgtctg gggccaagcc accctggta cgtctcctc aggcggcggc 360
ggctctggcg gaggtggcag cggcgggtggc ggatccgaca tcgtgatgac ccagtctcca 420
tccacctgt ctgcatctgt aggagacaga gtcaccatca cttgccgggc aagtcagagc 480
actagcaggt ttttaaatg gtatcagcag aaacctggga aagcccctaa actcctgatc 540
tatgtgcat ccagtttgca tagtggcgtc ccatacaagg tcagtggcag tggatctggg 600
acagatttca ctctcaccat cagcagtcgt caacctgaag attttgcaac ttactactgt 660
caacagactt ccagttaccc tctcactttc ggcggaggga ccaaggtgga aatcaaaccgt 720
10 ggcctcgggg gcctgggtcga ctacaaagat gacgatgaca aa 762

<210> 64
<211> 783
<212> DNA
15 <213> Homo sapiens

<400> 64
cagggtccagc tgggtacagtc tgggggagggc gtggtccagg ttggggaggtc cctgagactt 60
tcctgtgcgg cctctggatt caccttcaca aactttggca tgcaactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcactc atctcatctg atggatatag acaggcctat 180
gcagactccg tgaaggggccg gttcaccatc tccggagaca actccaagaa cacagtgtat 240
ctgcaaatga acagcctgac aagtgaggac acggctgttt attactgtgc catcataccc 300
cctgtattac ggatttttga ttgggaattt gactactggg gccagggaac cctggtcacc 360
gtctcctcag gcggcggcgg ctctggcggg ggtggcagcg gcgggtggcg atccgaaacg 420
acactcacgc agtctccagg caccctgtct ttgtctccag gggaaagagc caccctctcc 480
tgcaggggcca gtcagagtggt ttccagcccc tacttagcct ggtaccagca gaaacctggc 540
caggctccca ggctcctcat ttatggtgca tctaacaggg ccactggcat ccagacagc 600
ttcagtgcca gtgggtctgg gacagacttc actctcacca tcagcagcct gcaggctgaa 660

gatgaggcag tttattactg tcagcaatac tacaatactc cgctcacttt cggcggaggg 720
accaaagtgg aaatcaaacg tggcctcggg ggctggtcg actacaaaga tgacgatgac 780
20 aaa 783

<210> 65
<211> 786
<212> DNA
25 <213> Homo sapiens

<400> 65
cagggtgcagc tacagcagtg gggcgcaggc ctgttgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
acctgcgctg tctatagtg gtcttttact cgtgactaot ggggctggat ccgccagccc 120
cccgggaagg ggctggagtg gattggggaa atcaatcata gtggaagcac caactacaac 180
ccgtccctca agagtcgagt caccacgtcg gttagacaagt ccaagaatca gttctccctg 240
aagttgacct ctgtgaccgc cgcggacacg gctgtctatt actgtgcgag acgccggctt 300
tctagcgacc tcttcatgcg gggggttggc ggtatggacg tctggggcca aggcaccctg 360
gtcaccgtct cctcaggcgg cgcgggctct ggcggaggtg gcagcggcgg tggcggatct 420
gatattgtga tgaccagac tccaggcacc ctgtcttcgt ctccaggggg aagagccacc 480
ctctcctgca gggccagtcg ggtgttagc agcaacttag cctggtacca gcagaaacct 540
ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaca gggccactgg catccactc 600
aggttcagtg gcagtggttc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag actggaacct 660
gaagattttg cagtgtatta ctgtcaccag tatggtagct caccgtacac ctttggccag 720
gggaccaagg tggaaatcaa acgtggcctc gggggcctgg tcgactacaa agatgacgat 780
gacaaa 786

<210> 66
5 <211> 789
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 66
gagggtgcagc tgggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggtta cacccttacc agctatggta tcagctgggt gcgacaggcc 120
tctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagcgctt acaatggtaa cacaaactat 180
gcacagaagc tccaggggcag agtcaccatg accacagaca catccacgag cacagcctac 240
atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagagtacct 300
cgatattttg actggttatt atacgggagc gactactttg actactgggg ccagggaacc 360
ctggtcaccg tctcctcagg cggcggcggc tctggcggag gtggcagcag cgggtggcgg 420
tccgacatcc agatgaccca gtctccttcc accctgtctg tatctgtagg agacagagtc 480
accatcactt gtcggggcag tcagggtatt agcagctggg tagcctggtg tcagcagaaa 540
ccagggaaag cccctaagct cctgatctat gctgcatcca gtttgcaaaag tggggtccca 600
tcaagggttca gcctcagtg atctgggaca ctcttcaactc tcaactatcag cagcctgcag 660
cctgaagatt ttgcaactta ctattgtcaa caggctaaca gtttcccgtc cactttcggc 720
ggaggggacca agctggagat caaacgtggc ctcgggggcc tgggtcgacta caaagatgac 780
gatgacaaa 789

<210> 67
10 <211> 747
<212> DNA
15 <213> Homo sapiens

<400> 67
cagggtgcagc tgggtgcaatc tggagctgag gtgaaggagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggagg caccctcagc agctatgcta tctactgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcatcccta tccttggtat agcaaaactac 180
gcacagaagt tccaggggcag agtcacgatt accgcggaca aatccacgag cacagcctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagctgcc 300
ggtcatagta ctaactacta ctactacggt atggacgtct ggggccaaag caccctggtc 360
accgtctcct caggcggcgg cggctctggc ggaggtggca gcagcgggtg cggatcccag 420
actgtggtga cccaggagcc ctactgact gtgtccctag gagggacagt cactctcacc 480
tgtgggtcca gcactggagc tgtcaccagt ggtcattatc cctactggtt ccagcagaag 540
cctggccaag cccccaggac actgatttat gatcaagca acaaacactc ctggacccct 600
gcccggttct caggctccct ccttgggggc aaagctgccc tgacccttc ggggtgcgag 660
cctgaggatg aggtctgagta ttactgcttg ctctcctata gtggtactcg ggtgttcggc 720
ggaggggacca agctgaccgt cctaggt 747

<210> 68
20 <211> 735
<212> DNA
25 <213> Homo sapiens

<400> 68
gaggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagggtt 60
tcctgcaagg catctggata caccttcacc aactactata tgcactgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtgggtggtag cacaagctac 180
gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg actagggaca cgtccacgag cacagtctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatttc 300
aaagagtata gccgtacggg ctactttgac tactggggcc agggcaccct ggtcaccgtc 360
tcctcagggc gcggcggctc tggcggagggt ggcagcagcg gtggcggatc ctccctatgag 420
ctgatgcagc catcctcagt gtcagtgtct ccgggacaga cagccaggat cacctgctca 480
ggagatgtac tggcaaaaaa atgtgctcgg tggttccagc agaagccagg ccaggccctc 540
gtgctgggtga tttataaaga cagtgaagcg ccctcaggga tccctgagcg attctccggc 600
tccagctcag ggaccacagt caccttgacc atcagcgggg cccaggttga ggatgaggct 660
gactattact gttactctgc ggctgacaac aacctggggg tgttcggcgg agggaccaag 720
gtcaccgtcc taggt 735

<210> 69
5 <211> 783
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 69
cagatcacct tgaaggagtc tggctcctgag ctgggtgaaac ccacacagac cctcacgctg 60
acctgcaact tctctgggtt ctccctcagc acttatggag ggggtgtggg ctggctccgt 120
cagccccag gaaaggccct ggagtggctt gccgtcattt attggagtga tggtaaacgc 180
tacagccct ctgtaaagaa ccggctcacc atcaccaagg acacctccaa aaaccacgtg 240
gtcctgacaa tgaccaacat ggacctgtg gacacagcca cctattattg tgcacacctt 300
atgatggata catctattac taccactgg ttcgaccctt ggggccaggg aacctgtgtc 360
accgtctcct caggcggcgg cggctctggc ggaggtggca gcggcgggtg cggatccgcc 420
atccggatga cccagtctcc atcctccctg tctgcatctg taggagacag agtcaccatc 480
acttgcgggg cgagtcaggg cattagcaat tatttagcct ggtatcagca gaaaccaggg 540
aaagtcccta agctcctgat ctatgtgca tccactttgc aatcaggggt cccatctcgg 600
ttcagcggca gtggatctgg gacagatttc actctacca tcagcagcct gcagcctgaa 660
gatgttgcaa cttattactg tcaaaagtat aacagtggcc ctgggacgtt cggccaaggg 720
accaaggtgg agatcaaac tggcctcggg ggctgtgtcg actacaaaga tgacgatgac 780
aaa 783

<210> 70
10 <211> 747
<212> DNA
15 <213> Homo sapiens

<400> 70
caggtgcagc tgggtgcaatc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaagggtt 60
tcctgcaagg catctggata caccttcacc aactacttta tacactgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggacta ctcaacccta ctgatagtgg cactctctac 180
gcacagaact tccagggcag aatcaccatg accagtgaca cgtccacaaa cacagtctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgacgac acggccatgt attactgtgc aagagagggg 300
ggggccgaca ctaccgggt ccactcttcg ttgactact ggggccaggg aacctgtgtc 360
accgtctcct caggcggcgg cggctctggc ggaggtggca gcagcgggtg cggatccag 420
gctgtgctga ctacgcccgc ttccgtgtcg ggtctcctg gacagtcgat caccatctcc 480
tgcactggaa ccagcagtgat cgttgaagct tacaactatg tctcctggtg tcaacaacac 540

ccaggcaaaag cccccaaact catgatttat gatgtcagta atcgccctc aggggtttct 600
aatcgcttct ctggctccaa gtctggcaac acggcctccc tgaccatctc tgggctccag 660
gctgaggacg aggtctgatta ttactgcagc tcatatacaa gcagcagcac ttgggtgttc 720
ggcggaggga ccaaggtcat cgtccta 747

<210> 71
20 <211> 738
<212> DNA
25 <213> Homo sapiens

<400> 71
caggtgcagc tgcaggagtc ggggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cactttgat gattatgcc tccactgggt ccggcaagct 120
ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttgga atagtgttac cgtaaagtat 180
gcggtctctg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgttt 240
ctgcaaatga acgctctgag atctgaggac acggccttat attactgtgc aaaagccaga 300
ggggccctct tagaagcagc tgacacacca tctgaogact ggggccaggg caccctgggtc 360
accgtctcct caggcggcgg cggtctctgg ggaggtggca gcggcgggtg cggtaccgac 420
atcgtgatga cccagtctcc gtccctccctg tctgcatctg taggagacag agtcaccatc 480
acttgccggg caagtcagag cattagcagc tatttaaatt ggtatcagca gaaaccaggg 540
aaagccccta agtcctgat ctatgctgca tccagtttgc aaagtgggt cccatcaagg 600
ttcagtgcca gtggatctgg gacagatttc actctacca tcagcagcct gcagcctgaa 660
gatgttgcaa ctattactg tcaaaagtat aacagtgcc cgtggacgtt cggccaaggg 720
accaaagtgg atatcaaa 738

<210> 72
5 <211> 732
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 72
caggtacagc tgcagcagtc aggcgcaggt ctattgaggc cttcggagac cctgtccctc 60
acctgcgggtc tctatggttg gtccctcagt ggtcactatt ggaactggat ccgccagtc 120
ccagaaaagg ggctgggtgt gattggggaa atcactcata gtggaaccac caattacaac 180
ccgtccctca agctgcagtc catcacatca gtagacacgt ccaagaatca gtactccctg 240
aagctgagct ttgtgacccc tgcggacacg gccgtgtatt actgtgcgag aggtgattac 300
tatgggtact ggtacttcga tctctggggc cgtggcacc cgggtcaccgt ctccctcaggc 360
ggcggcggtc ctggcggagg tggcagcggc ggtggcggat cccagtctgt gttgacgcag 420
ccgccctcag ttcctgtggc ccagagacag aaggtcacca tctcctgctc tggaaagcagc 480
tccaacattg ggaataatta tgtatcctgg taccagcagc tcccaggaa agccccaaa 540
ctcctcattt atgacactaa taagcgaccc tcagggatcc ctgaccgatt cgctggctcc 600
aagctctggc cgctcagccac cctgggcatc accggactcc agactgggga cgaggccgat 660
tattactgcg gaacatggga tagcagcctg agtgctggcg tgttcggcgg agggaccaag 720
10 ctgaccgtcc ta 732

