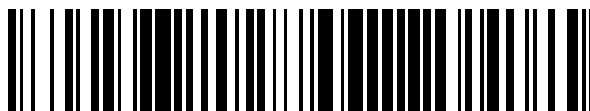


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 609 817**

51 Int. Cl.:

A61P 31/18	(2006.01)
A61P 29/00	(2006.01)
A61P 31/04	(2006.01)
A61K 38/16	(2006.01)
A61K 39/395	(2006.01)
A61K 31/41	(2006.01)
A61K 31/495	(2006.01)
A61P 31/00	(2006.01)
A61K 45/06	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.06.2012 PCT/US2012/043182**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **27.12.2012 WO12177660**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.06.2012 E 12802525 (1)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.10.2016 EP 2720754**

54 Título: **Leucotoxina E/D como nuevo agente antiinflamatorio y microbicida**

30 Prioridad:

19.06.2011 US 201161498606 P

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

24.04.2017

73 Titular/es:

**NEW YORK UNIVERSITY (100.0%)
70 Washington Square
New York NY 10012, US**

72 Inventor/es:

**TORRES, VICTOR, J.;
UNUTMAZ, DERYA y
ALONZO, FRANCIS**

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 609 817 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

Leucotoxina E/D como nuevo agente antiinflamatorio y microbicida

Campo de la invención

Esta invención se refiere a composiciones para uso en métodos de tratamiento y prevención de infecciones por HIV.

5 Antecedentes de la invención

Staphylococcus aureus

10 *Staphylococcus aureus* ("S. aureus") es una bacteria que coloniza de forma comensal más del 25% de la población humana. Es importante destacar que este organismo es capaz de romper su sitio inicial de colonización, resultando en diseminación bacteriana y enfermedad. *S. aureus* es la principal causa de infecciones nosocomiales, es el agente etiológico más común de la endocarditis infecciosa, así como infecciones de la piel y de los tejidos blandos, y es una de las cuatro principales causas de enfermedades transmitidas por alimentos. En conjunto, *S. aureus* infecta a más de 1.2 millones de pacientes por año en hospitales de los Estados Unidos. La aparición de cepas resistentes a los antibióticos (esto es, cepas de *S. aureus* resistentes a la meticilina (MRSA)), incluidas las cepas resistentes a la vancomicina, un antibiótico considerado como la última línea de defensa contra la infección por *S. aureus* de la enfermedad, pone de manifiesto la amenaza de *S. aureus* para la salud humana. Estos hechos ponen de relieve la importancia de desarrollar nuevas terapias contra este importante patógeno.

20 *S. aureus* produce un conjunto diverso de factores de virulencia y toxinas que permiten a esta bacteria neutralizar y soportar el ataque de diferentes tipos de células inmunes, específicamente subpoblaciones de glóbulos blancos que constituyen el sistema de defensa primario del cuerpo. La producción de estos factores de virulencia y toxinas permite a *S. aureus* mantener un estado infeccioso (Nizet, "Understanding How Leading Bacterial Pathogens Subvert Innate Immunity to Reveal Novel Therapeutic Targets," J. Allergy Clin. Immunol. 120(1):13 22 (2007)). Entre estos factores de virulencia, *S. aureus* produce varias leucotoxinas de dos componentes, que dañan membranas de las células de defensa del huésped y eritrocitos por la acción sinérgica de dos proteínas o subunidades no asociadas (véase Menestrina et al., "Mode of Action of Beta-Barrel Pore-Forming Toxins of the Staphylococcal Alpha-Hemolysin Family," Toxicol. 39(11):1661-1672 (2001)). Entre estas leucotoxinas de dos componentes, la gamma-hemolisina (HlgAB y HlgCB) y la leucocidina de panton valentine (PVL) son las más caracterizadas.

30 La toxicidad de las leucocidinas frente a las células de mamífero implica la acción de dos componentes. La primera subunidad se denomina subunidad de clase S (esto es, "eluida lentamente"), y la segunda subunidad se denomina subunidad de clase F (esto es, "eluida rápidamente"). Las subunidades S y F actúan sinérgicamente para formar poros sobre glóbulos blancos incluyendo monocitos, macrófagos, células dendríticas y neutrófilos (colectivamente conocidos como fagocitos) (Menestrina et al., "Mode of Action of Beta-Barrel Pore-Forming Toxins of the Staphylococcal Alpha-Hemolysin Family," Toxicol. 39(11):1661-1672 (2001)). El mecanismo por el cual las toxinas de dos componentes forman poros en las membranas celulares diana no se entiende completamente. El mecanismo de acción propuesto de estas toxinas implica la unión de la subunidad S a la membrana celular diana, muy probablemente a través de un receptor, seguido por la unión de la subunidad F a la subunidad S, formando de este modo un oligómero que a su vez forma un prepore que se inserta en la membrana de la célula diana (Jayasinghe et al., "The Leukocidin Pore: Evidence for an Octamer With Four LukF Subunits and Four LukS Subunits Alternating Around a Central Axis," Protein. Sci. 14(10):2550 2561 (2005)). Los poros formados por las leucotoxinas de dos componentes son por lo general selectivos de cationes. La formación de poros causa la muerte celular a través de la lisis, que, en los casos de los glóbulos blancos objetivo, se ha reportado como resultado de un desequilibrio osmótico debido a la afluencia de cationes (Miles et al., "The Staphylococcal Leukocidin Bicomponent Toxin Forms Large Ionic Channels," Biochemistry 40(29):8514 8522 (2001)).

45 El diseño de una terapia eficaz para tratar la infección por MRSA ha sido especialmente desafiante. Además de la resistencia a la meticilina y los antibióticos relacionados, también se ha encontrado que MRSA tiene niveles significativos de resistencia a macrólidos (por ejemplo, eritromicina), combinaciones de inhibidores de beta-lactamasa (por ejemplo, Unasyn, Augmentin) y fluoroquinolonas (por ejemplo, ciprofloxacina), así como a la clindamicina, trimetoprima/sulfametoxisol (Bactrim) y rifampina. En el caso de infección grave por *S. aureus*, los clínicos han recurrido a la vancomicina por vía intravenosa. Sin embargo, ha habido informes de resistencia de *S. aureus* a la vancomicina. Por lo tanto, existe la necesidad de desarrollar nuevos fármacos antibióticos que combatan eficazmente la infección por *S. aureus*.

50 Receptor de quimiocina C-C Tipo 5

55 El receptor de quimiocinas C-C de tipo 5 (CCR5) es un miembro de la familia de receptores de beta quimiocinas (Samson M et al., "Molecular Cloning and Functional Expression of a New Human CC-Chemokine Receptor Gene" Biochemistry 35:3362 (1996)). Los ligandos normales para este receptor son RANTES, Mip1b y Mip1a (véase Samson, supra and Gon W et al "Monocyte Chemotactic Protein-2 Activates CCR5 and Blocks CD4/CCR5 Mediated HIV-1 Entry/Replication," J. Biol. Chem. 273:4289 (1998)). CCR5 se expresa en un subconjunto de células T, macrófagos,

células dendríticas, células asesinas naturales y microglia. Las células T CCR5⁺ secretan citoquinas proinflamatorias y son reclutadas a sitios de inflamación. Por lo tanto, es probable que CCR5 juegue un papel en las respuestas inflamatorias a la infección y en condiciones patológicas tales como enfermedades autoinmunes. CCR5 es también el receptor de la cepa principal del HIV (Deng H et al., "Identification of a Major Co-Receptor for Primary Isolates of HIV-1," Nature 381:661-666 (1996)). En individuos infectados con el HIV, los virus que utilizan CCR5 son las especies predominantes aisladas durante las primeras etapas de la infección viral, lo que sugiere que estos virus pueden tener una ventaja selectiva durante la transmisión o la fase aguda de la enfermedad. Además, al menos la mitad de todos los individuos infectados sólo albergan virus que utilizan CCR5 a lo largo del curso de la infección. Alrededor del 1% de los europeos del Norte carecen de expresión CCR5 funcional, debido a una supresión de 32 pares de bases en este gen. Los individuos con el alelo $\Delta 32$ de CCR5 son saludables, lo que sugiere que CCR5 es en gran medida dispensable. Sin embargo, estos individuos tienen una resistencia muy fuerte a la infección por HIV (Liu R et al., "Homozygous Defect in HIV-1 Coreceptor Accounts for Resistance of Some Multiply-Exposed Individuals to HIV-1 Infection," Cell 86:367-377 (1996)). De hecho, un paciente con AIDS que tenía leucemia mieloide fue tratado con quimioterapia para suprimir el cáncer, que mató a todas sus células T. A continuación, el paciente se trasplantó con una sangre donante que tenía el mutante de delección CCR5 de 32 pb para restaurar el sistema inmunológico. Después de 600 días, el paciente estaba sano y tenía niveles indetectables de HIV en sangre y en tejidos cerebrales y rectales examinados (Hütter G et al., "Long-Term Control of HIV by CCR5 Delta32/Delta32 Stem-Cell Transplantation," N. Engl. J. Med. 360:692-698 (2009)). Se ha diseñado un número de nuevos fármacos experimentales contra el HIV, llamados inhibidores de entrada, que interfieren con la interacción entre CCR5 y HIV, incluyendo PRO140 Vicriviroc, Aploviroc y Maraviroc (Pfizer), de los cuales este último es actualmente un fármaco aprobado para la infección por HIV.

CCR5 también está implicado en la inflamación no controlada (Charo et al., "The Many Roles of Chemokine Receptors in Inflammation," N. Engl. J. Med. 354:610-621 (2006)). Esta asociación se basa en el papel de este receptor de quimiocina en el reclutamiento de leucocitos inflamatorios. En particular, CCR5 se expresa en un subconjunto de células T efectoras que producen citoquinas proinflamatorias tales como interferón gamma (IFN γ) e interleuquina-17 (IL-17), que se enriquecen localmente durante la inflamación. Por lo tanto, CCR5 está siendo considerado como un objetivo para amortiguar los trastornos inflamatorios, tales como la artritis reumatoide (AR), la enfermedad de Crohn (CD), la aterosclerosis y la psoriasis, entre otros.

La presente invención está dirigida a superar estas y otras limitaciones en la técnica.

Resumen de la invención

La presente invención se refiere a una composición que comprende una proteína Leucocidina E (LukE) aislada, o polipéptido de la misma, y una proteína Leucocidina D (LukD) aislada, o polipéptido de la misma para su uso en un método para prevenir o tratar la infección por el virus de inmunodeficiencia humana (HIV) en un sujeto. Este método implica administrar la composición en una cantidad eficaz para prevenir o tratar la infección por HIV en el sujeto.

Como se demuestra en este documento, los solicitantes han encontrado que la leucotoxina de dos componentes de *Staphylococcus aureus*, leucocidina E/D, media su citotoxicidad a través del receptor CCR5 en la superficie de los leucocitos. La explotación de esta interacción con el receptor de la toxina tiene varias implicaciones terapéuticas. Debido a su papel en la mediación de la infectividad del HIV, una variedad de antagonistas de CCR5 que se están probando en ensayos clínicos como fármacos anti-HIV. El uso de la composición que contiene LukE y LukD para dirigir células infectadas latentemente en individuos infectados con HIV representa una estrategia terapéutica superior en comparación con el antagonismo CCR5, porque el uso de esta toxina agotará todas las células positivas para CCR5, eliminando así las células HIV positivas. Una composición que contiene LukE y LukD también se puede administrar profilácticamente para prevenir la transmisión del HIV matando las células positivas para CCR5 que se requieren para la transmisión del HIV. Estos enfoques terapéuticos son nuevos porque erradicarán células del HIV o células susceptibles a la infección por HIV en un sujeto.

Breve divulgación de los dibujos

Las figuras 1A-1B ilustran que LukE/D contribuye a la infección por *S. aureus* en un modelo de ratón de infección sistémica. La figura 1A demuestra que LukE/D es crítica para la muerte de ratones infectados sistémicamente con *S. aureus*. La supervivencia de los ratones se monitorizó después de la inyección intravenosa con $\sim 1 \times 10^7$ CFU con *S. aureus* cepa Newman tipo salvaje, un mutante Δ LukE/D, y la cepa Δ LukE/D::plukE/D complementada. El número total de ratones por grupo fue N=6. La significancia estadística entre las curvas de supervivencia se determinó mediante la prueba Log-rank (Mantel-Cox) ($p \leq 0.0005$). La figura 1B demuestra que LukE/D es necesaria para la proliferación de *S. aureus* in vivo. La carga bacteriana se determinó mediante la enumeración de CFU bacteriana de los riñones 96 horas después de la infección como se describe para la figura 1A. La significancia estadística se determinó mediante ANOVA de 1 vía con las comparaciones múltiples de Tukey después del test (***, $p \leq 0.0005$).

Las figuras 2A-2B muestran que LukE/D es tóxica para seleccionar líneas de células inmunes humanas. La figura 2A demuestra que LukE/D es selectivamente tóxica para la línea celular de tipo monocito THP-1 y las células Hut de la línea celular de tipo linfocito T. La citotoxicidad se determinó mediante un ensayo de viabilidad celular donde las líneas de células inmunes humanas se intoxicaron con diferentes concentraciones de una mezcla equimolar de LukE + LukD

(LukE/D). La viabilidad celular se monitorizó 1 hora después de la intoxicación usando CellTiter, donde las células tratadas con medio se establecieron al 100% viables. Los resultados representan el promedio de muestras por triplicado \pm S.D. La figura 2B representa que LukE/D mata a la célula Hut pero no a otras líneas celulares humanas de tipo linfocito T. Las líneas de células indicadas fueron intoxicadas con diferentes concentraciones de una mezcla equimolar de LukE+LukD (LukE/D) y la viabilidad celular fue monitorizada como en la figura 2A. Los resultados representan el promedio de muestras por triplicado \pm S.D.

La figura 3 ilustra que el receptor de quimiocinas CCR5 es necesario y suficiente para hacer que las células de mamífero sean susceptibles a la citotoxicidad mediada por LukE/D. Las células Parental Jurkat (superior, izquierda) y GHOST (inferior, izquierda) o estas células transducidas con un ADNc de CCR5 (Jurkat CCR5⁺, arriba/derecha, GHOST CCR5⁺, inferior/derecha), fueron intoxicadas con LukE, LukD o mezcla equimolar de LukE+LukD (LukE/D). Una hora después de la intoxicación, la viabilidad celular se monitorizó con CellTiter, donde las células tratadas con medio se establecieron al 100% viables. Los resultados representan el promedio de muestras por triplicado \pm S.D.

Las figuras 4A-4C muestran que la citotoxicidad de LukE/D frente a las células huésped está bloqueada por los inhibidores de CCR5. La figura 4A demuestra que el antagonista específico de CCR5 bloquea potentemente la citotoxicidad de LukE/D frente a células CCR5⁺. CCR5⁺ Jurkats se preincubaron con diferentes concentraciones de Maraviroc (MVC), Vicriviroc (VVC) o TAK-779 (TAK) durante 30 minutos seguido de intoxicación con una mezcla equimolar de LukE+LukD (LukE/D). Una hora después de la intoxicación, el porcentaje de muerte se determinó por CellTiter, donde las células tratadas con medio + LukE/D se fijaron a 100% de muerte celular. Los resultados representan el promedio de muestras por triplicado \pm S.D. La figura 4B demuestra que los anticuerpos monoclonales dirigidos frente a CCR5 inhiben la citotoxicidad de LukE/D frente a células CCR5⁺. CCR5⁺ Jurkats se preincubaron con los anticuerpos monoclonales indicados durante 30 minutos seguido de intoxicación con una mezcla equimolar de LukE+LukD (LukE/D). Una hora después de la intoxicación, la viabilidad de las células se determinó por CellTiter. Los resultados representan el promedio de muestras por triplicado \pm S.D. La figura 4C demuestra que los ligandos de CCR5 inhiben la citotoxicidad de LukE/D frente a las células CCR5⁺. CCR5⁺ Jurkats se preincubaron con solución reguladora (PBS, control negativo) o diferentes concentraciones de los ligandos indicados durante 30 minutos seguido de intoxicación con una mezcla equimolar de LukE+LukD (LukE/D). Una hora después de la intoxicación, la viabilidad de las células se determinó por CellTiter. Los resultados representan el promedio de muestras por triplicado \pm S.D.

Las figuras 5A-5C ilustran que el bloqueo de la unión de LukE/D a la membrana plasmática de células diana protege las células de la citotoxicidad mediada por LukE/D. La figura 5A demuestra que LukE/D se une a las células huésped de una manera dependiente de CCR5 y que esta unión es potentemente inhibida por Maraviroc. Las células Jurkat (CCR5⁺) y CCR5⁺ Jurkat (CCR5⁺) se preincubaron con solución reguladora o con Maraviroc (CCR5⁺ + MVC) seguido de incubación de una mezcla equimolar de una LukE fundida proteína fluorescente verde con toxina LukD^{GFP} (LukE/D). La unión de la toxina a la membrana plasmática de las células se monitorizó mediante citometría de flujo. La figura 5B demuestran que LukE/D forma poros en la membrana plasmática de células CCR5⁺, que son potentemente bloqueadas por Maraviroc. Las células CCR5⁺ Jurkat se preincubaron con Maraviroc (MVC) y posteriormente se intoxicaron con una mezcla equimolar de LukE+LukD (LukE/D) en presencia de bromuro de etidio. La formación de poros se midió a lo largo del tiempo mediante la monitorización de la incorporación de bromuro de etidio. Los resultados representan el promedio de muestras por triplicado \pm S.D. La figura 5C muestra que la formación de poros por LukE/D está asociada con hinchamiento celular, un efecto citopático potentemente inhibido por Maraviroc. Las células CCR5⁺ Jurkat se preincubaron con solución reguladora (NO MVC) o con Maraviroc (MVC) y posteriormente se intoxicaron con una mezcla equimolar de LukE+LukD (LukE/D) en presencia de bromuro de etidio. Las células intoxicadas se controlaron por luz (paneles superiores) y por microscopía de fluorescencia para determinar la captación de bromuro de etidio. Se muestran imágenes representativas.

Las figuras 6A-C muestran que LukE/D mata potentemente las células inmunitarias humanas primarias CCR5⁺. La figura 6A demuestra que LukE/D se dirige a linfocitos T humanos primarios de una manera dependiente de CCR5. Las células T de células mononucleares de sangre periférica humana (PBMC) de CCR5 de tipo salvaje y un donador Δ 32CCR5 se expandieron *in vitro* y posteriormente se incubaron con medios (control negativo), una mezcla equimolar de LukE+LukD (LukE/D) o con Maraviroc MVC) seguida de intoxicación con una mezcla equimolar de LukE + LukD (LukE/D). A continuación, las células se tiñeron con un anticuerpo anti-CCR5 y un colorante de viabilidad antes del análisis por citometría de flujo. Las figuras 6B-6C demuestran que LukE/D es citotóxica frente a macrófagos humanos primarios (Figura 6B) y células dendríticas humanas primarias (Figura 6C) y que Maraviroc protege potentemente estas células de la citotoxicidad mediada por LukE/D. Se incubaron macrófagos y células dendríticas con medios (control negativo), una mezcla equimolar de LukE+LukD (LukE/D) o con Maraviroc (MVC) seguido de intoxicación con una mezcla equimolar de LukE+LukD (LukE/D). Una hora después de la intoxicación, el porcentaje de muerte se determinó por citometría de flujo.

Descripción detallada de la invención

Proteínas LukE aisladas apropiadas incluyen las derivadas de cualquier cepa de *S. aureus*. La secuencia de aminoácidos de las proteínas LukE de diversas cepas de *S. aureus* que son apropiadas para la composición de la presente invención se muestran en la Tabla 1 a continuación (esto es, SEQ ID Nos: 1-10). La SEQ ID NO: 11 de la Tabla 1 es una secuencia de consenso LukE que demuestra el alto nivel de identidad de secuencia a través de las proteínas LukE de diversas cepas de *S. aureus*. De acuerdo con lo anterior, en una realización de la presente invención,

la proteína LukE aislada comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11. En otra realización de la presente invención, la proteína LukE aislada comprende una secuencia de aminoácidos que tiene aproximadamente 70-80% de similitud de secuencia con SEQ ID NO: 11, más preferiblemente, aproximadamente 80-90% de similitud de secuencia con SEQ ID NO: 11 y más preferiblemente 90-95% de similitud de secuencia con SEQ ID NO: 11 y más preferiblemente aproximadamente 95-99% de similitud de secuencia con la SEQ ID NO: 11.

En otra realización de la presente invención, la composición comprende un polipéptido aislado de LukE. Los polipéptidos LukE apropiados tienen una longitud de aproximadamente 50 a aproximadamente 100 aminoácidos. Más preferiblemente, los polipéptidos LukE tienen entre aproximadamente 100-200 aminoácidos de longitud, más preferiblemente entre aproximadamente 200-250 aminoácidos de longitud, y más preferiblemente entre 250-300 aminoácidos de longitud. Los residuos de aminoácidos N-terminales de la LukE de longitud completa representan la secuencia de secreción/señal nativa. De este modo, la forma secretada "madura" de LukE está representada por los residuos de aminoácidos 29-311 en cada una de las SEQ ID NOs: 1-10 y SEQ ID NO: 11. Correspondientemente, los residuos de aminoácidos 1-311 en cada una de las SEQ ID NOs: 1-10 y SEQ ID NO: 11 se denominan la forma "inmadura" de LukE. De acuerdo con lo anterior, en una realización de la presente invención, el polipéptido de LukE comprende los residuos de aminoácidos 29-311 de SEQ ID NO: 11, los residuos de aminoácidos 48-291 de SEQ ID NO: 11, los residuos de aminoácidos 29-301 de SEQ ID NO: 11, y aminoácidos 48-301 de SEQ ID NO: 11. En cualquiera de los casos, los polipéptidos de LukE apropiados también incluyen los polipéptidos que comprenden una secuencia de aminoácidos que tiene aproximadamente 70-80% de similitud de secuencia, preferiblemente 80-90% de similitud de secuencia, más preferiblemente 90-95% de similitud de secuencia, y más preferiblemente 95-99% de similitud de secuencia con los residuos de aminoácidos 29-311 de SEQ ID NO: 11 o 48-291 de SEQ ID NO: 11.

Las proteínas LukD aisladas apropiadas incluyen aquellas proteínas derivadas de cualquier cepa de *S. aureus*. La secuencia de aminoácidos de las proteínas LukD de diversas cepas de *S. aureus* que son apropiadas para la composición de la presente invención se muestran en la siguiente Tabla 2 (esto es, SEQ ID Nos: 12-21). La SEQ ID NO: 22 de la Tabla 2 es una secuencia consenso de LukD que demuestra el alto nivel de identidad de secuencia a través de las proteínas LukD de diversas cepas de *S. aureus*. De acuerdo con lo anterior, en una realización de la presente invención, la proteína LukD aislada comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22. En otra realización de la presente invención, la proteína LukD aislada comprende una secuencia de aminoácidos que tiene aproximadamente 70-80% de similitud de secuencia con SEQ ID NO: 22, preferiblemente, aproximadamente 80-90% de similitud de secuencia con SEQ ID NO: 22 y más preferiblemente 90-95% de similitud de secuencia con SEQ ID NO: 22 y más preferiblemente aproximadamente 95-99% de similitud de secuencia con SEQ ID NO: 22.