<210> 73
<211> 369
15 <212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 73
gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtc gactgttaac agctacttag cctggtacca gtagaaacct 120
ggccaggctc ccaggctcct catctatggt gcatccagca gggccactgg catcccagac 180
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcaactctca ccatcagcag actggagcct 240
gaagattttg cagtgtatta ctgtcagcag tatggtagct cacatccgtg gacgttcggc 300
caagggacca aggtggagat caaacgtggc ctcgggggcc tgggtcgacta caaagatgac 360
gatgacaaa 369

20 <210> 74
<211> 366
<212> DNA
<213> Homo sapiens

25 <400> 74
gacatccaga tgaccagtc tccgtcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgctc gggcgagtc ggggtattag agctgggttag cctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtc tgcaaagtag ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcaactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tcccgtaac ttttggccag 300
gggaccaagc tggagatcaa acgtggcctc gggggcctgg tcgactacaa agatgacgat 360
gacaaa 366

<210> 75
30 <211> 366
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 75
gtcatctgga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcggaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcattccagtt tgcaaagtgg ggtcacatca 180
aggttcagtg gcagtgatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagatcttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgac gttcggccaa 300
gggaccaagc tggagatcaa acgtggcctc gggggcctgg tcgactacaa agatgacgat 360
gacaaa 366

<210> 76
5 <211> 369
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 76
gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtc gagtgtagc cgcaacttag cctggtacca gcagaaacct 120
ggccaggctc ccaggctcct catctatgat acatccacca gggccactgg tatccagcc 180
aggttcagtg gcagtggtc tgggacagag ttactctca ccatcagcag cctgcagtct 240
gaagattctg cagtttatta ctgtcagcag tataatatct ggctccact cactttcggc 300
ggagggacca aggtggagat caaacgtggc ctcgggggcc tggtcgacta caaagatgac 360
gatgacaaa 369

10 <210> 77
<211> 333
<212> DNA
15 <213> Homo sapiens

<400> 77
gatattgtga tgaccagac tccactctcc tcacctgtca cccttgaca gccggcctcc 60
atctcctgca ggtctagtca aagcctccta cacagtgatg gaaacaccta cttgacttgg 120
tttcaccaga gccaggcca gcctccaaga gtccctattc ataaggtttc taacctgttc 180
tctgggtccc cagacagatt cagtggcagt ggggcaggga cagatttcac actgaaaatc 240
agcagggtgg aagctgagga tgtcggggtt tattactgca tgcaagctac acaattgtac 300
acttttggcc aggggaccaa ggtggaaatc aaa 333

20 <210> 78
<211> 363
<212> DNA
<213> Homo sapiens

25 <400> 78
gaaacgacac tcacgcagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gagggtcacc 60
atgacctgca gtgccagtc aagtatacgt tacatatatt ggtaccaaca gaagcctgga 120

tccctccccc gactcctgat ttatgacaca tccaacgtgg ctctggagt cccttttcgc 180
ttcagtggca gtgggtctgg gacctcttat tctctcaca tcaaccgaat ggaggctgag 240
gatgtgccca ctattactg ccaggagtgg agtggttatc cgtacacgtt cggagggggg 300
accaaggtgg agatcaaacy tggcctcggg ggcctggtcg actacaaaga tgacgatgac 360
aaa 363

30 <210> 79
<211> 384
<212> DNA
<213> Homo sapiens

35 <400> 79
gacatcgtga tgaccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggga gagggccacc 60
atcaactgca agtccagcca gagtgtttta tacagctcca acaatatgaa ctacttagct 120
tggtaccagc agaaaccagg acagcctcct aagctgctca ttactgggc atctacccgg 180
gaatccgggg tcctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240
atcagcagcc tgcaggctga agatgcggca gtttattact gtcagcagta ttatagtact 300
cctccgacgt tcggccaagg gaccaagctg gagatcaaac gtggcctcgg gggcctggtc 360
gactacaaag atgacgatga caaa 384

<210> 80
<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 80

```

cagtctgtgt tgacgcagcc tccctcattg tctggggccc cgggacagag tgtcaccatc 60
tcctgcgctg ggaccagttc cagcatcggg gcaggttacg atgtacagtg gtaccagcaa 120
cttcaggaa aaacccccaa actcctcatc tacgggaatg ataatcggcc ctcaggggtc 180
cctgaccgat tctctggatc caggctctac acctcagcct ccctgggtcat cactagagtc 240
cagattgagg atgaggctga ttattactgc cagtcgtatg acagcagtcct cattggtcct 300
caattcggcg gggggaccaa gctgaccgtc cta                                     333

```

5

<210> 81

<211> 321

<212> DNA

10 <213> Homo sapiens

<400> 81

```

gccatccaga tgaccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgct gggcgagtc gggcattagc aattatttag cctgggttca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagtcctt gatctatgct gcattccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aagtacagcg gcagtggtc tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgccaacag tataagagtt acccctcac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a                                     321

```

15

<210> 82

<211> 321

<212> DNA

<213> Homo sapiens

20

<400> 82

```

gacatcgtga tgaccagtc tccatccacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gacactagc aggtttttta attggtatca gcagaaacct 120
gggaaagccc ctaaaactcct gatctatgct gcattccagtt tgcatagtgg cgtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggtc tgggacagat ttactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag acttccagtt accctctcac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggaaatcaa a                                     321

```

<210> 83

<211> 324

25 <212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 83

```

gaaacgacac tcacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtc gagtgtttcc agccctact tagcctggta ccagcagaaa 120
cctggccagg ctcccaggct cctcatttat ggtgcatcta acagggccac tggcatccca 180
gacaggttca gtggcagtg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagcctgcag 240
gctgaagatg aggcagttta ttactgtcag caatactaca atactccgct cactttcggc 300
ggagggacca aggtggaaat caaa                                     324

```

30

<210> 84

<211> 321

<212> DNA

<213> Homo sapiens

35

<400> 84

```

gatattgtga tgaccagac tccaggcacc ctgtcttcgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtc ggggtgttagc agcaacttag cctgggtacca gcagaaacct 120
ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcattcaaca gggccactgg catccactc 180
aggttcagtg gcagtggtc tgggacagac ttactctca ccatcagcag actggaacct 240
gaagattttg cagtgtatta ctgtcaccag tatggtagct caccgtacac ctttggccag 300
gggaccaagg tggaaatcaa a                                     321

```

40

<210> 85

<211> 321

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 85
gacatccaga tgaccagtc tccttccacc ctgtctgtat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgctc gggcgagtca ggggtattagc agctgggttag cctgggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggtac tgggacagat ttcactctca ctatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tcccgtcac tttcggcgga 300
gggaccaagc tggagatcaa a 321

5 <210> 86
<211> 327
<212> DNA
<213> Homo sapiens

10 <400> 86
cagactgtgg tgaccagga gccctcactg actgtgtccc taggagggac agtcactctc 60
acctgtggct ccagcactgg agctgtcacc agtgggtcatt atccctactg gttccagcag 120
aagcctggcc aagccccag gacactgatt tatgatacaa gcaacaaaca ctccctggacc 180
cctgcccggg tctcaggctc cctccttggg ggcaaagctg ccctgaccct ttcgggtgcg 240
cagcctgagg atgaggctga gtattactgc ttgtctctct atagtgggtac tcgggtgttc 300
ggcgaggagg ccaagctgac cgtccta 327

<210> 87
<211> 321
15 <212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 87
tcctatgagc tgatgcagcc atccctcagtg tcagtgtctc cgggacagac agccaggatc 60
acctgctcag gagatgtact ggcaaaaaaa tgtgtctcggg ggttccagca gaagccaggc 120
caggcccctg tgctgggtgat ttataaagac agtgagcggc cctcagggat ccctgagcga 180
ttctccggct ccagctcagg gaccacagtc accttgacca tcagcggggc ccagggttgag 240
gatgaggctg actattactg ttactctcgg gctgacaaca acctgggggt gttcggcgga 300

20 gggaccaagg tcaccgtcct a 321

<210> 88
<211> 321
25 <212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 88
gccatccgga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcgagtca gggcattagc aattatttag cctgggtatca gcagaaacca 120
gggaaagtcc ctaagctcct gatctatgct gcatccactt tgcaatcagg ggtcccatct 180
cggttcagcg gcagtggtac tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagatgttg caacttatta ctgtcaaaag tataacagtg cccctgggac gttcggccaa 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

30 <210> 89
<211> 330
<212> DNA
<213> Homo sapiens

35 <400> 89
caggctgtgc tgactcagcc gccttccgtg tcggggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60
tcctgcactg gaaccagcag tgacgttgaa gcttacaact atgtctcctg gtatcaacaa 120
caccagggca aagccccaa actcatgatt tatgatgtca gtaatcggcc ctccaggggtt 180
tctaatacgt tctctggctc caagtctggc aacacggcct ccctgaccat ctctgggctc 240
caggctgagg acgaggctga ttattactgc agctcatata caagcagcag cacttgggtg 300
ttcggcgagg ggaccaaggt catcgtccta 330

<210> 90
40 <211> 321
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 90
gacatcgtga tgacccagtc tccgtcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcattccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggtac tgggacagat ttcaactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagatggtg caacttatta ctgtcaaaag tataacagtg ccccggtggac gttcgggcaa 300
gggaccaaag tggatatcaa a 321

<210> 91
5 <211> 330
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 91
cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtt cctgtggccc caggacagaa ggtcaccatc 60
tcctgctctg gaagcagctc caacattggg aataattatg taccctggtg ccagcagctc 120
ccaggaacag cccccaaact cctcatttat gacactaata agcgaccctc agggattcct 180
gaccgattcg ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tgggcatcac cggactccag 240
actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata gcagcctgag tgctggcgtg 300
10 ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta 330

<210> 92
<211> 8
<212> PRT
15 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> péptido sintético a

20 <220>
<221>VARIANTE
<222> 4
<223> Xaa = Ser, Tyr, Cys, Lys o un aminoácido con una cadena lateral químicamente modificada

25 <400> 92
Tyr Ser Thr Xaa Asp Phe Ile Met
1 5

<210> 93
<211> 8
30 <212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> péptido sintético a

35 <220>
<221>VARIANTE
<222> 4
<223> Xaa = Ser, Tyr, Cys, Lys o un aminoácido con una cadena lateral químicamente modificada

40 <400> 93
Tyr Ser Thr Xaa Tyr Phe Ile Met
1 5

<210> 94
45 <211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
50 <223> péptido sintético a

<220>
<221>VARIANTE

<222> 3
 <223> Xaa = Ser, Tyr, Cys, Lys o un aminoácido con una cadena lateral químicamente modificada

<400> 94
Ile Asn Xaa Asp Phe Leu Leu
 5 1 5

<210> 95
 <211> 9
 <212> PRT
 10 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> péptido sintético a
Gly Val Asn Ala Xaa Ser Ser Leu Phe
 15 1 5

<220>
 <221>VARIANTE
 <222> 5
 <223> Xaa = Ser, Tyr, Cys, Lys o un aminoácido con una cadena lateral químicamente modificada

20 <400> 95

<210> 96
 <211> 9
 25 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> péptido sintético a

30 <220>
 <221>VARIANTE
 <222> 5
 <223> Xaa = Ser, Tyr, Cys, Lys o un aminoácido con una cadena lateral químicamente modificada

35 <400> 96
Gly Val Asn Pro Xaa Gly Gly Trp Phe
 1 5

<210> 97
 <211> 9
 40 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 45 <223> péptido sintético a

<220>
 <221>VARIANTE
 <222> 5
 50 <223> Xaa = Ser, Tyr, Cys, Lys o un aminoácido con una cadena lateral químicamente modificada

<400> 97
Lys Ala Lys Thr Xaa Thr Val Leu Tyr
 1 5

55 <210> 98
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

60 <220>
 <223> péptido sintético a

<220>
 <221>VARIANTE
 <222> 5
 <223> Xaa = Ser, Tyr, Cys, Lys o un aminoácido con una cadena lateral químicamente modificada
 5
 <400> 98
Lys Thr Lys Thr Xaa Thr Val Leu Tyr
 1 5
 <210> 99
 10 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 15 <223> péptido sintético a
 <220>
 <221>VARIANTE
 <222> 5
 20 <223> Xaa = Ser, Tyr, Cys, Lys o un aminoácido con una cadena lateral químicamente modificada
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> 6
 25 <223> Xaa = Orn
 <400> 99
Gly Ala Asn Pro Xaa Xaa Leu Tyr Tyr
 1 5
 30 <210> 100
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 35 <220>
 <223> péptido sintético a
 <220>
 <221>VARIANTE
 40 <222> 5
 <223> Xaa = Ser, Tyr, Cys, Lys o un aminoácido con una cadena lateral químicamente modificada
 <400> 100
Gly Ala Asn Pro Xaa Ala Leu Tyr Tyr
 1 5
 45 <210> 101
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 50 <220>
 <223> péptido sintético a
 <220>
 <221>VARIANTE
 55 <222> 5
 <223> Xaa = Ser, Tyr, Cys, Lys o un aminoácido con una cadena lateral químicamente modificada
 <400> 101
Gly Tyr Ser Thr Xaa Ser Tyr Tyr Phe
 60 1 5