En otra realización de la presente invención, la composición comprende un polipéptido aislado de LukD. Los polipéptidos de LukD apropiados tienen una longitud de aproximadamente 50 a aproximadamente 100 aminoácidos. Más preferiblemente, los polipéptidos de LukD tienen entre aproximadamente 100-200 aminoácidos de longitud, más preferiblemente entre aproximadamente 200-250 aminoácidos de longitud, y más preferiblemente entre 250-300 aminoácidos de longitud. Los residuos de aminoácidos N-terminales de LukD de longitud completa representan la secuencia de secreción/señal nativa. De este modo, la forma segregada madura de LukD está representada por los residuos de aminoácidos 27-327 en cada una de las SEQ ID NOs: 12-21 y SEQ ID NO: 22. Correspondientemente, los residuos de aminoácidos 1-327 de SEQ ID NOs: 12-21 Y SEQ ID NO: 22 se denominan como la forma "inmadura" de LukD. De acuerdo con lo anterior, en una realización de la presente invención, el polipéptido de LukD comprende los residuos de aminoácidos 27-327 de la SEQ ID NO: 22. Alternativamente, el polipéptido de LukD de la presente invención comprende los residuos de aminoácidos 46-307, los residuos de aminoácidos 27-312 y los residuos de aminoácidos 46-312 de SEQ ID NO: 22. En cualquier caso, los polipéptidos apropiados también incluyen aquellos polipéptidos que comprenden una secuencia de aminoácidos que tiene aproximadamente 70-80% de similitud de secuencia, preferiblemente 80-90% de similitud de secuencia, más preferiblemente 90-95% de similitud de secuencia y más preferiblemente 95-99% de similitud de secuencia con los residuos de aminoácidos 27-327 de SEQ ID NO: 22, residuos de aminoácidos de 46-307 de SEQ ID NO: 22, residuos de aminoácidos de 46-312 de SEQ ID NO: 22, o residuos de aminoácidos de 27-312 de SEQ ID NO: 22.

Tabla 1 Alineación de secuencia de S. Aureus

Cepa de S. Aureus

Newman	MFKKKMLAATLSVGLIAPLASPIQESRANTNIENIGDGAEVIKRTEDVSS	50	SEQ	ID	NO:1
MW2	MFKKKMLAATLSVGLIAPLASPIQESRANTNIENIGDGAEVIKRTEDVSS	50	SEQ	ID	NO:2
USA_300_FPR3757	MFKKKMLAATLSVGLIAPLASPIQESRANTNIENIGDGAEVIKRTEDVSS	50	SEQ	ID	NO:3
COL	MFKKKMLAATLSVGLIAPLASPIQESRANTNIENIGDGAEVIKRTEDVSS	50	SEQ	ID	NO:4
USA_300_TCH1516	MFKKKMLAATLSVGLIAPLASPIQESRANTNIENIGDGAEVIKRTEDVSS	50	SEQ	ID	NO:5
N315	MFKKKMLAATLSVGLIAPLASPIQESRANTNIENIGDGAEVIKRTEDVSS	50	SEQ	ID	NO:6
D30	MFKKKMLAATLSVGLIAPLASPIQESRANTNIENIGDGAEVIKRTEDVSS	50	SEQ	ID	NO:7
Mu50	MFKKKMLAATLSVGLIAPLASPIQESRANTNIENIGDGAEVIKRTEDVSS	50	SEQ	ID	NO:8
TCH_70	MFKKKMLAATLSVGLIAPLASPIQESRANTNIENIGDGAEVIKRTEDVSS	50	SEQ	ID	NO:9
MRSÄ131	MFKKKMLAATLSVGLIAPLASPIQESRANTNIENIGDGAEVIKRTEDVSS	50	SEQ	ID	NO:10

Secuencia consenso de LuKE MFKKKMLAATLSVGLIAPLASPIQESRANTNIENIGDGAEVIKRTEDVSS 50 SEQ ID NO:11

Newman	KKWGVTONVQDFVVKDKKYNKDALIVKMQGFINSRTSFSVDVKGSGYELTK	100
MW2	KKWGVTONVQDFVVKDKKYNKDALIVKMQGFINSRTSFSVDVKGSGYELTK	100
USA_300_FPR3757	KKWGVTONVQDFVVKDKKYNKDALIVKMQGFINSRTSFSVDVKGSGYELTK	100
COL	KKWGVTONVQDFVVKDKKYNKDALIVKMQGFINSRTSFSVDVKGSGYELTK	100
USA_300_TCH1516	KKWGVTONVQDFVVKDKKYNKDALIVKMQGFINSRTSFSVDVKGSGYELTK	100
N315	KKWGVTONVQDFVVKDKKYNKDALIVKMQGFINSRTSFSVDVKGSGYELTK	100
D30	KKWGVTONVQDFVVKDKKYNKDALIVKMQGFINSRTSFSVDVKGSGYELTK	100
Mu50	KKWGVTONVQDFVVKDKKYNKDALIVKMQGFINSRTSFSVDVKGSGYELTK	100
TCH_70	KKWGVTONVQDFVVKDKKYNKDALIVKMQGFINSRTSFSVDVKGSGYELTK	100
MRSÄ131	KKWGVTONVQDFVVKDKKYNKDALIVKMQGFINSRTSFSVDVKGSGYELTK	100

Secuencia consenso de LuKE KKWGVTONVQDFVVKDKKYNKDALIVKMQGFINSRTSFSVDVKGSGYELTK

Newman	RMIWPFQYNI GLTTKDPNVSLINYL PKNKIETTDVGQTLGYNIGGNFQSA	150
MW2	RMIWPFQYNI GLTTKDPNVSLINYL PKNKIETTDVGQTLGYNIGGNFQSA	150
USA_300_FPR3757	RMIWPFQYNI GLTTKDPNVSLINYL PKNKIETTDVGQTLGYNIGGNFQSA	150
COL	RMIWPFQYNI GLTTKDPNVSLINYL PKNKIETTDVGQTLGYNIGGNFQSA	150
USA_300_TCH1516	RMIWPFQYNI GLTTKDPNVSLINYL PKNKIETTDVGQTLGYNIGGNFQSA	150
N315	RMIWPFQYNI GLTTKDPNVSLINYL PKNKIETTDVGQTLGYNIGGNFQSA	150
D30	RMIWPFQYNI GLTTKDPNVSLINYL PKNKIETTDVGQTLGYNIGGNFQSA	150
Mu50	RMIWPFQYNI GLTTKDPNVSLINYL PKNKIETTDVGQTLGYNIGGNFQSA	150
TCH_70	RMIWPFQYNI GLTTKDPNVSLINYL PKNKIETTDVGQTLGYNIGGNFQSA	150
MRSÄ131	RMIWPFQYNI GLTTKDPNVSLINYL PKNKIETTDVGQTLGYNIGGNFQSA	150

Secuencia consenso de LuKE RMIWPFQYNI GLTTKDPNVSLINYL PKNKIETTDVGQTLGYNIGGNFQSA

Newman	PSIGGNGSFNYSKTI SYTQKS YVSEVDKQNSKSVKWGVKANEFVTPDGKK	200
MW2	PSIGGNGSFNYSKTI SYTQKS YVSEVDKQNSKSVKWGVKANEFVTPDGKK	200
USA_300_FPR3757	PSIGGNGSFNYSKTI SYTQKS YVSEVDKQNSKSVKWGVKANEFVTPDGKK	200
COL	PSIGGNGSFNYSKTI SYTQKS YVSEVDKQNSKSVKWGVKANEFVTPDGKK	200
USA_300_TCH1516	PSIGGNGSFNYSKTI SYTQKS YVSEVDKQNSKSVKWGVKANEFVTPDGKK	200
N315	PSIGGNGSFNYSKTI SYTQKS YVSEVDKQNSKSVKWGVKANEFVTPDGKK	200
D30	PSIGGNGSFNYSKTI SYTQKS YVSEVDKQNSKSVKWGVKANEFVTPDGKK	200
Mu50	PSIGGNGSFNYSKTI SYTQKS YVSEVDKQNSKSVKWGVKANEFVTPDGKK	200
TCH_70	PSIGGNGSFNYSKTI SYTQKS YVSEVDKQNSKSVKWGVKANEFVTPDGKK	200
MRSÄ131	PSIGGNGSFNYSKTI SYTQKS YVSEVDKQNSKSVKWGVKANEFVTPDGKK	200

Secuencia consenso de LuKE PSIGGNGSFNYSKTI SYTQKS YVSEVDKQNSKSVKWGVKANEFVTPDGKK

Newman	SAHDRYLFVQSPNGPTGSAREYFAPDNQLPPLVQSGFNPSFITTL SHEKG	250
MW2	SAHDRYLFVQSPNGPTGSAREYFAPDNQLPPLVQSGFNPSFITTL SHEKG	250
USA_300_FPR3757	SAHDRYLFVQSPNGPTGSAREYFAPDNQLPPLVQSGFNPSFITTL SHEKG	250
COL	SAHDRYLFVQSPNGPTGSAREYFAPDNQLPPLVQSGFNPSFITTL SHEKG	250

ES 2 609 817 T3

USA_300_TCH1516	SAHDRYLQVQSPNGPTGSAREYFAPDNQLPPLVQSGFNPSFITTLSEK 250
N315	SAHDRYLQVQSPNGPTGSAREYFAPDNQLPPLVQSGFNPSFITTLSEK 250
D30	SAHDRYLQVQSPNGPTGSAREYFAPDNQLPPLVQSGFNPSFITTLSEK 250
Mu50	SAHDRYLQVQSPNGPTGSAREYFAPDNQLPPLVQSGFNPSFITTLSEK 250
TCH_70	SAHDRYLQVQSPNGPTGSAREYFAPDNQLPPLVQSGFNPSFITTLSEK 250
MRSÄ131	SAHDRYLQVQSPNGPTGSAREYFAPDNQLPPLVQSGFNPSFITTLSEK 250

Secuencia consenso de LukE

SAHDRYLQVQSPNGPTGSAREYFAPDNQLPPLVQSGFNPSFITTLSEK

Newman	SSDTSEFEISYGRNLDITYATLFPRTGIYAERKHNAFVNRNFVRYEVNW 300
MW2	SSDTSEFEISYGRNLDITYATLFPRTGIYAERKHNAFVNRNFVRYEVNW 300
USA_300_FPR3757	SSDTSEFEISYGRNLDITYATLFPRTGIYAERKHNAFVNRNFVRYEVNW 300
COL	SSDTSEFEISYGRNLDITYATLFPRTGIYAERKHNAFVNRNFVRYEVNW 300
USA_300_TCH1516	SSDTSEFEISYGRNLDITYATLFPRTGIYAERKHNAFVNRNFVRYEVNW 300
N315	SSDTSEFEISYGRNLDITYATLFPRTGIYAERKHNAFVNRNFVRYEVNW 300
D30	SSDTSEFEISYGRNLDITYATLFPRTGIYAERKHNAFVNRNFVRYEVNW 300
Mu50	SSDTSEFEISYGRNLDITYATLFPRTGIYAERKHNAFVNRNFVRYEVNW 300
TCH_70	SSDTSEFEISYGRNLDITYATLFPRTGIYAERKHNAFVNRNFVRYEVNW 300
MRSÄ131	SSDTSEFEISYGRNLDITYATLFPRTGIYAERKHNAFVNRNFVRYEVNW 300

Secuencia consenso de LukE

SSDTSEFEISYGRNLDITYATLFPRTGIYAERKHNAFVNRNFVRYEVNW

Newman	KTHEIKVKGHN 311
MW2	KTHEIKVKGHN 311
USA_300_FPR3757	KTHEIKVKGHN 311
COL	KTHEIKVKGHN 311
USA_300_TCH1516	KTHEIKVKGHN 311
N315	KTHEIKVKGHN 311
D30	KTHEIKVKGHN 311
Mu50	KTHEIKVKGHN 311

TCH_70	KTHEIKVKGHN 311
MRSÄ131	KTHEIKVKGHN 311

Secuencia consenso de LukE	KTHEIKVKGHN

→ Representa el inicio de la proteína LukE segregada

Tabla 2 Alineación de secuencia de aminoácidos LukD

	→	
Newman	MKMKKLVKSSVASSIALLLLSNTVDAAQHITPVSEKKVDDKITLYKTTAT	50 SEQ ID NO:12
MW2	MKMKKLVKSSVASSIALLLLSNTVDAAQHITPVSEKKVDDKITLYKTTAT	50 SEQ ID NO:13
USA_300_FPR3757	MKMKKLVKSSVASSIALLLLSNTVDAAQHITPVSEKKVDDKITLYKTTAT	50 SEQ ID NO:14
COL	MKMKKLVKSSVASSIALLLLSNTVDAAQHITPVSEKKVDDKITLYKTTAT	50 SEQ ID NO:15
USA_300_TCH1516	MKMKKLVKSSVASSIALLLLSNTVDAAQHITPVSEKKVDDKITLYKTTAT	50 SEQ ID NO:16
MRSÄ131	MKMKKLVKSSVASSIALLLLSNTVDAAQHITPVSEKKVDDKITLYKTTAT	50 SEQ ID NO:17
TCH_70	MKMKKLVKSSVASSIALLLLSNTVDAAQHITPVSEKKVDDKITLYKTTAT	50 SEQ ID NO:18
D30	MKMKKLVKSSVASSIALLLLSNTVDAAQHITPVSEKKVDDKITLYKTTAT	50 SEQ ID NO:19
N315	MKMKKLVKSSVASSIALLLLSNTVDAAQHITPVSEKKVDDKITLYKTTAT	50 SEQ ID NO:20
Mu50	MKMKKLVKSSVASSIALLLLSNTVDAAQHITPVSEKKVDDKITLYKTTAT	50 SEQ ID NO:21
Secuencia consenso de LukD	MKMKKLVKSSVASSIALLLLSNTVDAAQHITPVSEKKVDDKITLYKTTAT	50 SEQ ID NO:22

Newman	SDNDKLNISQILTFNFIKDKSYDKDTLVLKAAGNINSGYKKPNPKDYNYS	100
MW2	SDNDKLNISQILTFNFIKDKSYDKDTLVLKAAGNINSGYKKPNPKDYNYS	100
USA_300_FPR3757	SDNDKLNISQILTFNFIKDKSYDKDTLVLKAAGNINSGYKKPNPKDYNYS	100
COL	SDNDKLNISQILTFNFIKDKSYDKDTLVLKAAGNINSGYKKPNPKDYNYS	100
USA_300_TCH1516	SDNDKLNISQILTFNFIKDKSYDKDTLVLKAAGNINSGYKKPNPKDYNYS	100
MRSÄ131	SDNDKLNISQILTFNFIKDKSYDKDTLVLKAAGNINSGYKKPNPKDYNYS	100

TCH_70	SDNDKLNISQILTFNFIKDKSYDKDTLVLKAAGNINSGYKKPNPKDYNYS	100
D30	SDNDKLNISQILTFNFIKDKSYDKDTLVLKAAGNINSGYKKPNPKDYNYS	100
N315	SDNDKLNISQILTFNFIKDKSYDKDTLVLKAAGNINSGYKKPNPKDYNYS	100
Mu50	SDNDKLNISQILTFNFIKDKSYDKDTLVLKAAGNINSGYKKPNPKDYNYS	100
Secuencia consenso de LukD	SDNDKLNISQILTFNFIKDKSYDKDTLVLKAAGNINSGYKKPNPKDYNYS	

Newman	QFYWGGKYNVSVSSESNDAVNVVDYAPKNQNEEFQVQQTTLGYSYGGDINI	150
MW2	QFYWGGKYNVSVSSESNDAVNVVDYAPKNQNEEFQVQQTTLGYSYGGDINI	150
USA_300_FPR3757	QFYWGGKYNVSVSSESNDAVNVVDYAPKNQNEEFQVQQTTLGYSYGGDINI	150
COL	QFYWGGKYNVSVSSESNDAVNVVDYAPKNQNEEFQVQQTTLGYSYGGDINI	150
USA_300_TCH1516	QFYWGGKYNVSVSSESNDAVNVVDYAPKNQNEEFQVQQTTLGYSYGGDINI	150
MRSÄ131	QFYWGGKYNVSVSSESNDAVNVVDYAPKNQNEEFQVQQTTLGYSYGGDINI	150
TCH_70	QFYWGGKYNVSVSSESNDAVNVVDYAPKNQNEEFQVQQTTLGYSYGGDINI	150
D30	QFYWGGKYNVSVSSESNDAVNVVDYAPKNQNEEFQVQQTTLGYSYGGDINI	150
N315	QFYWGGKYNVSVSSESNDAVNVVDYAPKNQNEEFQVQQTTLGYSYGGDINI	150
Mu50	QFYWGGKYNVSVSSESNDAVNVVDYAPKNQNEEFQVQQTTLGYSYGGDINI	150
Secuencia consenso de LukD	QFYWGGKYNVSVSSESNDAVNVVDYAPKNQNEEFQVQQTTLGYSYGGDINI	

Newman	SNGLSGGLNGSKSFSETINYKQESYRTTIDRKTNHKSIGWGVEAHKIMMN	200
MW2	SNGLSGGLNGSKSFSETINYKQESYRTTIDRKTNHKSIGWGVEAHKIMMN	200
USA_300_FPR3757	SNGLSGGLNGSKSFSETINYKQESYRTTIDRKTNHKSIGWGVEAHKIMMN	200
COL	SNGLSGGLNGSKSFSETINYKQESYRTTIDRKTNHKSIGWGVEAHKIMMN	200
USA_300_TCH1516	SNGLSGGLNGSKSFSETINYKQESYRTTIDRKTNHKSIGWGVEAHKIMMN	200
MRSÄ131	SNGLSGGLNGSKSFSETINYKQESYRTTIDRKTNHKSIGWGVEAHKIMMN	200
TCH_70	SNGLSGGLNGSKSFSETINYKQESYRTTIDRKTNHKSIGWGVEAHKIMMN	200
D30	SNGLSGGLNGSKSFSETINYKQESYRTTIDRKTNHKSIGWGVEAHKIMMN	200
N315	SNGLSGGLNGSKSFSETINYKQESYRTTIDRKTNHKSIGWGVEAHKIMMN	200

Mu50 SNGLSGGLNGSKSFSETINYKQESYRTTIDRKTNHKSIIGWGVEAHKIMNN 200

Secuencia consenso de LukD

SNGLSGGLNGSKSFSETINYKQESYRTTIDRKTNHKSIIGWGVEAHKIMNN

Newman GWGPYGRDSYDPTYGNELFLGGRQSSSNAGQNFLPTHQMPLLRGNFNPE 250
 MW2 GWGPYGRDSYDPTYGNELFLGGRQSSSNAGQNFLPTHQMPLLRGNFNPE 250
 USA_300_FPR3757 GWGPYGRDSYDPTYGNELFLGGRQSSSNAGQNFLPTHQMPLLRGNFNPE 250
 COL GWGPYGRDSYDPTYGNELFLGGRQSSSNAGQNFLPTHQMPLLRGNFNPE 250
 USA_300_TCH1516 GWGPYGRDSYDPTYGNELFLGGRQSSSNAGQNFLPTHQMPLLRGNFNPE 250
 MRSA131 GWGPYGRDSYDPTYGNELFLGGRQSSSNAGQNFLPTHQMPLLRGNFNPE 250
 TCH_70 GWGPYGRDSYDPTYGNELFLGGRQSSSNAGQNFLPTHQMPLLRGNFNPE 250
 D30 GWGPYGRDSYDPTYGNELFLGGRQSSSNAGQNFLPTHQMPLLRGNFNPE 250
 N315 GWGPYGRDSYDPTYGNELFLGGRQSSSNAGQNFLPTHQMPLLRGNFNPE 250
 Mu50 GWGPYGRDSYDPTYGNELFLGGRQSSSNAGQNFLPTHQMPLLRGNFNPE 250

Secuencia consenso de LukD

GWGPYGRDSYDPTYGNELFLGGRQSSSNAGQNFLPTHQMPLLRGNFNPE

Newman FISVLSHKQNDTKKSKIKVITYQREMDRYTNQWNRLHWVGNNYKNQNTVTF 300
 MW2 FISVLSHKQNDTKKSKIKVITYQREMDRYTNQWNRLHWVGNNYKNQNTVTF 300
 USA_300_FPR3757 FISVLSHKQNDTKKSKIKVITYQREMDRYTNQWNRLHWVGNNYKNQNTVTF 300
 COL FISVLSHKQNDTKKSKIKVITYQREMDRYTNQWNRLHWVGNNYKNQNTVTF 300
 USA_300_TCH1516 FISVLSHKQNDTKKSKIKVITYQREMDRYTNQWNRLHWVGNNYKNQNTVTF 300
 MRSA131 FISVLSHKQNDTKKSKIKVITYQREMDRYTNQWNRLHWVGNNYKNQNTVTF 300
 TCH_70 FISVLSHKQNDTKKSKIKVITYQREMDRYTNQWNRLHWVGNNYKNQNTVTF 300
 D30 FISVLSHKQNDTKKSKIKVITYQREMDRYTNQWNRLHWVGNNYKNQNTVTF 300
 N315 FISVLSHKQNDTKKSKIKVITYQREMDRYTNQWNRLHWVGNNYKNQNTVTF 300
 Mu50 FISVLSHKQNDTKKSKIKVITYQREMDRYTNQWNRLHWVGNNYKNQNTVTF 300

Secuencia consenso de LukD

FISVLSHKQNDTKKSKIKVITYQREMDRYTNQWNRLHWVGNNYKNQNTVTF

Newman TSTYEVDWQNHTVKLIGTDSKETNPGV 327
 MW2 TSTYEVDWQNHTVKLIGTDSKETNPGV 327
 USA_300_FPR3757 TSTYEVDWQNHTVKLIGTDSKETNPGV 327
 COL TSTYEVDWQNHTVKLIGTDSKETNPGV 327
 USA_300_TCH1516 TSTYEVDWQNHTVKLIGTDSKETNPGV 327
 MRSA131 TSTYEVDWQNHTVKLIGTDSKETNPGV 327
 TCH_70 TSTYEVDWQNHTVKLIGTDSKETNPGV 327
 D30 TSTYEVDWQNHTVKLIGTDSKETNPGV 327
 N315 TSTYEVDWQNHTVKLIGTDSKETNPGV 327
 Mu50 TSTYEVDWQNHTVKLIGTDSKETNPGV 327

 Secuencia consenso de LukD TSTYEVDWQNHTVKLIGTDSKETNPGV

→ Representa el inicio de la proteína LukD segregada

De este modo, a menos que se indique lo contrario, tanto las formas inmaduras como las maduras de LukE nativo y LukD, y las secuencias que tienen menos del 100% de similitud con Luke nativa (*esto es*, secuencias nativas y análogos por igual, denominados colectivamente en este documento "Luke" y "LukD") se pueden utilizar en los métodos de la presente invención.

Las proteínas Luke y LukD y los polipéptidos de la invención pueden diferir de los polipéptidos nativos designados como SEQ ID NOS: 1-11 y 12-22 respectivamente, en términos de una o más inserciones, sustituciones o deleciones adicionales de aminoácidos, por ejemplo, uno o más residuos de aminoácidos dentro de SEQ ID NOS: 1-22 pueden estar sustituidos por otro aminoácido de una polaridad similar, que actúa como un equivalente funcional, dando como resultado una alteración silenciosa. Es decir, el cambio relativo a la secuencia nativa no disminuiría apreciablemente las propiedades básicas de Luke o LukD nativo. Cualquiera de dichos análogos de Luke o LukD puede ser detectado de acuerdo con los protocolos descritos en este documento (por ejemplo, el ensayo de toxicidad celular y el ensayo de daño a la membrana) para determinar si mantiene actividad de Luke o LukD nativa. Las sustituciones dentro de estas leucocidinas se pueden seleccionar entre otros miembros de la clase a la que pertenece el aminoácido. Por ejemplo, los aminoácidos no polares (hidrófobos) incluyen alanina, leucina, isoleucina, valina, prolina, fenilalanina, triptófano y metionina. Los aminoácidos neutros polares incluyen glicina, serina, treonina, cisteína, tirosina, asparagina y glutamina.

Los aminoácidos cargados positivamente (básicos) incluyen arginina, lisina e histidina. Los aminoácidos cargados negativamente (ácidos) incluyen ácido aspártico y ácido glutámico.

5 En otras realizaciones, se pueden hacer alteraciones no conservadoras (por ejemplo, una o sustituciones, deleciones y/o adiciones de aminoácidos) con el fin de aumentar la selectividad y/o actividad de LukE y/o LukD. Las LukE y LukD modificadas se pueden utilizar en las composiciones terapéuticas descritas en este documento. Las alteraciones moleculares se pueden realizar por métodos bien conocidos en la técnica, incluyendo la extensión del cebador en una plantilla de plásmido usando plantillas de cadena sencilla (Kunkel et al., Proc. Acad. Sci., USA 82:488-492 (1985)), plantillas de ADN de cadena doble (Papworth et al., Strategies 9(3):3-4 (1996)), y por clonación PCR (Braman, J. (ed.), IN VITRO MUTAGENESIS PROTOCOLS, 2nd ed. Humana Press, Totowa, N.J. (2002)). En este documento, se describen los métodos para determinar si una alteración molecular dada en LukE y LukD altera la citotoxicidad de LukE/D.