<210> 102
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 5
 <220>
 <223> péptido sintético a
 <220>
 10 <221>VARIANTE
 <222> 5
 <223> Xaa = Ser, Tyr, Cys, Lys o un aminoácido con una cadena lateral químicamente modificada
 <400> 102
 15 **Gly Tyr Arg Thr Xaa Asn Thr Tyr Phe**
 1 5
 <210> 103
 <211> 8
 <212> PRT
 20 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> péptido sintético a
 25 <220>
 <221>VARIANTE
 <222> 4
 <223> Xaa = Ser, Tyr, Cys, Lys o un aminoácido con una cadena lateral químicamente modificada
 30 <400> 103
Tyr Asn Pro Xaa Val Gly Tyr Phe
 1 5
 <210> 104
 <211> 9
 35 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> péptido sintético a
 40 <220>
 <221>VARIANTE
 <222> 5
 <223> Xaa = Ser, Tyr, Cys, Lys o un aminoácido con una cadena lateral químicamente modificada
 45 <400> 104
Gly Gly Lys Val Xaa Ser Ala Tyr Phe
 1 5
 <210> 105
 50 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 55 <223> péptido sintético a
 <220>
 <221>VARIANTE
 <222> 5
 60 <223> Xaa = Ser, Tyr, Cys, Lys o un aminoácido con una cadena lateral químicamente modificada

<400> 105
Ser Val Lys Pro Xaa Thr Gly Phe Ala
 1 5

5 <210> 106
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> péptido sintético a

15 <220>
 <221>VARIANTE
 <222> 4
 <223> Xaa = Ser, Tyr, Cys, Lys o un aminoácido con una cadena lateral químicamente modificada

<400> 106
Asp Ser Val Xaa Ala Ser Tyr Phe
 1 5

20 <210> 107
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> péptido sintético a

30 <220>
 <221>VARIANTE
 <222> 5
 <223> Xaa = Ser, Tyr, Cys, Lys o un aminoácido con una cadena lateral químicamente modificada

<400> 107
Lys Tyr Asn Pro Xaa Ser Asn Tyr Leu
 1 5

35 <210> 108
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

40 <220>
 <223> péptido sintético a

45 <220>
 <221>VARIANTE
 <222> 5
 <223> Xaa = Ser, Tyr, Cys, Lys o un aminoácido con una cadena lateral químicamente modificada

<400> 108
Lys Tyr Asn Pro Xaa Ala Ser Tyr Leu
 1 5

50 <210> 109
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

55 <220>
 <223> péptido sintético a

60 <220>
 <221>VARIANTE

<222> 5
 <223> Xaa = Ser, Tyr, Cys, Lys o un aminoácido con una cadena lateral químicamente modificada

<400> 109
Lys Tyr Asn Pro Xaa Ala Asn Tyr Leu
 5 1 5

<210> 110
 <211> 9
 <212> PRT
 10 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> péptido sintético a

15 <220>
 <221>VARIANTE
 <222> 5
 <223> Xaa = Ser, Tyr, Cys, Lys o un aminoácido con una cadena lateral químicamente modificada

20 <400> 110
Arg Ile Pro Thr Xaa Thr Gly Phe Phe
 1 5

<210> 111
 <211> 7
 25 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> péptido sintético a

30 <220>
 <221>VARIANTE
 <222> 3
 <223> Xaa = Ser, Tyr, Cys, Lys o un aminoácido con una cadena lateral químicamente modificada

35 <400> 111
Asp Ile Xaa Asn Ala Tyr Phe
 1 5

<210> 112
 40 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 45 <223> péptido sintético a

<220>
 <221>VARIANTE
 <222> 3
 50 <223> Xaa = Ser, Tyr, Cys, Lys o un aminoácido con una cadena lateral químicamente modificada

<400> 112
Asp Met Xaa Asn Gly Tyr Phe
 1 5

55 <210> 113
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

60 <220>
 <223> péptido sintético a

<220>
 <221>VARIANTE
 <222> 5
 <223> Xaa = Ser, Tyr, Cys, Lys o un aminoácido con una cadena lateral químicamente modificada
 5
 <400> 113
Lys Tyr Asn Pro Xaa Leu Gly Phe Leu
 1 5
 <210> 114
 10 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 15 <223> péptido sintético a
 <220>
 <221>VARIANTE
 <222> 5
 20 <223> Xaa = Ser, Tyr, Cys, Lys o un aminoácido con una cadena lateral químicamente modificada
 <400> 114
Lys Tyr Tyr Pro Xaa Phe Gly Tyr Phe
 1 5
 25 <210> 115
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 30 <220>
 <223> péptido sintético a
 <220>
 <221>VARIANTE
 35 <222> 5
 <223> Xaa = Ser, Tyr, Cys, Lys o un aminoácido con una cadena lateral químicamente modificada
 <400> 115
Gly Ala Arg Pro Xaa Gly Gly Phe Phe
 1 5
 40 <210> 116
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 45 <220>
 <223> péptido sintético a
 <220>
 <221>VARIANTE
 50 <222> 5
 <223> Xaa = Ser, Tyr, Cys, Lys o un aminoácido con una cadena lateral químicamente modificada
 <400> 116
Gly Ala Lys Pro Xaa Gly Gly Phe Phe
 55 1 5
 <210> 117
 <211> 8
 <212> PRT
 60 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> péptido sintético a

5 <220>
 <221>VARIANTE
 <222> 4
 <223> Xaa = Ser, Tyr, Cys, Lys o un aminoácido con una cadena lateral químicamente modificada

10 <400> 117
Tyr Ser Pro Xaa Thr Asn Phe Phe
 1 5

15 <210> 118
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <221>VARIANTE
 <222> 4
 <223> Xaa = Ser, Tyr, Cys, Lys o un aminoácido con una cadena lateral químicamente modificada

25 <400> 118
Tyr Ser Pro Xaa Thr Asn Phe
 1 5

30 <210> 119
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <223> péptido sintético a

40 <220>
 <221>VARIANTE
 <222> 3
 <223> Xaa = Ser, Tyr, Cys, Lys o un aminoácido con una cadena lateral químicamente modificada

45 <400> 119
Gln Asn Xaa Pro Asn Ile Phe Gly Gln Trp Met
 1 5 10

50 <210> 120
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Staphylococcus aureus

55 <400> 120
Tyr Ser Thr Cys Asp Phe Ile Met
 1 5

60 <210> 121
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Staphylococcus aureus

<400> 121
Gly Val Asn Ala Cys Ser Ser Leu Phe
 1 5

60 <210> 122
 <211> 7

<212> PRT
 <213> Staphylococcus aureus

 <400> 122
Ile Asn Cys Asp Phe Leu Leu
 5 1 5

 <210> 123
 <211> 8
 <212> PRT
 10 <213> Staphylococcus aureus

 <400> 123
Tyr Ser Thr Cys Tyr Phe Ile Met
 1 5

 15 <210> 124
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Staphylococcus arlettae

 20 <400> 124
Gly Val Asn Pro Cys Gly Gly Trp Phe
 1 5

 <210> 125
 <211> 9
 25 <212> PRT
 <213> Staphylococcus auricularis

 <400> 125
Lys Ala Lys Thr Cys Thr Val Leu Tyr
 1 5
 30
 <210> 126
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Staphylococcus auricularis
 35
 <400> 126
Lys Thr Lys Thr Cys Thr Val Leu Tyr
 1 5

 <210> 127
 40 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Staphylococcus capitis

 <220>
 45 <221> MOD_RES
 <222> 6
 <223> Xaa = Orn

 <400> 127
Gly Ala Asn Pro Cys Xaa Leu Tyr Tyr
 50 1 5

 <210> 128
 <211> 9
 <212> PRT
 55 <213> Staphylococcus capitis

 <400> 128
Gly Ala Asn Pro Cys Ala Leu Tyr Tyr
 1 5

<210> 129
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Staphylococcus caprae
 5
 <400> 129
 Gly Tyr Ser Thr Cys Ser Tyr Tyr Phe
 1 5
 <210> 130
 10 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Staphylococcus caprae
 <400> 130
 Gly Tyr Arg Thr Cys Asn Thr Tyr Phe
 15 1 5
 <210> 131
 <211> 8
 <212> PRT
 20 <213> Staphylococcus carnosus
 <400> 131
 Tyr Asn Pro Cys Val Gly Tyr Phe
 1 5
 25 <210> 132
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Staphylococcus cohnii
 30 <400> 132
 Gly Gly Lys Val Cys Ser Ala Tyr Phe
 1 5
 <210> 133
 <211> 9
 35 <212> PRT
 <213> Staphylococcus cohnii
 <400> 133
 Ser Val Lys Pro Cys Thr Gly Phe Ala
 1 5
 40 <210> 134
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Staphylococcus epidermis
 45 <400> 134
 Asp Ser Val Cys Ala Ser Tyr Phe
 1 5
 50 <210> 135
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Staphylococcus epidermis
 <400> 135
 Lys Tyr Asn Pro Cys Ser Asn Tyr Leu
 55 1 5
 <210> 136
 <211> 9
 <212> PRT
 60 <213> Staphylococcus epidermis

<400> 136
Lys Tyr Asn Pro Cys Ala Ser Tyr Leu
 1 5

5 <210> 137
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Staphylococcus epidermis

10 <400> 137
Lys Tyr Asn Pro Cys Ala Asn Tyr Leu
 1 5

15 <210> 138
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Staphylococcus intermedius

<400> 138
Arg Ile Pro Thr Ser Thr Gly Phe Phe
 1 5

20 <210> 139
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Staphylococcus lugdunensis

25 <400> 139
Asp Ile Cys Asn Ala Tyr Phe
 1 5

30 <210> 140
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Staphylococcus lugdunensis

35 <400> 140
Asp Met Cys Asn Gly Tyr Phe
 1 5

40 <210> 141
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Staphylococcus simulans

<400> 141
Lys Tyr Asn Pro Cys Leu Gly Phe Leu
 1 5

45 <210> 142
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Staphylococcus simulans

50 <400> 142
Lys Tyr Tyr Pro Cys Phe Gly Tyr Phe
 1 5

55 <210> 143
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Staphylococcus gallinarum

<400> 143
 Val Gly Ala Arg Pro Cys Gly Gly Phe Phe
 1 5 10

5 <210> 144
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Staphylococcus xylosus

10 <400> 144
 Gly Ala Lys Pro Cys Gly Gly Phe Phe
 1 5

15 <210> 145
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Staphylococcus warneri

20 <400> 145
 Tyr Ser Pro Cys Thr Asn Phe Phe
 1 5

25 <210> 146
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Enterococcus faecalis

30 <400> 146
 Gln Asn Ser Pro Asn Ile Phe Gly Gln Trp Met
 1 5 10

<210> 147
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> Murina

35 <400> 147
 Asp Ile Val Arg Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Ser Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
 20 25 30
 Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Ile Leu Glu Ala Glu Asp Leu Gly Ile Tyr Phe Cys Ser Gln Ser
 85 90 95
 Thr His Phe Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

40 <210> 148
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Murina

<400> 148

```

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

```

<210> 149

<211> 111

<212> PRT

<213> Murina

<400> 149

```

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

```

<210> 150

<211> 111

<212> PRT

<213> Murina

<400> 150

```

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

```

<210> 151

<211> 99

<212> PRT

<213> Murina

<400> 151

```

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

```

<210> 152

<211> 100

<212> PRT

<213> Murina

<400> 152

```

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

```

<210> 153

<211> 99

<212> PRT

<213> Murina

<400> 153

```

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

```

<210> 154

<211> 99

<212> PRT

<213> Murina

<400> 154
 Thr Ala Ser Leu Thr Val Ser Leu Gly Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys
 1 5 10 15
 Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Met His Trp
 20 25 30
 Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala
 35 40 45
 Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala
 65 70 75 80
 Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg Glu Val Pro Tyr Thr Phe Gly
 85 90 95
 Gly Gly Thr

<210> 155
 <211> 333
 <212> DNA
 <213> Murina

<400> 155
 gacattgtga ggacacagtc tccactctcc ctgtctgtca gtcttgaga tcaagcctcc 60
 atctcttgta gatctagtca gaggccttta cacagtaatg gaaacaccta ttacattgg 120
 tacctgcaga agccaggcca gtctccaaa ctcctgatct acaaagtctc caaccgattt 180
 tctggggtcc cagacaggtt cagtggcagt ggatcaggga cagatttcac actcaagatc 240
 agcatattgg aggctgagga tctgggaatt tatttctgct ctcaaagtac acattttccg 300
 acgttcgggtg gaggcaccaa gctggaata aaa 333

<210> 156
 <211> 336
 <212> DNA
 <213> Murina

<400> 156
 gacattgtga tgactcaggc tacactctcc ctgcctgtca gtcttgaga ccaagcctcc 60
 atctcttgca gatccagtca ggccttggt cccagtaatg gaaacattta ttacattgg 120
 ttctctgcaga agccaggcca gtctccaaag ctcctgatct acaaacttct cagtctgattt 180
 tctggggtcc cagacaggtt cagtggcagt ggatcaggga cagatttcac actcaagatc 240
 agcagagtgg agtctgagga tctgggaatt tatttctgct ctcaaactac acatgttcca 300
 tacacgttcg gaggggggac caagctggaa atcaaa 336

<210> 157
 <211> 333
 <212> DNA
 <213> Murina

<400> 157
 gacattgtga tgactcaggc tactgcttcc ttaactgtat ctctggggca gagggccacc 60
 atctcatgca gggccagcaa aagtgtcagt acatctggct atagttatat gcactggtac 120
 caacagaaac caggacagcc acccaaactc ctcatctatc ttgcatccaa cctagaatct 180
 ggggtccctg ccagggttcag tggcagtggg tctgggacag acttcaccct caacatccat 240
 cctgtggagg aggaggatgc tgcaacctat tactgtcagc acagtaggga ggttccgtac 300
 acgttcggag ggggggacaa gctggagctg aaa 333

<210> 158
 <211> 333
 <212> DNA
 <213> Murina

<400> 158
 gacattgaga tgaccagat tactgcttcc ttaactgtat ctctggggca gagggccacc 60
 atctcatgca gggccagcaa aagtgtcagt acatctggct atagttatat gcactggtac 120
 caacagaaac caggacagcc acccaaactc ctcatctatc ttgcatccaa cctagaatct 180
 ggggtccctg ccagggttcag tggcagtggg tctgggacag acttcaccct caacatccat 240
 cctgtggagg aggaggatgc tgcaacctat tactgtcagc acagtaggga ggttccgtac 300
 acgttcggag ggggggacaa gctggagctg aaa 333

<210> 159
 <211> 297
 <212> DNA
 <213> Murina

5

<400> 159
 ccactctccc tgtctgtcag tcttgagat caagcctcca tctctttag atctagtcag 60
 agccttttac acagtaatgg aaacacctat ttacattggg acctgcagaa gccaggccag 120
 tctccaaaac tcctgatcta caaagtttcc aaccgatttt ctgggggtccc agacagggttc 180
 agtggcagtg gatcagggac agatttcaca ctcaagatca gcatattgga ggctgaggat 240
 ctgggaattt atttctgctc tcaaagtaca cattttccga cggtcgggtg aggcacc 297

<210> 160
 <211> 300
 <212> DNA
 <213> Murina

10

<400> 160
 acactctccc tgctgtcag tcttgagac caagcctcca tctcttgcag atccagtcag 60
 cgccttggtc ccagtaatgg aaacatttat ttacattggg tcctgcagaa gccaggccag 120
 tctccaaagc tcctgatcta caaactttcc agtcgatttt ctgggggtccc agacagggttc 180
 agtggcagtg gatcagggac agatttcaca ctcaagatca gcagagtggg gtctgaggat 240
 ctgggaattt atttctgctc tcaaactaca catgttccat acacgttcgg aggggggacc 300

15

<210> 161
 <211> 297
 <212> DNA
 <213> Murina

20

<400> 161
 actgcttccct taactgtatc tctggggcag agggccacca tctcatgcag ggccagcaaa 60
 agtgtcagta catctggcta tagttatatg cactgggtacc aacagaaaacc aggacagcca 120
 cccaaactcc tcatctatct tgcattccaa ctagaatctg ggggtccctgc cagggttcagt 180
 ggcagtgggt ctgggacaga cttcaccctc aacatccatc ctgtggagga ggaggatgct 240
 gcaacctatt actgtcagca cagtagggag gttccgtaca cggtcggagg ggggacc 297

<210> 162
 <211> 297
 <212> DNA
 <213> Murina

25

<400> 162
 actgcttccct taactgtatc tctggggcag agggccacca tctcatgcag ggccagcaaa 60
 agtgtcagta catctggcta tagttatatg cactgggtacc aacagaaaacc aggacagcca 120
 cccaaactcc tcatctatct tgcattccaa ctagaatctg ggggtccctgc cagggttcagt 180
 ggcagtgggt ctgggacaga cttcaccctc aacatccatc ctgtggagga ggaggatgct 240
 gcaacctatt actgtcagca cagtagggag gttccgtaca cggtcggagg ggggacc 297

<210> 163
 <211> 387
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

35

<400> 163
 cagggtgcagc tgggtgcagtc tggagcagag gtgaaaaagc ccggggagtc tctgaggatc 60
 tccctgcaagg gttctggata cagctttacc agccactgga tcagctgggt gcgccagatg 120
 cccgggaaag gcctggagtg gatggggagg attgactccta gtgactctta tagcaactac 180
 agccctcctc tccaaggcca cgtcatcatc tcagttgaca agtccatcag cactgcctac 240
 ttgcagtggg gcagcctgaa ggcctcggac accgccatat attactgtgc gagacagctc 300
 attgtagtag taccagctgc tccctattac tactactact acggtatgga cgtctggggc 360
 caaggaaccc tggtcaccgt ctctca 387

40

<210> 164
 <211> 390
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

45

<400> 164
cagggttcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggctcctc ggtgaaggctc 60
tcctgcaagg cttctggagg cacccttcagc agctatgcta tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttggtac agcaaaactac 180
gcacagaagt tccagggcag agtcacgatt accgcgagc aatccacgag cacagcctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccatat attactgtgc gagagtcttt 300

ggttccgagt cgcaagatcc gtccgatatt tggagtgggt attacggtat ggaagtctgg 360
ggccaaggaa ccctgggtcac cgtctcctca 390

5 <210> 165
<211> 363
<212> DNA
<213> Homo sapiens

10 <400> 165
cagggtgcagc tgggtggagtc tggggctgag gcgaagaagc ctgggctcctc ggtgaaggctc 60
tcctgcaagg cttctggagg cacccttcagc agctatgcta tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttggtac agcaaaactac 180
gcacagaagt tccagggcag agtcacgatt accgcgagc aatccacgag cacagcctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagccgggt 300
ataactggaa ctacggctcc cccagactac tggggccagg gcaccctgggt caccgtctcc 360
tca 363

15 <210> 166
<211> 378
<212> DNA
<213> Homo sapiens

20 <400> 166
cagggtgcagc tgggtgcagtc cggatctgag ttaaagaagc ctggggcctc agtgaagctt 60
tcctgcaggg cttctggata cacattcact agttattcca tggtttgggt gcgacaggcc 120
cctggagaag ggcttgagtg gatgggaggg atcaacacca aactgggaa cccaacgtat 180
gccaggggtc tcacagaacg gtttgtcttc tccttcgaca gctctgtcag cacggcatat 240
ctgcaaatca gcagcctaaa ggctgaggac actgccgtgt attactgtgc gagagattgg 300
gcgtatagcg gcagctggcc cttagggcag aacccttctg accactgggg ccagggcacc 360
ctggtcaccc tctcctca 378

25 <210> 167
<211> 366
<212> DNA
<213> Homo sapiens

30 <400> 167
cagggtgcagc tacagcagtg gggcgagga ttgttgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
acctgcgctg tctatggtgg gtccctcagt ggttactacc ggacctggat ccgccagtcc 120
ccagtgaagg ggctggagtg gattggggaa gtcaatgatc gtggaagccc caactacaac 180
ccgtccttca agagtcgact caccatatca atcgacacgt ccaagaacta gttatccctg 240
aagttgagat ttatgaccgc cgcggacacg gctgtatatt cgtgtgcgag aattaggcct 300
aggtacggta tggacgtctg gggccagggg acaatggtca ccgtctcctc aggcggcgcc 360
ggctct 366

35 <210> 168
<211> 372
<212> DNA
<213> Homo sapiens

40 <400> 168
gagggtccagc tgggtacagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggctc 60
tcctgcaagg tttccggata caccctcact gaattatcca tgcactgggt gcgacaggct 120
cctggaaaag ggcttgagtg gatgggaggt tttgatcctg aagatggtga aacaatctcc 180
gcgcagaagt tccagggcag agtcaccatg accgaggaca catctacaga cacagcctac 240
atggatctga gcagcctgag atctgaggac acggccgttt attactgtgc aacgcagcgc 300
ttgtgtagtg gtggtcgctg ctactcccac tttgactact gggggcaggg caccacggctc 360
accgtctcct ca 372

<210> 169
<211> 348

<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 169
cagatgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggctcctc ggtgaaggctc 60
tcctgcaagg cttctggagg caccttcaac acctatgtta tcagttgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagcgctt acaatggtaa cacaaactat 180
gcacagaagc tccagggcag agtcaccatg accacagaca catccacgag cacagcctac 240
atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagagtttgg 300
5 agtccccttg actactgggg ccagggcacc ctggtcaccg tctcctca 348

<210> 170
<211> 357
<212> DNA
10 <213> Homo sapiens

<400> 170
caggtgcagc tgggtgcaatc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggctc 60
tcctgcaagg gttctggata caccttcacc ggctactata tgcactgggt gccacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcaacccta acaatgggtg cacaaactat 180
gaccagaagt ttcagggcag ggctcgccatg accagggaca cgtccatctc cacagcctac 240
atggagctga gcaggctgag atctgacgac actgccgtgt attactgtgc gagagataat 300
gggaggggtga ccacaggggg ctactggggc cagggcaccc tggtcaccgt ctcctca 357

15 <210> 171
<211> 366
<212> DNA
<213> Homo sapiens

20 <400> 171
caggtgcagc tgggtgcaatc tggggctgag gtgaaaaagc ccggggagtc tctgaagatc 60
tcctgtacgg cctccggata caactttgcc agctactgga tcggctgggt gcgccagatg 120
cccggcaag gcctggagtg gatggggatc atctatcctg gtgactctga taccagatac 180
agtccgtcct tccaaggcca ggtcaccatc tcagccgaca agtccatcag caccgcctac 240
ctgcagtggg gcagcctgaa ggcctcggac accgccacgt attactgtgt gagacgggtc 300
cccctctaca ctaacaacca ctaccttgac tattggggcc agggcacccct ggtcaccgtc 360
tcctca 366

25 <210> 172
<211> 351
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 172
gaggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgaa gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagggtt 60
tcctgtaagg catctggata caccttcagc gactacttta tgcactgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggagta atcaacccta ctgggtggtc cacaaactac 180
gcacagagct tccagggcag agtcaccatg accagagaca cgtccacgag catagtctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaagac acggccgtgt actactgtac gcgagtcggc 300
tactacggta tggacgtctg gggccaaggc accctgggtc ccgtctcctc a 351

30 <210> 173
<211> 369
<212> DNA
<213> Homo sapiens

35 <400> 173
caggtccagc tgggtacagtc tgggggaggc gtgggtccagg ttgggaggtc cctgagactt 60
tcctgtgagg cctctggatt caccttcaca aactttggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcactc atctcatctg atggatatag acaggcctat 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccggagaca actccaagaa cacagtgtat 240
ctgcaaatga acagcctgac aagtgaggac acggctgttt attactgtgc catcataccc 300
cctgtattac ggatttttga ttgggaattt gactactggg gccagggaac cctggtcacc 360
gtctcctca 369