15 En una realización preferida de la presente invención, se utiliza una preparación LukE/LukD altamente purificada. Los métodos de purificación de las toxinas LukE y LukD son conocidos en la técnica (Gravet et al., "Characterization of a Novel Structural Member, LukE-LukD, of the Bi-Component Staphylococcal Leucotoxins Family," FEBS 436: 202-208 (1998)). Como se utiliza en este documento, la proteína o polipéptido "aislado" se refiere a una proteína o polipéptido que ha sido separado de otras proteínas, lípidos y ácidos nucleicos con los que está naturalmente asociado. La pureza se puede medir por cualquier método estándar apropiado, por ejemplo, por cromatografía en columna, electroforesis en gel de poliácridamida, de análisis HPLC. Una proteína o polipéptido aislado de la invención se puede purificar a partir de una fuente natural, producida por técnicas de ADN recombinante, o por métodos químicos.

20 Las composiciones terapéuticas para uso de acuerdo con la presente invención se preparan formulando LukE y LukD con un portador farmacéuticamente aceptable y opcionalmente un excipiente farmacéuticamente aceptable. Como se utiliza en este documento, los términos "portador farmacéuticamente aceptable" y "excipiente farmacéuticamente aceptable" (por ejemplo, aditivos tales como diluyentes, inmunoestimulantes, adyuvantes, antioxidantes, conservantes y agentes solubilizantes) no son tóxicos para la célula o mamífero que se expone a las dosificaciones y concentraciones utilizadas. Ejemplos de portadores farmacéuticamente aceptables incluyen agua, por ejemplo, estandarizada con fosfato, citrato y otro ácido orgánico. Ejemplos representativos de excipientes farmacéuticamente aceptables que pueden ser útiles en la presente invención incluyen antioxidantes tales como ácido ascórbico; polipéptidos de bajo peso molecular (menos de aproximadamente 10 residuos); proteínas, tales como albúmina sérica, gelatina o inmunoglobulinas; adyuvantes (seleccionados para evitar la toxicidad inducida por el adyuvante, tal como un β -glucano como se describe en la Patente de los Estados Unidos 6,355,625 de Pavliak et al., o un factor de estimulación de colonias de granulocitos (GCSF)); polímeros hidrófilos tales como polivinilpirrolidona; aminoácidos tales como glicina, glutamina, asparagina, arginina o lisina; monosacáridos, disacáridos y otros carbohidratos incluyendo glucosa, manosa o dextrinas; agentes quelantes tales como EDTA; alcoholes de azúcar tales como manitol o sorbitol; contraiones formadores de sales tales como sodio; y/o surfactantes no iónicos tales como TWEEN®, polietilenglicol (PEG) y PLURONICS®.

Las composiciones terapéuticas para uso de acuerdo con la presente invención se pueden preparar para almacenamiento mezclando el(los) ingrediente(s) activo(s) que tiene(n) el grado deseado de pureza con el portador farmacéuticamente aceptable y el excipiente opcional y/o agente activo adicional, en forma de formulaciones liofilizadas o soluciones acuosas.

40 La presente invención se refiere a una composición que comprende una proteína LukE aislada, o polipéptido de la misma, y una proteína LukD aislada, o polipéptido de la misma para uso en un método de prevención o tratamiento de la infección por virus de inmunodeficiencia humana (HIV) en un sujeto. Este método implica administrar la composición en una cantidad eficaz para prevenir o tratar la infección por HIV en el sujeto.

45 Una composición apropiada para administración a un sujeto para tratar la infección por HIV contiene tanto proteínas LukE como LukD o polipéptidos que retienen la unión al receptor y la función citotóxica de las proteínas LukE o LukD de longitud completa. Una composición apropiada para la administración a un sujeto para prevenir la infección por HIV contiene proteínas LukE y LukD o polipéptidos que retienen la funcionalidad de unión al receptor y retienen la citotoxicidad. En otra realización de la presente invención, las proteínas LukE y LukD conservan la función de unión al receptor, pero no son citotóxicas o tienen una citotoxicidad reducida.

50 De acuerdo con este aspecto de la invención, las proteínas y polipéptidos LukE y LukD apropiados incluyen los descritos *supra*. Este aspecto de la invención se basa en el descubrimiento de los solicitantes de que LukE/D se une al receptor de CCR5 de leucocitos, que media la entrada y la infectividad de las células del HIV. La unión de LukE/D a CCR5 media la citotoxicidad de LukE/D. Por lo tanto, cuando se trata un sujeto que tiene HIV, las proteínas LukE y LukD o los polipéptidos de la composición se unen al receptor CCR5 y causan la muerte celular de todas las células positivas para el HIV. Este método de tratamiento es superior a las estrategias terapéuticas actuales del HIV porque el tratamiento con LukE/D agotará selectiva y específicamente todas las células positivas para CCR5 y, por tanto, todas las células positivas para el HIV en un sujeto.

- 5 Cuando se administra la composición LukE/D usada de acuerdo con la invención para prevenir la infección por HIV en un sujeto, las proteínas o polipéptidos LukE y LukD se modifican preferiblemente para reducir la citotoxicidad como se describe *supra* y/o para mejorar la unión al receptor LukE/LukD. De acuerdo con lo anterior, la composición puede comprender una proteína o polipéptido de LukE o LukD modificado que conserva al menos una similitud de secuencia del 70% con SEQ ID NOs: 11 y 22, respectivamente. Preferiblemente, las proteínas o polipéptidos LukE y LukD de la invención conservan al menos un 80% de similitud de secuencia con SEQ ID NOs: 11 y 22, respectivamente. Más preferiblemente, las proteínas o polipéptidos LukE y LukD de la invención conservan al menos 90% de similitud de secuencia con SEQ ID NOs: 11 y 22, respectivamente. Más preferiblemente, las proteínas o polipéptidos LukE y LukD de la invención conservan al menos una similitud de secuencia del 95% con SEQ ID NOs: 11 y 22, respectivamente.
- 10 Las composiciones terapéuticas utilizadas de acuerdo con la presente invención se pueden administrar como parte de una terapia de combinación junto con otro agente anti-HIV. De acuerdo con lo anterior, la composición que comprende una proteína LukE aislada, o polipéptido de la misma, y una proteína LukD aislada, o un polipéptido de la misma pueden comprender o administrarse en combinación con uno o más agentes antivirales u otros agentes útiles en el tratamiento del HIV. Los agentes antivirales apropiados incluyen inhibidores nucleósidos de la transcriptasa inversa, inhibidores no
- 15 nucleósidos de la transcriptasa inversa e inhibidores de la proteasa. Más específicamente, agentes antivirales apropiados incluyen, sin limitación, zidovudina, lamivudina, zalcitabina, didanosina, estavudina, abacavir, adefovir dipivoxil, lobucavir, BC H-10652, emitricitabina, beta-L-FD4, DAPD, lodenosina, nevirapina, delaviridina, efavirenz, PNU-142721, AG-1549, MKC-442, (+)-calanolida A y B, saquinavir, indinavir, ritonavir, nelfinavir, lasinavir, DMP-450, BMS-2322623, ABT-378, amprenavir, hidroxiurea, ribavirina, IL-2, IL-12, pentafusida, Yissum No. 1 1607 y AG-1549.
- 20 Para los propósitos de este y otros aspectos de la invención, el "sujeto" objetivo abarca cualquier animal, preferiblemente un mamífero, más preferiblemente un ser humano. En el contexto de administrar una composición de la invención con fines de prevención de la infección por HIV en un sujeto, el sujeto diana abarca cualquier sujeto que esté en riesgo de ser infectado por el HIV. En el contexto de la administración de una composición de la invención con fines de tratar la infección por HIV en un sujeto, el sujeto diana abarca cualquier sujeto infectado con HIV.
- 25 En el contexto de composiciones terapéuticas utilizadas de acuerdo con la presente invención para tratar una infección por HIV, una cantidad terapéuticamente eficaz de LukE y LukD es aquella cantidad capaz de conseguir una reducción en los síntomas asociados con la infección, una disminución en la gravedad de al menos un síntoma, una disminución de la carga viral del sujeto, y preferiblemente una erradicación completa del virus del sujeto.
- 30 Las cantidades terapéuticamente eficaces de una composición LukE y LukD se pueden determinar de acuerdo con procedimientos estándar, que tienen en cuenta numerosos factores, incluyendo, por ejemplo, las concentraciones de estos agentes activos en la composición, el modo y la frecuencia de administración, la gravedad de la infección por HIV que se va a tratar (o prevenir) y los detalles del sujeto, como la edad, el peso y la salud general y la condición inmune. Por ejemplo, en the International Conference on Harmonization and in REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES (Mack Publishing Company 1990), se puede encontrar una orientación general. Un médico puede administrar una
- 35 composición que contiene proteínas LukE y LukD o polipéptidos, hasta que se alcance una dosificación que proporcione el efecto profiláctico o terapéutico deseado o requerido. El progreso de esta terapia se puede monitorear fácilmente mediante ensayos convencionales.
- 40 Las composiciones terapéuticas utilizadas de acuerdo con la presente invención se pueden administrar en una dosis única, o de acuerdo con un protocolo de dosificación múltiple. Por ejemplo, en un protocolo de dosificación múltiple, la composición terapéutica se puede administrar una o dos veces al día, semanal o mensualmente dependiendo del uso y la gravedad de la afección que se está tratando. Se pueden seleccionar y ajustar diferentes dosificaciones, tiempos de dosificación y cantidades relativas de la composición terapéutica por un experto en el arte. Los modos de administración de las composiciones terapéuticas utilizadas de acuerdo con la presente invención se describen *infra*.
- 45 Una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición LukE/LukD es la cantidad necesaria para obtener resultados beneficiosos o deseados. Una cantidad terapéuticamente eficaz se puede administrar en una o más administraciones, aplicaciones o dosificaciones y no se pretende que esté limitada a una formulación o ruta de administración particular.
- La composición utilizada en la presente invención se puede formular para uso farmacéutico y administrar por inyección intradérmica, parenteral, tópica, intravenosa, oral, subcutánea, intraperitoneal, intranasal, intramuscular, intraarterial, intracraneal para tratamiento profiláctico y/o terapéutico.
- 50 Cuando es deseable suministrar sistemáticamente las composiciones farmacéuticas utilizadas en la presente invención, se pueden formular para administración parenteral por inyección, por ejemplo, mediante inyección en bolo o infusión continua. Las formulaciones para inyección se pueden presentar en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, en ampollas o en envases multidosis, con un conservante adicionado. Las composiciones pueden adoptar formas tales como suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos aceitosos o acuosos, y pueden contener agentes de formulación tales como agentes de suspensión, estabilización y/o dispersión. Las soluciones o suspensiones del agente se pueden preparar en agua adecuadamente mezclado con un surfactante tal como hidroxipropilcelulosa. También se pueden preparar dispersiones en glicerol, polietilenglicoles líquidos y mezclas de los mismos en aceites. Los aceites ilustrativos son los de origen de petróleo, animal, vegetal o sintético, por ejemplo, aceite de cacahuete, aceite de soja o
- 55

aceite mineral. En general, son portadores líquidos preferidos, particularmente para soluciones inyectables, agua, solución salina, dextrosa acuosa y solución de azúcares relacionada, y glicoles, tales como propilenglicol o polietilenglicol. En condiciones normales de almacenamiento y uso, estas preparaciones contienen un conservante para prevenir el crecimiento de microorganismos.

5 Las formulaciones farmacéuticas apropiadas para uso inyectable incluyen soluciones o dispersiones acuosas estériles y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables estériles. En todos los casos, la forma debe ser estéril y debe ser fluida en la medida en que exista una facilidad de inyección. Debe ser estable bajo las condiciones de fabricación y almacenamiento y debe preservarse contra la acción contaminante de microorganismos, tales como bacterias y hongos. El portador puede ser un solvente o medio de dispersión que
10 contiene, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido), mezclas apropiadas de los mismos y aceites vegetales.

La administración intraperitoneal o intratecal de los agentes de la presente divulgación también se puede conseguir usando dispositivos de bomba de infusión tales como los descritos por Medtronic, Northridge, CA. Tales dispositivos permiten la infusión continua de compuestos deseados evitando inyecciones múltiples y múltiples manipulaciones.

15 Además de las formulaciones descritas anteriormente, las composiciones farmacéuticas también se pueden formular como una preparación de depósito. Tales formulaciones de acción prolongada se pueden formular con materiales poliméricos o hidrófobos apropiados (por ejemplo, como emulsión en un aceite aceptable) o resinas de intercambio iónico, o como derivados escasamente solubles, por ejemplo, como una sal escasamente soluble.

20 La dosis requerida de la composición que comprende LukE y LukD usada de acuerdo con la presente invención depende de la elección de la ruta de administración; la naturaleza de la formulación; la naturaleza de la enfermedad del sujeto; el tamaño, el peso, la superficie, la edad y el sexo del sujeto; otros fármacos que se administran; y el juicio del médico que lo atiende. Las dosis apropiadas están en el intervalo de 0.01-100 mg/kg. Se esperan variaciones en la dosificación necesaria en vista de la variedad de compuestos disponibles y de las diferentes eficacias de diversas rutas de administración. Las variaciones en estos niveles de dosificación se pueden ajustar usando rutinas empíricas estándar
25 para la optimización como se entiende bien en la técnica. La encapsulación del compuesto en un vehículo de administración apropiado (por ejemplo, micropartículas poliméricas o dispositivos implantables) puede aumentar la eficacia del suministro.

Ejemplos

30 Los siguientes ejemplos se proporcionan para ilustrar realizaciones de la presente invención, pero no se pretende de ningún modo limitar su alcance.

Ejemplo 1-LukE/D contribuye significativamente a la patogénesis de *S. aureus*

Para probar si LukE/D juega un papel importante en la patogénesis de la infección septicémica de *S. aureus*, se construyó un mutante Δ lukE/D en la cepa Newman de MSSA y se examinó el impacto de la delección de lukE/D en la virulencia. La supervivencia con el tiempo aumentó dramáticamente para ratones infectados con 10^7 CFU del mutante
35 Δ lukE/D en comparación con el de ratones infectados con *S. aureus* de tipo salvaje (WT). Todos los ratones infectados con *S. aureus* WT sucumbieron a la infección por 250 horas. En contraste, casi 100% de los ratones infectados con el mutante Δ lukE/D sobrevivieron hasta al menos 300 horas después de la infección, un fenotipo completamente complementado introduciendo lukE/D en la cepa mutante Δ lukE/D (Δ lukE/D::*plukE/D*; figura 1A). Además, la carga bacteriana para el riñón se redujo en 10 veces en comparación con la cepa WT o complementada (Figura 1B]. Estos resultados muestran que LukE/D es un factor crítico de virulencia para la infección sistémica de *S. aureus*. De este modo LukE/D es un nuevo objetivo atractivo para el desarrollo de nuevas terapias para contrarrestar la infección por *S. aureus*.

Ejemplo 2 LukE/D mata selectivamente las líneas celulares inmunes humanas

45 Como se describe *supra*, LukE/D contribuye a la patogénesis de la sepsis mediada por *S. aureus* e infección sistémica (Figuras 1A-1B), lo que indica que la inhibición de LukE/D podría resultar ser un medio nuevo para tratar infecciones por *S. aureus*.

Un mecanismo por el cual LukE/D podría ser bloqueada es inhibiendo la interacción de la toxina con su receptor. Como una estrategia inicial para comprender cómo LukE/D interactúa con células huésped, se incubó una serie de líneas de células inmunes humanas ("intoxicadas") con diferentes concentraciones de subunidades individuales (esto es, LukE o LukD) o una mezcla equimolar de LukE + LukD (LukE/D). Estos experimentos revelaron que LukE/D exhibe citotoxicidad
50 frente a células THP1 (monocitos humanos) y células Hut (células de tipo linfocitos T) (Figura 2A). Curiosamente, LukE/D fue citotóxica frente a las células Hut, pero no frente a células Jurkat, ambas células de tipo linfocito T comúnmente utilizadas. Este sorprendente resultado motivó la investigación de lo que hizo que las células Hut fueran sensibles a LukE/D. La intoxicación de líneas celulares de linfocitos adicionales (PM1 y H9) reveló que sólo las células Hut eran susceptibles a la toxicidad mediada por LukE/D (Figura 2B). Tras una investigación adicional, se descubrió que
55

las células Hut empleadas en los experimentos descritos anteriormente se han manipulado para sobreexpresar el receptor 5 de la quimiocina CC (CCR5), un receptor para las quimiocinas MIP-1 α , MIP-1 β y RANTES.

Ejemplo 3- Luke/D dirige y mata las células de una forma dependiente de CCR5

5 Para determinar directamente la contribución de CCR5 a la capacidad de Luke/D de dirigir y matar células huésped, CCR5 se introdujo en células Jurkat por transducción vírica del ADNc de CCR5 resultando en CCR5⁺ Jurkat. Las células Jurkat y CCR5⁺ Jurkat posteriormente fueron intoxicadas con diferentes concentraciones de subunidades individuales (esto es, Luke o LukD) o mezclas equimolares de Luke+LukD (Luke/D). Este experimento reveló que la producción de CCR5 era suficiente para hacer células Jurkat susceptibles a la toxicidad mediada por Luke/D (Figura 3, panel superior). Es importante destacar que se observaron resultados similares cuando se examinaron las células de células de osteosarcoma humana "GHOST" manipuladas para producir CCR5 en su superficie (Figura 3, panel inferior). En conjunto, estos datos indican que CCR5 hace que las células de mamífero sean susceptibles a la citotoxicidad mediada por Luke/D.

Ejemplo 4 - Se bloquea el direccionamiento mediado por Luke/D de células CCR5⁺ con agonista, anticuerpos y ligandos de CCR5

15 CCR5 es una proteína que ha sido altamente estudiada debido a su papel crítico en la infección por HIV-1. Junto con CD4, CCR5 es utilizado por el virus para para obtener acceso en las células. La importancia de CCR5 para la patogénesis del HIV en los seres humanos se resalta mejor mediante la identificación de sujetos que tienen una mutación en el gen CCR5 (esto es, $\Delta 32$ CCR5) que previenen la exposición superficial de CCR5. Los pacientes con esta mutación son altamente refractarios a la infección por el HIV. En la actualidad, una variedad de antagonistas de CCR5 (por ejemplo, miméticos de péptidos, anticuerpos, moléculas pequeñas) se están ensayando en ensayos clínicos para ser utilizados como fármacos anti-HIV, así como agentes antiinflamatorios.

25 Para determinar si el direccionamiento de CCR5 bloquea a Luke/D, se evaluó el efecto de varios antagonistas de CCR5 y ligandos sobre la capacidad de Luke/D para matar células CCR5⁺. Entre el antagonista de CCR5, se ensayaron los fármacos Selzentry/Celsentri/Maraviroc (MVC), Vicriviroc (VVC) y TAK-779 (TAK) para la inhibición de la actividad Luke/D. Las células CCR5⁺ Jurkat se preincubaron con diferentes concentraciones de los antagonistas, seguido de intoxicación con una mezcla equimolar de Luke+LukD (Luke/D). Estos experimentos indicaron que los tres antagonistas de CCR5 bloquearon potentemente la citotoxicidad mediada por Luke/D (Figura 4A). Además, el potencial de los anticuerpos monoclonales dirigidos contra CCR5 para proteger las células de la citotoxicidad de Luke/D también se evaluó siguiendo el protocolo experimental descrito para el antagonista de CCR5. Estos experimentos también revelaron que varios de los anticuerpos monoclonales probados eran efectivamente capaces de bloquear Luke/D (Figura 4B). Por último, también se evaluó el potencial efecto inhibitorio de los ligandos naturales de CCR5. Las células CCR5⁺ Jurkat se preincubaron con diferentes concentraciones de RANTES, MIP-1 β o una combinación de mezcla equimolar de RANTES+MIP-1 β seguida de intoxicación con una mezcla equimolar de Luke+LukD (Luke/D). Estos experimentos también revelaron que los ligandos CCR5 potentemente inhiben el efecto citotóxico Luke/D (Figura 4C). Colectivamente, estos hallazgos indican que la potente actividad citotóxica de Luke/D podría ser bloqueada empleando antagonistas y/o ligandos de CCR5.

Ejemplo 5- Maraviroc bloquea la unión de Luke/D con células CCR5⁺ que previenen la formación de poros de Luke/D

40 Para elucidar el mecanismo mediante el cual Luke/D utiliza CCR5 para dirigir y matar células huésped, las células Jurkat (CCR5-) y CCR5⁺ Jurkat (CCR5⁺) se incubaron con una toxina Luke/D fusionada con GFP (GFPLuke/D) y la unión de la toxina fluorescente con la membrana plasmática de las células monitorizadas por citometría de flujo. Estos experimentos revelaron que Luke/D se une a las células CCR5⁺ Jurkat, pero no a las células CCR5-Jurkat parentales (Figura 5A). Para elucidar el mecanismo por el cual Maraviroc inhibe la citotoxicidad mediada por Luke/D, las células CCR5⁺ Jurkat se pre-incubaron con Maraviroc (MVC) seguido de incubación con la toxina Luke/D marcada con GFP y se evaluó la unión de toxina con las células por citometría de flujo. Estos experimentos indicaron que Maraviroc inhibió potentemente la unión de Luke/D con células CCR5⁺ (Figura 5A).

50 Para examinar el mecanismo mediante el cual Luke/D es tóxico para las células CCR5⁺, las células se incubaron en presencia o ausencia de Maraviroc y posteriormente se intoxicaron con Luke/D en presencia de bromuro de etidio, un pequeño colorante catiónico que es normalmente impermeable para alojar las membranas celulares, pero pueden acceder a las células huésped a través de los poros de la toxina. Estos experimentos revelaron que Luke/D forma poros en la membrana plasmática de células CCR5⁺ de una manera dependiente del tiempo. Es importante destacar que Maraviroc (MVC) bloqueó potentemente la formación de poros mediada por Luke/D (Figura 5B). Además, los poros Luke/D se asociaron con hinchamiento celular, una característica de las células intoxicadas con leucotoxinas, un fenotipo completamente bloqueado por Maraviroc (MVC) (Figura 5C). En conjunto, estos hallazgos indican que Luke/D se une a las células huésped de una manera dependiente de CCR5, dando como resultado la formación de poros mediados por la toxina en la membrana plasmática de las células diana, dando lugar a la citotoxicidad mediada por Luke/D observada. Es importante destacar que el antagonista CCR5 Maraviroc, inhibe potentemente Luke/D bloqueando la interacción de Luke/D con la superficie de células CCR5+, evitando así la formación de poros y la muerte celular.

Ejemplo 6- Luke/D dirige CCR5 para matar linfocitos humanos primarios, macrófagos y células dendríticas

Si CCR5 es el receptor de Luke/D, entonces las células huésped primarias que sus superficies están decoradas con CCR5 (por ejemplo, linfocitos T, macrófagos, células asesinas naturales, células dendríticas, etc.) serán susceptibles a la muerte celular mediada por Luke/D. Para investigar esto con más detalle, se aislaron células mononucleares de sangre periférica humana (PBMC) primarias de un donante CCR5 (CCR5⁺) de tipo salvaje y un donador Δ32CCR5 (CCR5⁻) y los linfocitos T se expandieron seguido de intoxicación con Luke/D y la viabilidad de las células determinadas por citometría de flujo. Los linfocitos T humanos primarios del donante CCR5⁺ eran altamente susceptibles a Luke/D (5.4% de muerte celular en las células tratadas con medios frente a 34% en células Luke/D intoxicadas, Figura 6A, panel superior), un efecto potentemente neutralizado por Maraviroc Luke/D vs Luke/D+MVC, Figura 6A, panel superior). En contraste, los linfocitos T procedentes del donador Δ32CCR5 eran altamente refractarios a la citotoxicidad mediada por Luke/D (Figura 6A, panel inferior).