<210> 174
40 <211> 375

<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 174
cagggtgcagc tacagcagtg gggcgagcagc ctgttgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
acctgcgctg tctatagtgg gtcttttact cgtgactact ggggctggat ccgccagccc 120
cccgggaagg ggctggagtg gattggggaa atcaatcata gtggaagcac caactacaac 180
ccgtccctca agagtcgagt caccacgtcg gtagacaagt ccaagaatca gttctccctg 240
aagttgacct ctgtgaccgc cgcggacacg gctgtctatt actgtgcgag acgccggcct 300
tctagcgacc tcttcatgcg gggggttggc ggtatggacg tctggggcca aggcaccctg 360
gtcaccgtct cctca 375

<210> 175
<211> 378
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 175
gaggtgcagc tgggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctgggta cacccttacc agctatggta tcagctgggt gcgacaggcc 120
tctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagcgctt acaatggtaa cacaactat 180
gcacagaagc tccagggcag agtcacatg accacagaca catccacgag cacagcctac 240
atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagagtacct 300
cgatatattg actggttatt atacgggagc gactactttg actactgggg ccagggaacc 360
ctggtcaccg tctcctca 378

<210> 176
<211> 372
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 176
cagggtgcagc tgggtgcaatc tggagctgag gtgaaggagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggagg cacccttcagc agctatgcta tctactgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcatcccta tccttgggtat agcaaaactac 180
gcacagaagt tccagggcag agtcacgatt accgcggaca aatccacgag cacagcctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagctgcc 300
ggtcatagta ctaactacta ctactacggg atggacgtct ggggccaaag caccctggtc 360
accgtctcct ca 372

<210> 177
<211> 366
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 177
gaggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagggt 60
tcctgcaagg catctggata cacccttcacc aactactata tgcactgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta tgggtggtag cacaagctac 180
gcacagaagt tccagggcag agtcacatg actagggaca cgtccacgag cacagtctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatttc 300
aaagagtata gccgtacggg ctactttgac tactggggcc agggcacctt ggtcaccgtc 360
tcctca 366

<210> 178
<211> 372
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 178
cagatcacct tgaaggagtc tgggtcctgag ctggtgaaac ccacacagac cctcacgctg 60
acctgcaact tctctgggtt ctccctcagc acttatggag ggggtgtggg ctggctccgt 120
cagccccag gaaaggccct ggagtggtct gccgtcattt attggagtga tggtaaacgc 180
tacagccct ctgtaaagaa ccggctcacc atcaccaagg acacctcaa aaaccacgtg 240
gtcctgacaa tgaccaacat ggaccctgtg gacacagcca cctattattg tgcacacctt 300
atgatggata catctattac taccactggg ttcgacccct ggggccaggg aaccctggtc 360
accgtctcct ca 372

<210> 179
<211> 372
<212> DNA
<213> Homo sapiens

5

<400> 179
caggtgcagc tgggtgcaatc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaagggt 60
tcctgcaagg catctggata caccttcacc aactacttta tacactgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggacta ctcaacccta ctgatagtgg cacactctac 180
gcacagaact tccagggcag aatcaccatg accagtgaca cgtccacaaa cacagtctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgacgac acggccatgt attactgtgc aagagagggg 300
ggggccgaca ctacccgggt ccactcttcg ttgactact ggggccaggg aaccctgggc 360
accgtctcct ca 372

<210> 180
<211> 372
<212> DNA
<213> Homo sapiens

10

<400> 180
caggtgcagc tgcaggagtc ggggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgccc tccactgggt ccggcaagct 120
ccaggaaggg gcctggagtg ggtctcaggt attagtggga atagtgttac cgtaaagtat 180
gcggctctctg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgttt 240
ctgcaaatga acgctctgag atctgaggac acggccttat attactgtgc aaaagccaga 300
ggggccctct tagaagcagc tgacacacca tctgacgact ggggccaggg caccctgggc 360
accgtctcct ca 372

15

<210> 181
<211> 357
<212> DNA
<213> Homo sapiens

20

<400> 181
caggtacagc tgcagcagtc aggcgcaggt ctattgaggc cttcggagac cctgtccctc 60
acctgcggtc tctatggtgg gtccctcagt ggtcactatt ggaactggat ccgccagtcc 120
ccagaaaagg ggctggtgtg gattggggaa atcactcata gtggaaccac caattacaac 180
ccgtccctca agagtcgagt catcacatca gtagacacgt ccaagaatca gtactccctg 240
aagctgagct ttgtgacccc tgcggacacg gccgtgtatt actgtgcgag aggtgattac 300
tatgggtact ggtacttcga tctctggggc cgtggcacc cgtgtcaccgt ctcctca 357

25

REIVINDICACIONES

1. Una entidad molecular inmunogénica que comprende al menos un hapteno ligado a un vehículo macromolecular, en donde el hapteno comprende un péptido cíclico que comprende un anillo macrocíclico, en donde el péptido cíclico comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste RIPT(X^{a+2})TGFF (SEQ ID NO: 110), GVNP(X^{a+2})GGWF (SEQ ID NO: 96), KAKT(X^{a+2})TVLY (SEQ ID NO: 97), KTKT(X^{a+2})TVLY (SEQ ID NO: 98), GANP(X^{a+2})OLYY (SEQ ID NO: 99), GANP(X^{a+2})ALYY (SEQ ID NO: 100), GYST(X^{a+2})SYYF (SEQ ID NO: 101), GYRT(X^{a+2})NTYF (SEQ ID NO: 102), YNP(X^{a+2})VGYF (SEQ ID NO: 103), GGKV(X^{a+2})SAYF (SEQ ID NO: 104), SVKP(X^{a+2})TGFA (SEQ ID NO: 105), DSV(X^{a+2})ASYF (SEQ ID NO: 106), KYNP(X^{a+2})SNYL (SEQ ID NO: 107), KYNP(X^{a+2})ASYL (SEQ ID NO: 108), KYNP(X^{a+2})ANYL (SEQ ID NO: 109), DI(X^{a+2})NAYF (SEQ ID NO: 111), DM(X^{a+2})NGYF (SEQ ID NO: 112), KYNP(X^{a+2})LGFL (SEQ ID NO: 113), KYYP(X^{a+2})FGYF (SEQ ID NO: 114), GARP(X^{a+2})GGFF (SEQ ID NO: 115), GAKP(X^{a+2})GGFF (SEQ ID NO: 116), YSP(X^{a+2})TNFF (SEQ ID NO: 117), YSP(X^{a+2})TNF (SEQ ID NO: 118), QN(X^{a+2})PNIFGQWM (SEQ ID NO: 119),
- en donde el último residuo de aminoácido de cada secuencia es X¹, que es un residuo de aminoácido que está unido covalentemente a un grupo R a través del respectivo grupo carbonilo;
- X^{a+2} es cualquier aminoácido, del cual el respectivo átomo de carbono está unido covalentemente a R;
- en donde R comprende -CH₂O-, -CH₂CH₂O-, -CH₂CH(CH₃)O-, -CH₂-fenil-O-, -CH₂S-, -CH₂CH₂S- ó -(CH₂)_nNH-, en donde n va de 1 a aproximadamente 4; y
- en donde el residuo de aminoácido N-terminal del péptido cíclico está unida al vehículo macromolecular; y
- 20 en donde el vehículo macromolecular tiene un tamaño suficiente, en conjunción con el hapteno unido al mismo, para activar la aparición de una respuesta inmune por parte de un organismo expuesto a la entidad molecular inmunogénica.
2. La entidad molecular inmunogénica de la reivindicación 1, en donde el vehículo macromolecular comprende una proteína, un polímero o una nanopartícula.
- 25 3. La entidad molecular inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2, en donde el péptido cíclico, o un análogo del mismo, está unido covalentemente al vehículo macromolecular.
4. La entidad molecular inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 para uso en la prevención o el tratamiento de la infección por *Staphylococcus* en un mamífero.
- 30 5. La entidad molecular inmunogénica de la reivindicación 4 para uso según la reivindicación 4, en donde el *Staphylococcus* es *Staphylococcus aureus*.
6. La entidad molecular inmunogénica de la reivindicación 4 para uso según la reivindicación 4, en donde el *Staphylococcus* es *Staphylococcus intermedius*, y en donde el péptido cíclico comprende la secuencia de aminoácidos RIPT(X^{a+2})TGFF (SEQ ID NO: 110).
- 35 7. El uso de la entidad molecular inmunogénica de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 para la fabricación de un medicamento para prevenir o tratar la infección por *Staphylococcus* en un mamífero.
8. El uso de la reivindicación 7, en donde el *Staphylococcus* es *Staphylococcus aureus*.
9. El uso de la reivindicación 7, en donde el *Staphylococcus* es *Staphylococcus intermedius*, y en donde el péptido cíclico comprende la secuencia de aminoácidos RIPT(X^{a+2})TGFF (SEQ ID NO: 110).

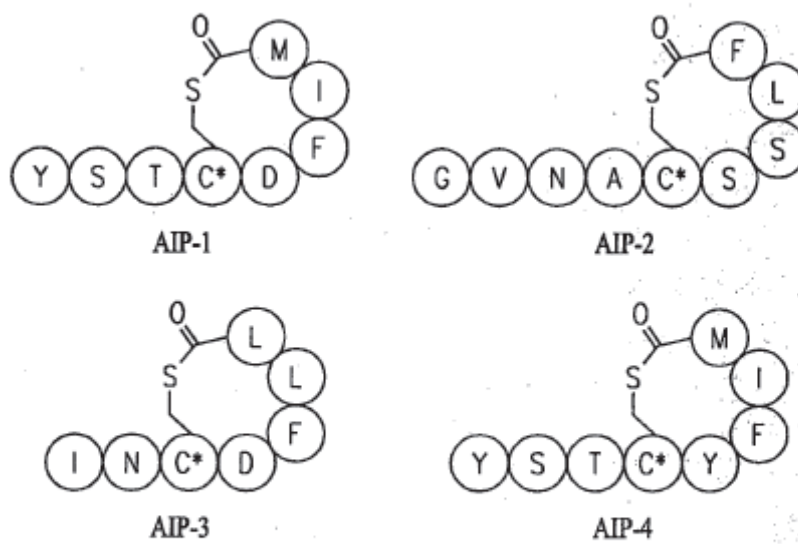


FIG. 1

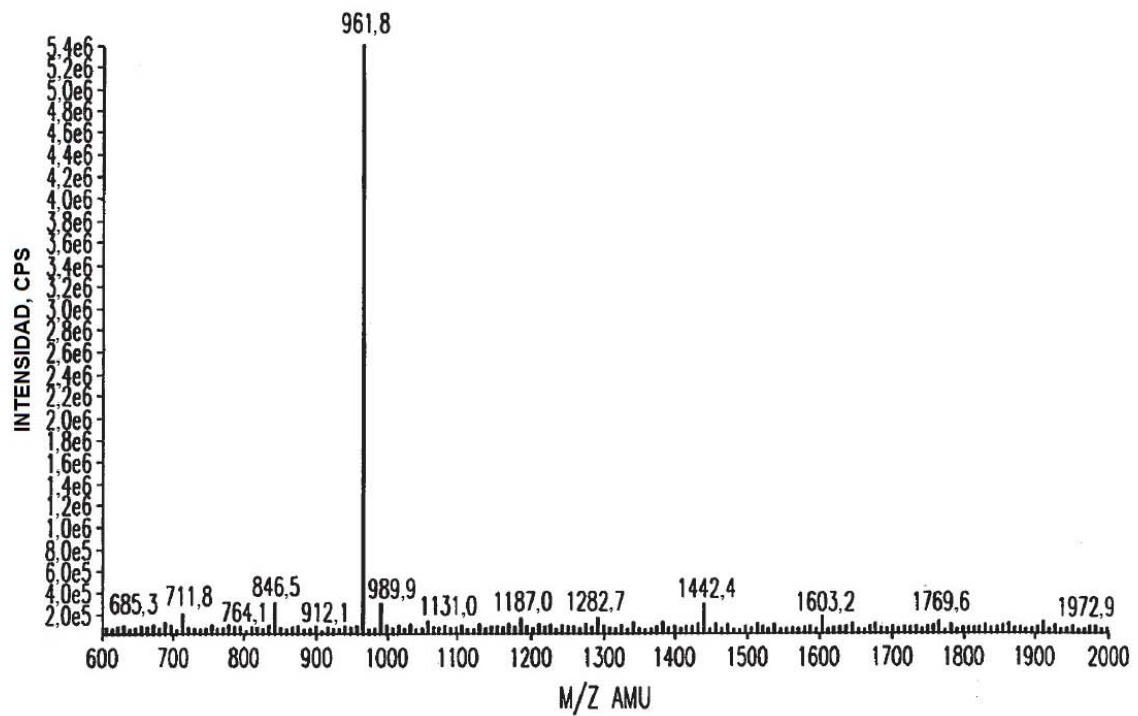


FIG. 2A

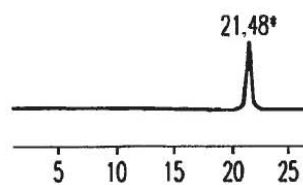


FIG. 2B

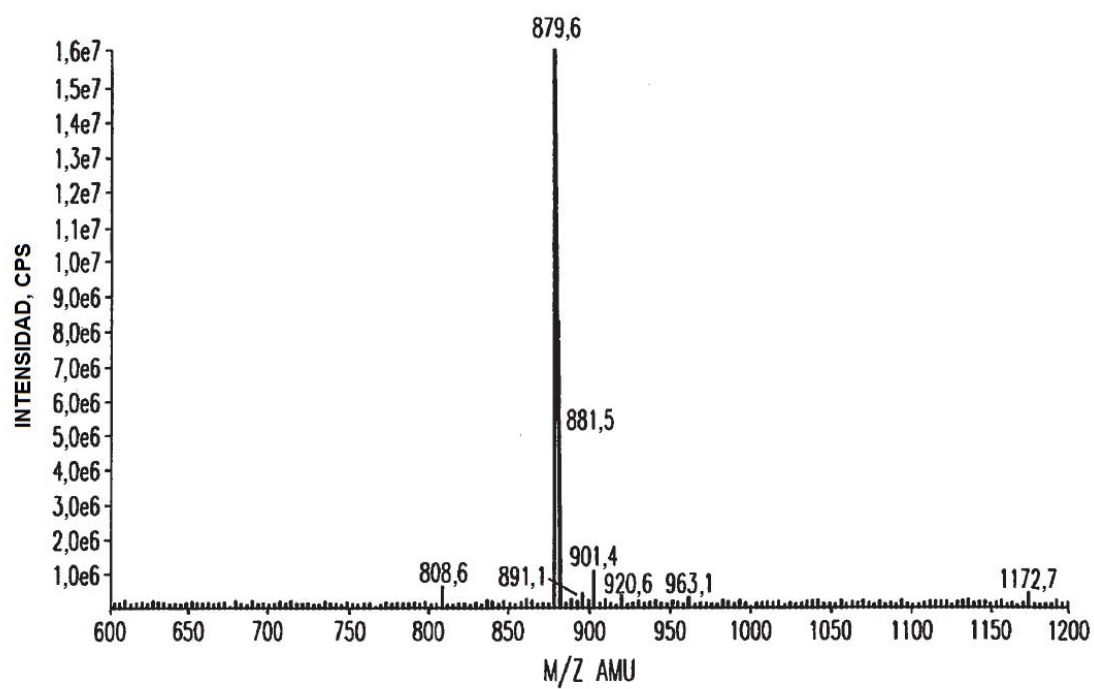


FIG. 2C

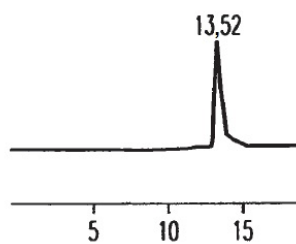


FIG. 2D

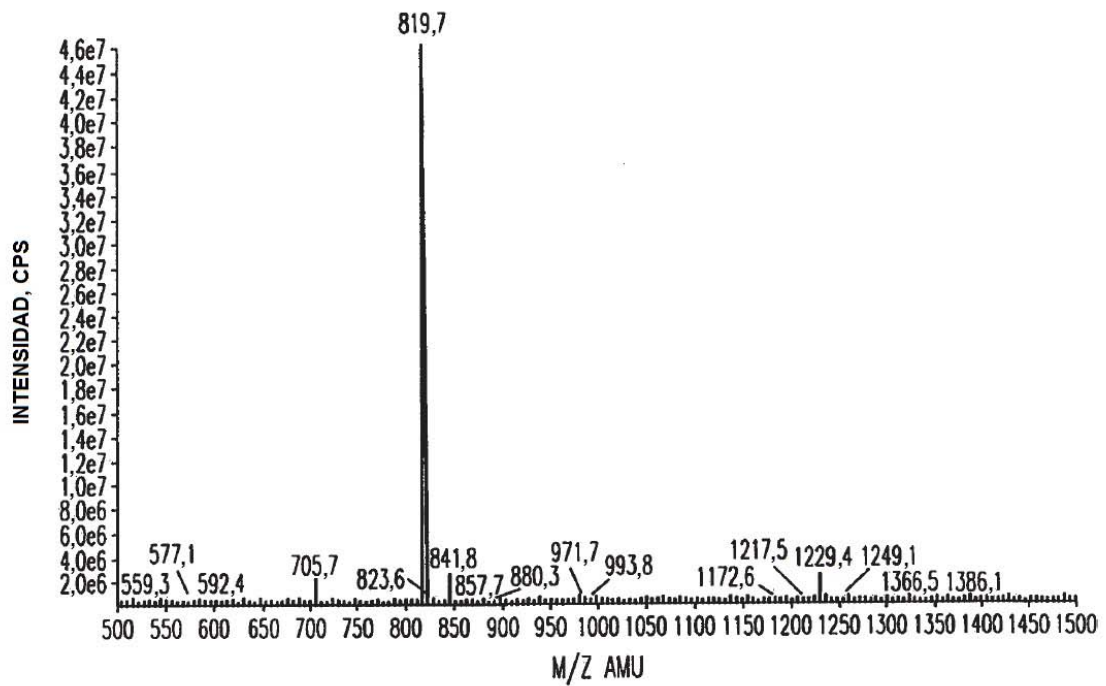


FIG. 2E

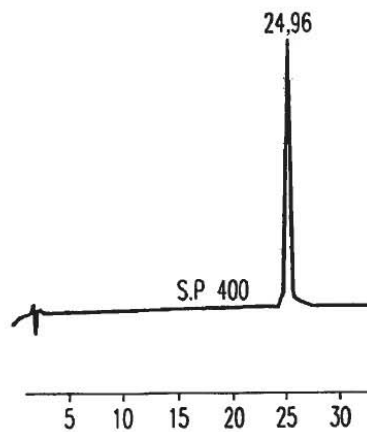


FIG. 2F

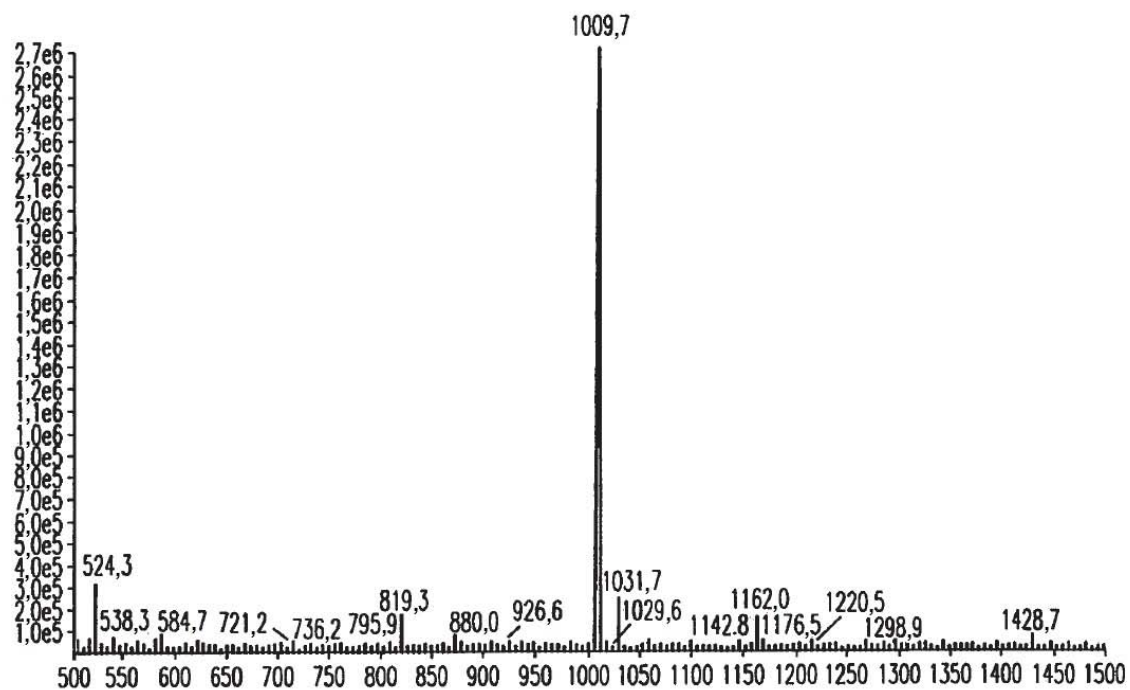


FIG. 2G

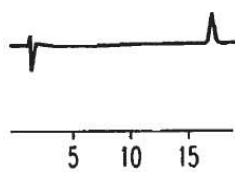


FIG. 2H