Además de los linfocitos T, se evaluó también la actividad citotóxica de Luke/D frente a macrófagos humanos primarios y células dendríticas. Los macrófagos y células dendríticas se incubaron con LukD (control negativo), se intoxicaron con una mezcla equimolar de Luke+LukD (Luke/D) o se incubaron con Maraviroc (MVC) seguido de intoxicación con una mezcla equimolar de Luke+LukD (Luke/D). Luke/D, pero no LukD mató de forma potente tanto los macrófagos (Figura 6B) como las células dendríticas (Figura 6C). Es importante destacar que el efecto citotóxico de Luke/D frente a estos fagocitos fue potentemente neutralizado por Maraviroc (Luke/D vs Luke/D+MVC, Figuras 6B y 6C). Colectivamente, estos datos indican que Luke/D se dirige y mata a los leucocitos humanos primarios que albergan CCR5 en sus superficies, y que el antagonista CCR5 Maraviroc bloquea potentemente los efectos citotóxicos de Luke/D. De este modo, el bloqueo de Luke/D con antagonista CCR5 y/o inhibidores ofrecerá una nueva opción terapéutica para prevenir y tratar la infección por *S. aureus*.

LISTADO DE SECUENCIAS

- <110> Universidad de Nueva York Torres, Victor J. Unutmaz, Derya Alonzo, Francis
- <120> LEUCOTOXINA E/D COMO UN NUEVO AGENTE ANTIINFLAMATORIO Y MICROBICIDA
- <130> 29527.1092
- <140> PCT/US12/43182
- <141> 2012-06-19
- <150> US 61/498,606
- <151> 2011-06-19
- <160> 22
- <170> PatentIn version 3.5
- <210> 1
- <211> 311
- <212> PRT
- <213> Staphylococcus aureus
- <400> 1

ES 2 609 817 T3

Met Phe Lys Lys Lys Met Leu Ala Ala Thr Leu Ser Val Gly Leu Ile
 1 5 10 15

Ala Pro Leu Ala Ser Pro Ile Gln Glu Ser Arg Ala Asn Thr Asn Ile
 20 25 30

Glu Asn Ile Gly Asp Gly Ala Glu Val Ile Lys Arg Thr Glu Asp Val
 35 40 45

Ser Ser Lys Lys Trp Gly Val Thr Gln Asn Val Gln Phe Asp Phe Val
 50 55 60

Lys Asp Lys Lys Tyr Asn Lys Asp Ala Leu Ile Val Lys Met Gln Gly
 65 70 75 80

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

Glu Leu Thr Lys Arg Met Ile Trp Pro Phe Gln Tyr Asn Ile Gly Leu
 100 105 110

Thr Thr Lys Asp Pro Asn Val Ser Leu Ile Asn Tyr Leu Pro Lys Asn
 115 120 125

Lys Ile Glu Thr Thr Asp Val Gly Gln Thr Leu Gly Tyr Asn Ile Gly
 130 135 140

ES 2 609 817 T3

Gly Asn Phe Gln Ser Ala Pro Ser Ile Gly Gly Asn Gly Ser Phe Asn
 145 150 155 160

Tyr Ser Lys Thr Ile Ser Tyr Thr Gln Lys Ser Tyr Val Ser Glu Val
 165 170 175

Asp Lys Gln Asn Ser Lys Ser Val Lys Trp Gly Val Lys Ala Asn Glu
 180 185 190

Phe Val Thr Pro Asp Gly Lys Lys Ser Ala His Asp Arg Tyr Leu Phe
 195 200 205

Val Gln Ser Pro Asn Gly Pro Thr Gly Ser Ala Arg Glu Tyr Phe Ala
 210 215 220

Pro Asp Asn Gln Leu Pro Pro Leu Val Gln Ser Gly Phe Asn Pro Ser
 225 230 235 240

Phe Ile Thr Thr Leu Ser His Glu Lys Gly Ser Ser Asp Thr Ser Glu
 245 250 255

Phe Glu Ile Ser Tyr Gly Arg Asn Leu Asp Ile Thr Tyr Ala Thr Leu
 260 265 270

Phe Pro Arg Thr Gly Ile Tyr Ala Glu Arg Lys His Asn Ala Phe Val
 275 280 285

Asn Arg Asn Phe Val Val Arg Tyr Glu Val Asn Trp Lys Thr His Glu
 290 295 300

Ile Lys Val Lys Gly His Asn
 305 310

<210> 2

<211> 311

<212> PRT

5 <213> Staphylococcus aureus

<400> 2

Met Phe Lys Lys Lys Met Leu Ala Ala Thr Leu Ser Val Gly Leu Ile
 1 5 10 15

Ala Pro Leu Ala Ser Pro Ile Gln Glu Ser Arg Ala Asn Thr Asn Ile
 20 25 30

Glu Asn Ile Gly Asp Gly Ala Glu Val Ile Lys Arg Thr Glu Asp Val
 35 40 45

ES 2 609 817 T3

Ser Ser Lys Lys Trp Gly Val Thr Gln Asn Val Gln Phe Asp Phe Val
50 55 60

Lys Asp Lys Lys Tyr Asn Lys Asp Ala Leu Ile Val Lys Met Gln Gly
65 70 75 80

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

Glu Leu Thr Lys Arg Met Ile Trp Pro Phe Gln Tyr Asn Ile Gly Leu
100 105 110

Thr Thr Lys Asp Pro Asn Val Ser Leu Ile Asn Tyr Leu Pro Lys Asn
115 120 125

Lys Ile Glu Thr Thr Asp Val Gly Gln Thr Leu Gly Tyr Asn Ile Gly
130 135 140

Gly Asn Phe Gln Ser Ala Pro Ser Ile Gly Gly Asn Gly Ser Phe Asn
145 150 155 160

Tyr Ser Lys Thr Ile Ser Tyr Thr Gln Lys Ser Tyr Val Ser Glu Val
165 170 175

Asp Lys Gln Asn Ser Lys Ser Val Lys Trp Gly Val Lys Ala Asn Glu
180 185 190

Phe Val Thr Pro Asp Gly Lys Lys Ser Ala His Asp Arg Tyr Leu Phe
195 200 205

Val Gln Ser Pro Asn Gly Pro Thr Gly Ser Ala Arg Glu Tyr Phe Ala
210 215 220

Pro Asp Asn Gln Leu Pro Pro Leu Val Gln Ser Gly Phe Asn Pro Ser
225 230 235 240

Phe Ile Thr Thr Leu Ser His Glu Lys Gly Ser Ser Asp Thr Ser Glu
245 250 255

Phe Glu Ile Ser Tyr Gly Arg Asn Leu Asp Ile Thr Tyr Ala Thr Leu
260 265 270

Phe Pro Arg Thr Gly Ile Tyr Ala Glu Arg Lys His Asn Ala Phe Val
275 280 285

Asn Arg Asn Phe Val Val Arg Tyr Glu Val Asn Trp Lys Thr His Glu
290 295 300

Ile Lys Val Lys Gly His Asn
305 310

<210> 3

<211> 311

5 <212> PRT

ES 2 609 817 T3

<213> Staphylococcus aureus

<400> 3

```

Met Phe Lys Lys Lys Met Leu Ala Ala Thr Leu Ser Val Gly Leu Ile
1                               10                               15

Ala Pro Leu Ala Ser Pro Ile Gln Glu Ser Arg Ala Asn Thr Asn Ile
                20                               25                               30

Glu Asn Ile Gly Asp Gly Ala Glu Val Ile Lys Arg Thr Glu Asp Val
                35                               40                               45

Ser Ser Lys Lys Trp Gly Val Thr Gln Asn Val Gln Phe Asp Phe Val
                50                               55                               60

Lys Asp Lys Lys Tyr Asn Lys Asp Ala Leu Ile Val Lys Met Gln Gly
65                               70                               75                               80

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

Glu Leu Thr Lys Arg Met Ile Trp Pro Phe Gln Tyr Asn Ile Gly Leu
                100                              105                              110

Thr Thr Lys Asp Pro Asn Val Ser Leu Ile Asn Tyr Leu Pro Lys Asn
                115                              120                              125

Lys Ile Glu Thr Thr Asp Val Gly Gln Thr Leu Gly Tyr Asn Ile Gly
                130                              135                              140

Gly Asn Phe Gln Ser Ala Pro Ser Ile Gly Gly Asn Gly Ser Phe Asn
145                              150                              155                              160

Tyr Ser Lys Thr Ile Ser Tyr Thr Gln Lys Ser Tyr Val Ser Glu Val
                165                              170                              175

Asp Lys Gln Asn Ser Lys Ser Val Lys Trp Gly Val Lys Ala Asn Glu
                180                              185                              190

Phe Val Thr Pro Asp Gly Lys Lys Ser Ala His Asp Arg Tyr Leu Phe
                195                              200                              205