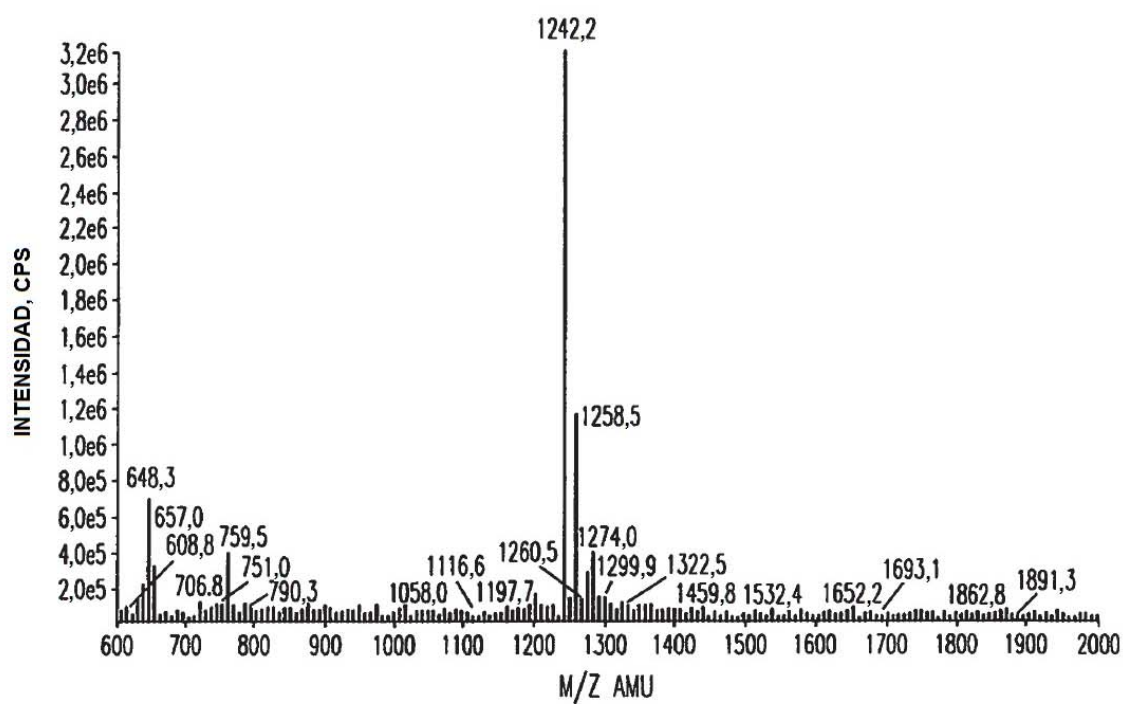


FIG. 2I

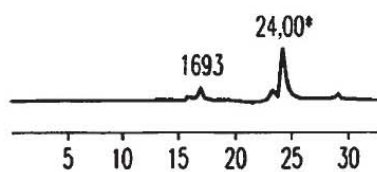


FIG. 2J

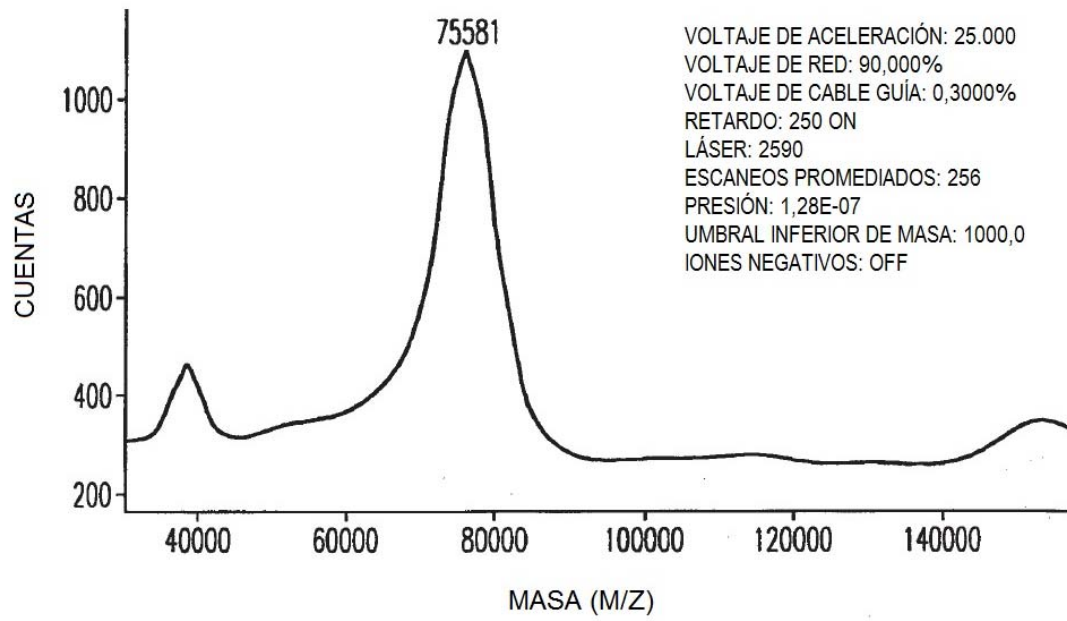


FIG. 2K

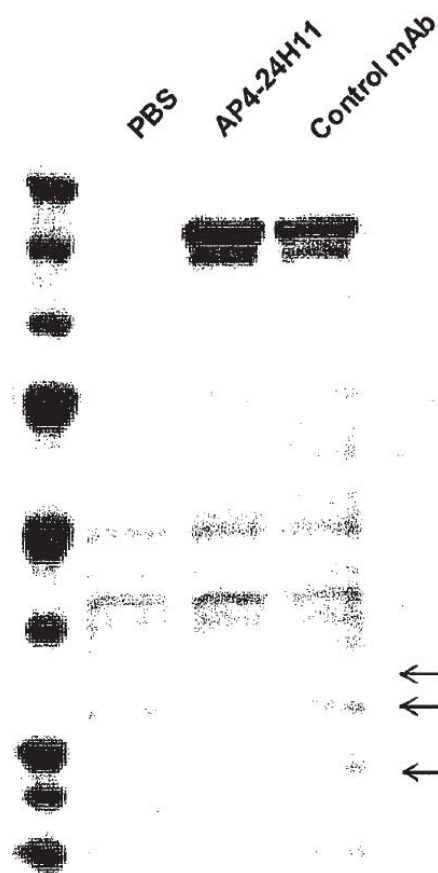


FIG. 3A

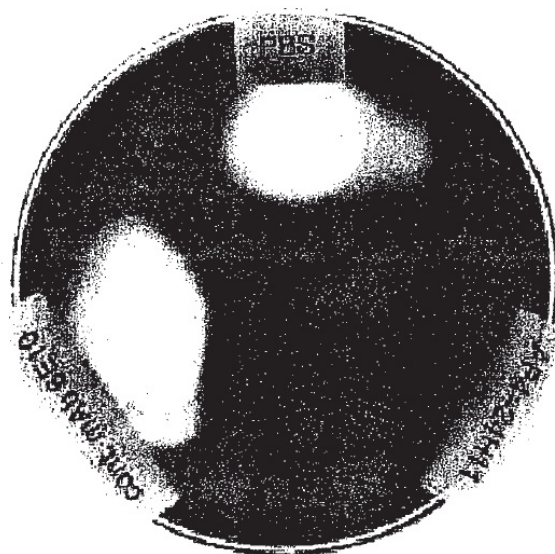


FIG. 3B

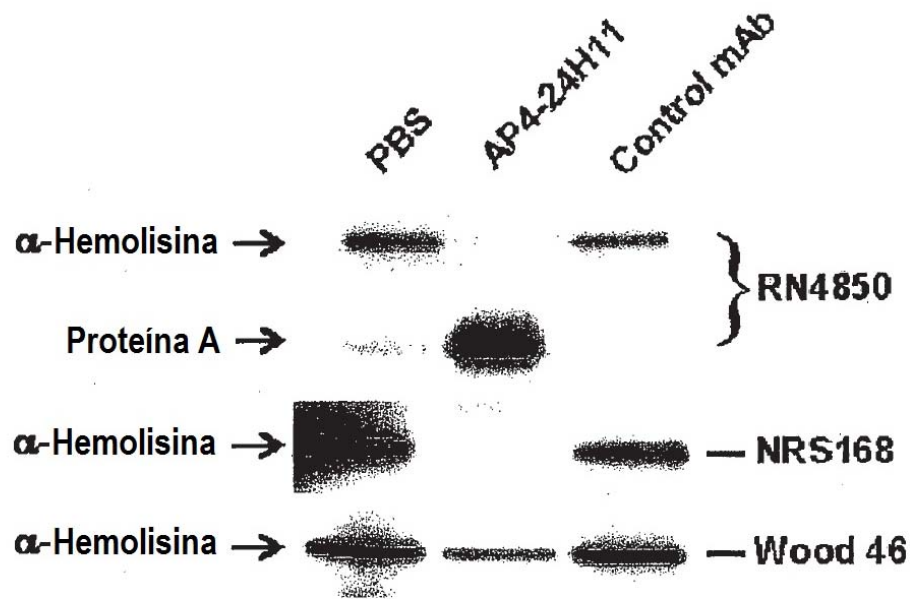


FIG. 4A

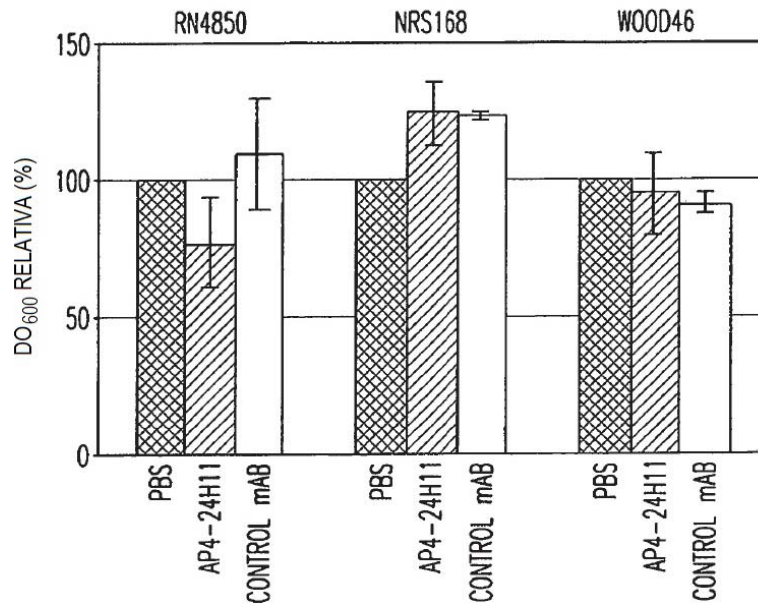


FIG. 4B

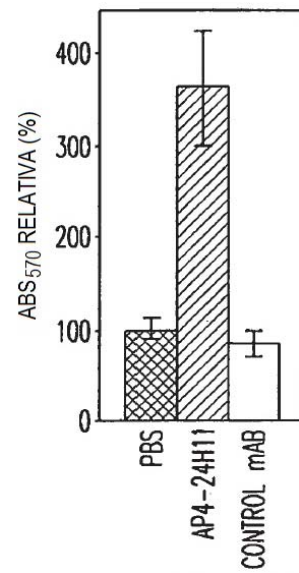


FIG. 4C

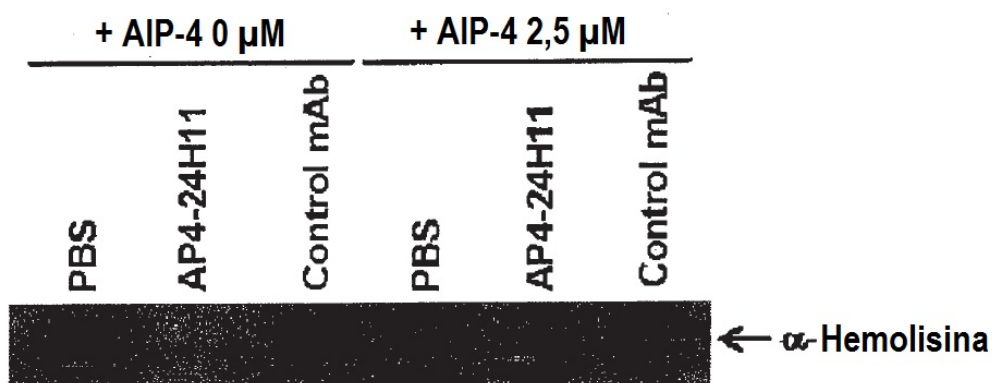
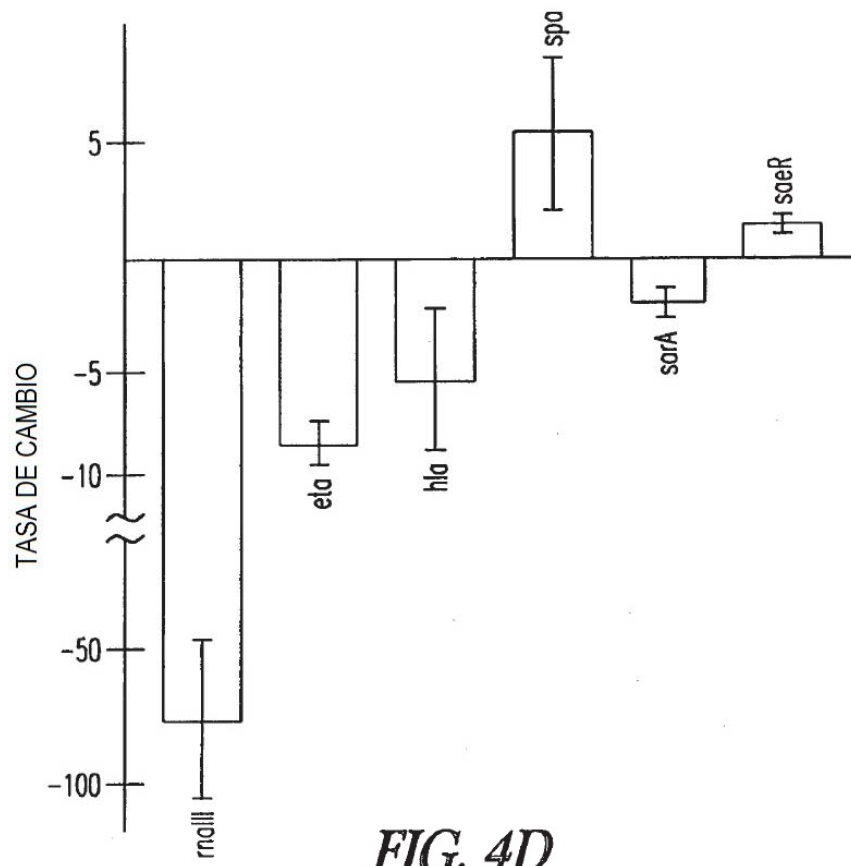


FIG. 4E

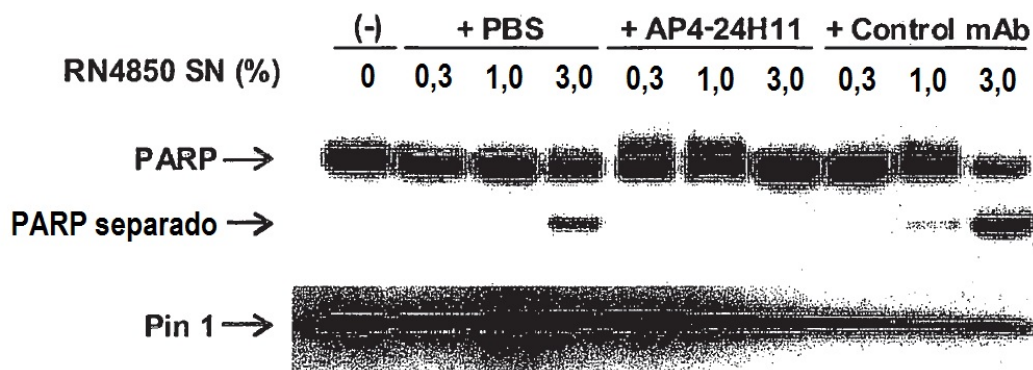


FIG. 5A

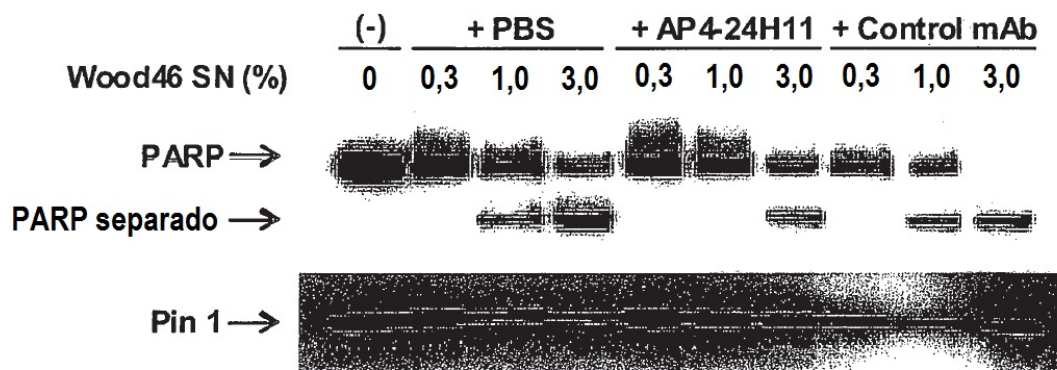


FIG. 5B

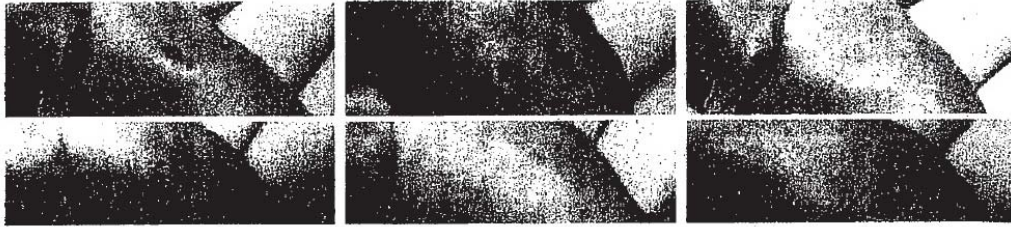


FIG. 6A

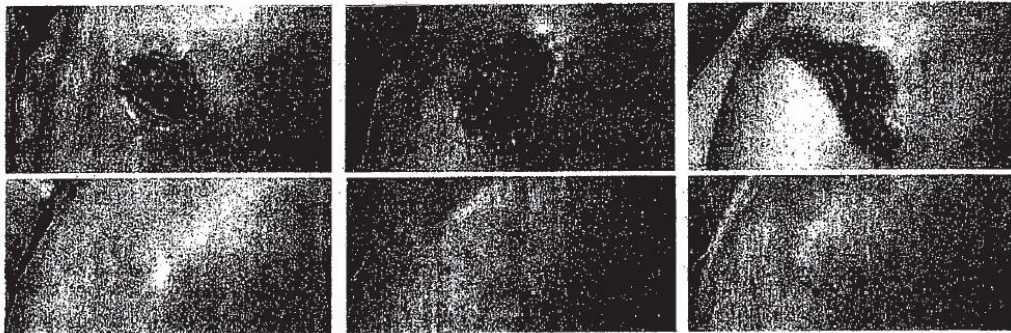


FIG. 6B



FIG. 7A



FIG. 7B



FIG. 7C

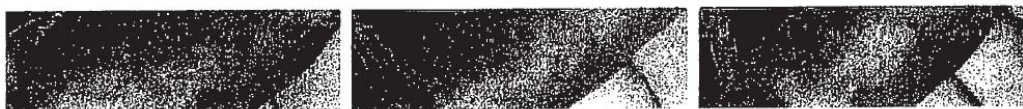


FIG. 7D

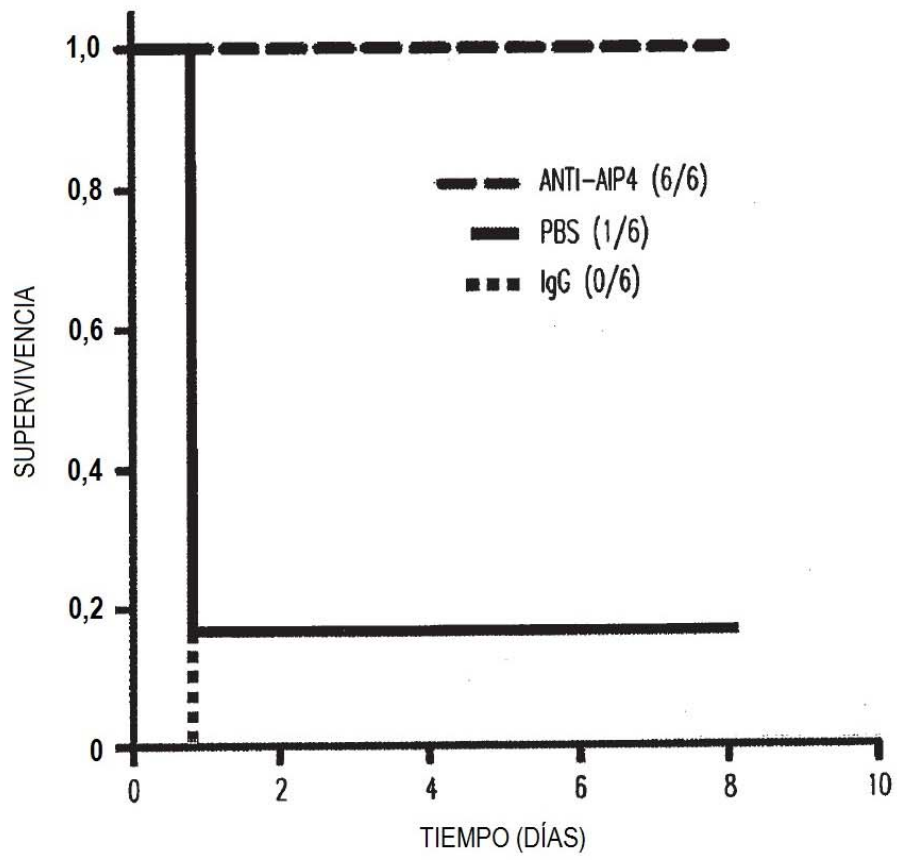


FIG. 8

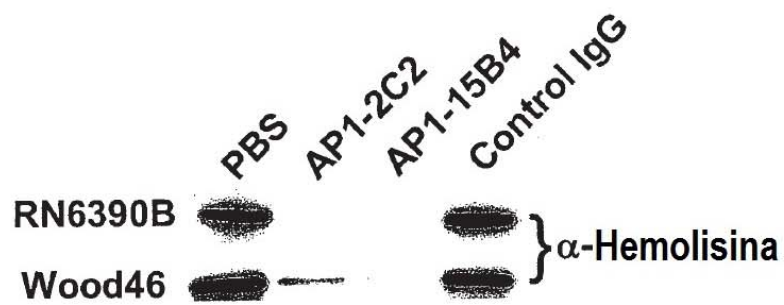


FIG. 9



FIG. 10A

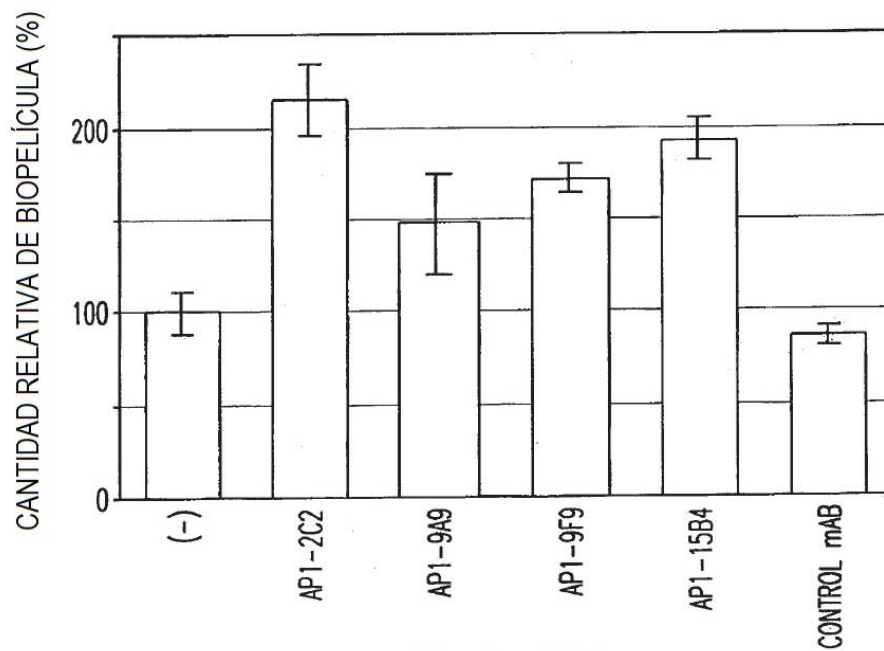


FIG. 10B

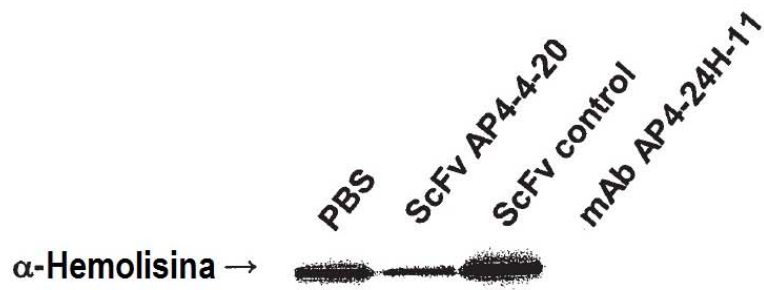


FIG. 11

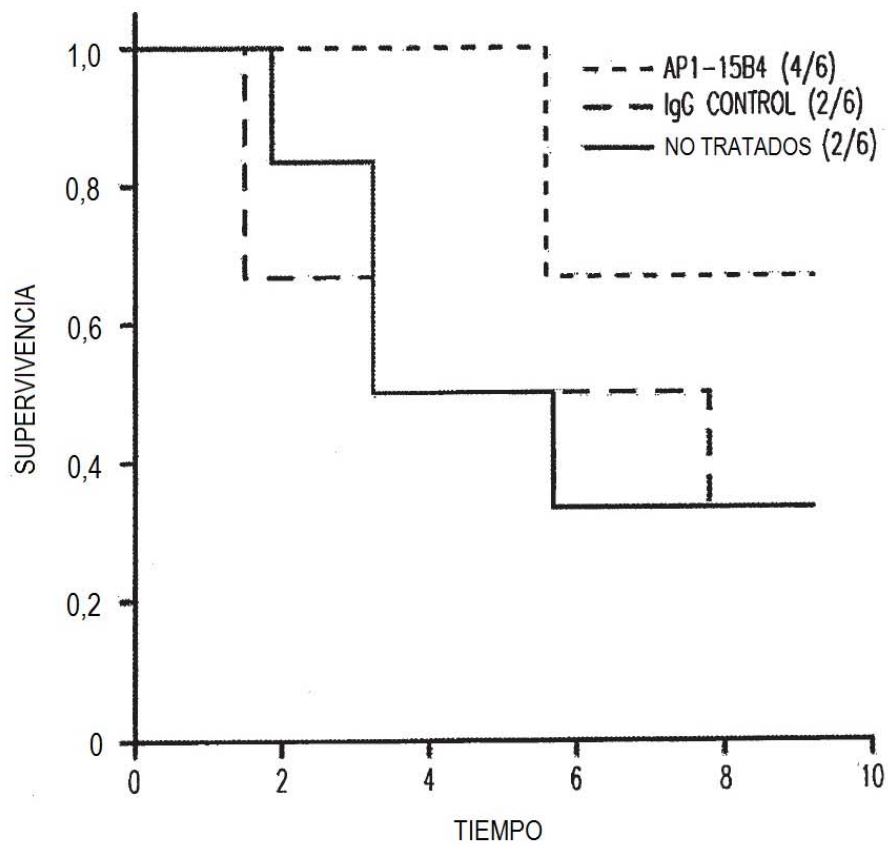


FIG. 12