```

ES 2 609 817 T3

Val Gln Ser Pro Asn Gly Pro Thr Gly Ser Ala Arg Glu Tyr Phe Ala
 210 215 220

Pro Asp Asn Gln Leu Pro Pro Leu Val Gln Ser Gly Phe Asn Pro Ser
 225 230 235 240

Phe Ile Thr Thr Leu Ser His Glu Lys Gly Ser Ser Asp Thr Ser Glu
 245 250 255

Phe Glu Ile Ser Tyr Gly Arg Asn Leu Asp Ile Thr Tyr Ala Thr Leu
 260 265 270

Phe Pro Arg Thr Gly Ile Tyr Ala Glu Arg Lys His Asn Ala Phe Val
 275 280 285

Asn Arg Asn Phe Val Val Arg Tyr Glu Val Asn Trp Lys Thr His Glu
 290 295 300

Ile Lys Val Lys Gly His Asn
 305 310

<210> 4

<211> 311

<212> PRT

5 <213> Staphylococcus aureus

<400> 4

Met Phe Lys Lys Lys Met Leu Ala Ala Thr Leu Ser Val Gly Leu Ile
 1 5 10 15

Ala Pro Leu Ala Ser Pro Ile Gln Glu Ser Arg Ala Asn Thr Asn Ile
 20 25 30

Glu Asn Ile Gly Asp Gly Ala Glu Val Ile Lys Arg Thr Glu Asp Val
 35 40 45

Ser Ser Lys Lys Trp Gly Val Thr Gln Asn Val Gln Phe Asp Phe Val
 50 55 60

Lys Asp Lys Lys Tyr Asn Lys Asp Ala Leu Ile Val Lys Met Gln Gly
 65 70 75 80

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

Glu Leu Thr Lys Arg Met Ile Trp Pro Phe Gln Tyr Asn Ile Gly Leu
 100 105 110

ES 2 609 817 T3

Thr Thr Lys Asp Pro Asn Val Ser Leu Ile Asn Tyr Leu Pro Lys Asn
 115 120 125

Lys Ile Glu Thr Thr Asp Val Gly Gln Thr Leu Gly Tyr Asn Ile Gly
 130 135 140

Gly Asn Phe Gln Ser Ala Pro Ser Ile Gly Gly Asn Gly Ser Phe Asn
 145 150 155 160

Tyr Ser Lys Thr Ile Ser Tyr Thr Gln Lys Ser Tyr Val Ser Glu Val
 165 170 175

Asp Lys Gln Asn Ser Lys Ser Val Lys Trp Gly Val Lys Ala Asn Glu
 180 185 190

Phe Val Thr Pro Asp Gly Lys Lys Ser Ala His Asp Arg Tyr Leu Phe
 195 200 205

Val Gln Ser Pro Asn Gly Pro Thr Gly Ser Ala Arg Glu Tyr Phe Ala
 210 215 220

Pro Asp Asn Gln Leu Pro Pro Leu Val Gln Ser Gly Phe Asn Pro Ser
 225 230 235 240

Phe Ile Thr Thr Leu Ser His Glu Lys Gly Ser Ser Asp Thr Ser Glu
 245 250 255

Phe Glu Ile Ser Tyr Gly Arg Asn Leu Asp Ile Thr Tyr Ala Thr Leu
 260 265 270

Phe Pro Arg Thr Gly Ile Tyr Ala Glu Arg Lys His Asn Ala Phe Val
 275 280 285

Asn Arg Asn Phe Val Val Arg Tyr Glu Val Asn Trp Lys Thr His Glu
 290 295 300

Ile Lys Val Lys Gly His Asn
 305 310

<210> 5

<211> 311

<212> PRT

5 <213> Staphylococcus aureus

<400> 5

Met Phe Lys Lys Lys Met Leu Ala Ala Thr Leu Ser Val Gly Leu Ile
 1 5 10 15

ES 2 609 817 T3

Ala Pro Leu Ala Ser Pro Ile Gln Glu Ser Arg Ala Asn Thr Asn Ile
 20 25 30

Glu Asn Ile Gly Asp Gly Ala Glu Val Ile Lys Arg Thr Glu Asp Val
 35 40 45

Ser Ser Lys Lys Trp Gly Val Thr Gln Asn Val Gln Phe Asp Phe Val
 50 55 60

Lys Asp Lys Lys Tyr Asn Lys Asp Ala Leu Ile Val Lys Met Gln Gly
 65 70 75 80

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

Glu Leu Thr Lys Arg Met Ile Trp Pro Phe Gln Tyr Asn Ile Gly Leu
 100 105 110

Thr Thr Lys Asp Pro Asn Val Ser Leu Ile Asn Tyr Leu Pro Lys Asn
 115 120 125

Lys Ile Glu Thr Thr Asp Val Gly Gln Thr Leu Gly Tyr Asn Ile Gly
 130 135 140

Gly Asn Phe Gln Ser Ala Pro Ser Ile Gly Gly Asn Gly Ser Phe Asn
 145 150 155 160

Tyr Ser Lys Thr Ile Ser Tyr Thr Gln Lys Ser Tyr Val Ser Glu Val
 165 170 175

Asp Lys Gln Asn Ser Lys Ser Val Lys Trp Gly Val Lys Ala Asn Glu
 180 185 190

Phe Val Thr Pro Asp Gly Lys Lys Ser Ala His Asp Arg Tyr Leu Phe
 195 200 205

Val Gln Ser Pro Asn Gly Pro Thr Gly Ser Ala Arg Glu Tyr Phe Ala
 210 215 220

Pro Asp Asn Gln Leu Pro Pro Leu Val Gln Ser Gly Phe Asn Pro Ser
 225 230 235 240

Phe Ile Thr Thr Leu Ser His Glu Lys Gly Ser Ser Asp Thr Ser Glu
 245 250 255

Phe Glu Ile Ser Tyr Gly Arg Asn Leu Asp Ile Thr Tyr Ala Thr Leu

ES 2 609 817 T3

```

                260                265                270
Phe Pro Arg Thr Gly Ile Tyr Ala Glu Arg Lys His Asn Ala Phe Val
      275                280                285
Asn Arg Asn Phe Val Val Arg Tyr Glu Val Asn Trp Lys Thr His Glu
      290                295                300
Ile Lys Val Lys Gly His Asn
      305                310

```

<210> 6

<211> 311

<212> PRT

5 <213> Staphylococcus aureus

<400> 6

```

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

```


ES 2 609 817 T3

165 170 175
 Asp Lys Gln Asn Ser Lys Ser Val Lys Trp Gly Val Lys Ala Asn Glu
 180 185 190
 Phe Val Thr Pro Asp Gly Lys Lys Ser Ala His Asp Arg Tyr Leu Phe
 195 200 205
 Val Gln Ser Pro Asn Gly Pro Thr Gly Ser Ala Arg Glu Tyr Phe Ala
 210 215 220
 Pro Asp Asn Gln Leu Pro Pro Leu Val Gln Ser Gly Phe Asn Pro Ser
 225 230 235 240
 Phe Ile Thr Thr Leu Ser His Glu Lys Gly Ser Ser Asp Thr Ser Glu
 245 250 255
 Phe Glu Ile Ser Tyr Gly Arg Asn Leu Asp Ile Thr Tyr Ala Thr Leu
 260 265 270
 Phe Pro Arg Thr Gly Ile Tyr Ala Glu Arg Lys His Asn Ala Phe Val
 275 280 285
 Asn Arg Asn Phe Val Val Arg Tyr Glu Val Asn Trp Lys Thr His Glu
 290 295 300
 Ile Lys Val Lys Gly His Asn
 305 310

<210> 7

<211> 311

<212> PRT

5 <213> Staphylococcus aureus

<400> 7

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

ES 2 609 817 T3

<400> 8

Met Phe Lys Lys Lys Met Leu Ala Ala Thr Leu Ser Val Gly Leu Ile
 1 5 10 15

Ala Pro Leu Ala Ser Pro Ile Gln Glu Ser Arg Ala Asn Thr Asn Ile
 20 25 30

Glu Asn Ile Gly Asp Gly Ala Glu Val Ile Lys Arg Thr Glu Asp Val
 35 40 45

Ser Ser Lys Lys Trp Gly Val Thr Gln Asn Val Gln Phe Asp Phe Val
 50 55 60

Lys Asp Lys Lys Tyr Asn Lys Asp Ala Leu Ile Val Lys Met Gln Gly
 65 70 75 80

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

Glu Leu Thr Lys Arg Met Ile Trp Pro Phe Gln Tyr Asn Ile Gly Leu
 100 105 110

Thr Thr Lys Asp Pro Asn Val Ser Leu Ile Asn Tyr Leu Pro Lys Asn
 115 120 125

Lys Ile Glu Thr Thr Asp Val Gly Gln Thr Leu Gly Tyr Asn Ile Gly
 130 135 140

Gly Asn Phe Gln Ser Ala Pro Ser Ile Gly Gly Asn Gly Ser Phe Asn
 145 150 155 160

Tyr Ser Lys Thr Ile Ser Tyr Thr Gln Lys Ser Tyr Val Ser Glu Val
 165 170 175

Asp Lys Gln Asn Ser Lys Ser Val Lys Trp Gly Val Lys Ala Asn Glu
 180 185 190

Phe Val Thr Pro Asp Gly Lys Lys Ser Ala His Asp Arg Tyr Leu Phe
 195 200 205

Val Gln Ser Pro Asn Gly Pro Thr Gly Ser Ala Arg Glu Tyr Phe Ala
 210 215 220

ES 2 609 817 T3

Pro Asp Asn Gln Leu Pro Pro Leu Val Gln Ser Gly Phe Asn Pro Ser
 225 230 235 240

Phe Ile Thr Thr Leu Ser His Glu Lys Gly Ser Ser Asp Thr Ser Glu
 245 250 255

Phe Glu Ile Ser Tyr Gly Arg Asn Leu Asp Ile Thr Tyr Ala Thr Leu
 260 265 270

Phe Pro Arg Thr Gly Ile Tyr Ala Glu Arg Lys His Asn Ala Phe Val
 275 280 285

Asn Arg Asn Phe Val Val Arg Tyr Glu Val Asn Trp Lys Thr His Glu
 290 295 300

Ile Lys Val Lys Gly His Asn
 305 310

<210> 9

<211> 311

<212> PRT

5 <213> Staphylococcus aureus

<400> 9

Met Phe Lys Lys Lys Met Leu Ala Ala Thr Leu Ser Val Gly Leu Ile
 1 5 10 15

Ala Pro Leu Ala Ser Pro Ile Gln Glu Ser Arg Ala Asn Thr Asn Ile
 20 25 30

Glu Asn Ile Gly Asp Gly Ala Glu Val Ile Lys Arg Thr Glu Asp Val
 35 40 45

Ser Ser Lys Lys Trp Gly Val Thr Gln Asn Val Gln Phe Asp Phe Val
 50 55 60

Lys Asp Lys Lys Tyr Asn Lys Asp Ala Leu Ile Val Lys Met Gln Gly
 65 70 75 80

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

Glu Leu Thr Lys Arg Met Ile Trp Pro Phe Gln Tyr Asn Ile Gly Leu
 100 105 110

Thr Thr Lys Asp Pro Asn Val Ser Leu Ile Asn Tyr Leu Pro Lys Asn
 115 120 125

ES 2 609 817 T3

Lys Ile Glu Thr Thr Asp Val Gly Gln Thr Leu Gly Tyr Asn Ile Gly
 130 135 140

Gly Asn Phe Gln Ser Ala Pro Ser Ile Gly Gly Asn Gly Ser Phe Asn
 145 150 155 160

Tyr Ser Lys Thr Ile Ser Tyr Thr Gln Lys Ser Tyr Val Ser Glu Val
 165 170 175

Asp Lys Gln Asn Ser Lys Ser Val Lys Trp Gly Val Lys Ala Asn Glu
 180 185 190

Phe Val Thr Pro Asp Gly Lys Lys Ser Ala His Asp Arg Tyr Leu Phe
 195 200 205

Val Gln Ser Pro Asn Gly Pro Thr Gly Ser Ala Arg Glu Tyr Phe Ala
 210 215 220

Pro Asp Asn Gln Leu Pro Pro Leu Val Gln Ser Gly Phe Asn Pro Ser
 225 230 235 240

Phe Ile Thr Thr Leu Ser His Glu Lys Gly Ser Ser Asp Thr Ser Glu
 245 250 255

Phe Glu Ile Ser Tyr Gly Arg Asn Leu Asp Ile Thr Tyr Ala Thr Leu
 260 265 270

Phe Pro Arg Thr Gly Ile Tyr Ala Glu Arg Lys His Asn Ala Phe Val
 275 280 285

Asn Arg Asn Phe Val Val Arg Tyr Glu Val Asn Trp Lys Thr His Glu
 290 295 300

Ile Lys Val Lys Gly His Asn
 305 310

<210> 10

<211> 311

<212> PRT

5 <213> Staphylococcus aureus

<400> 10

Met Phe Lys Lys Lys Met Leu Ala Ala Thr Leu Ser Val Gly Leu Ile
 1 5 10 15

Ala Pro Leu Ala Ser Pro Ile Gln Glu Ser Arg Ala Asn Thr Asn Ile
 20 25 30

ES 2 609 817 T3

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

ES 2 609 817 T3

<211> 311

<212> PRT

<213> Staphylococcus aureus

<400> 11

```

Met Phe Lys Lys Lys Met Leu Ala Ala Thr Leu Ser Val Gly Leu Ile
1           5           10           15

Ala Pro Leu Ala Ser Pro Ile Gln Glu Ser Arg Ala Asn Thr Asn Ile
          20           25           30

Glu Asn Ile Gly Asp Gly Ala Glu Val Ile Lys Arg Thr Glu Asp Val
          35           40           45

Ser Ser Lys Lys Trp Gly Val Thr Gln Asn Val Gln Phe Asp Phe Val
50           55           60

Lys Asp Lys Lys Tyr Asn Lys Asp Ala Leu Ile Val Lys Met Gln Gly
65           70           75           80

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

Glu Leu Thr Lys Arg Met Ile Trp Pro Phe Gln Tyr Asn Ile Gly Leu
          100          105          110

Thr Thr Lys Asp Pro Asn Val Ser Leu Ile Asn Tyr Leu Pro Lys Asn
115          120

Lys Ile Glu Thr Thr Asp Val Gly Gln Thr Leu Gly Tyr Asn Ile Gly
130          135          140

Gly Asn Phe Gln Ser Ala Pro Ser Ile Gly Gly Asn Gly Ser Phe Asn
145          150          155          160

Tyr Ser Lys Thr Ile Ser Tyr Thr Gln Lys Ser Tyr Val Ser Glu Val
          165          170          175

Asp Lys Gln Asn Ser Lys Ser Val Lys Trp Gly Val Lys Ala Asn Glu
          180          185          190

```

5

ES 2 609 817 T3

Phe Val Thr Pro Asp Gly Lys Lys Ser Ala His Asp Arg Tyr Leu Phe
 195 200 205

Val Gln Ser Pro Asn Gly Pro Thr Gly Ser Ala Arg Glu Tyr Phe Ala
 210 215 220

Pro Asp Asn Gln Leu Pro Pro Leu Val Gln Ser Gly Phe Asn Pro Ser
 225 230 235 240

Phe Ile Thr Thr Leu Ser His Glu Lys Gly Ser Ser Asp Thr Ser Glu
 245 250 255

Phe Glu Ile Ser Tyr Gly Arg Asn Leu Asp Ile Thr Tyr Ala Thr Leu
 260 265 270

Phe Pro Arg Thr Gly Ile Tyr Ala Glu Arg Lys His Asn Ala Phe Val
 275 280 285

Asn Arg Asn Phe Val Val Arg Tyr Glu Val Asn Trp Lys Thr His Glu
 290 295 300

Ile Lys Val Lys Gly His Asn
 305 310

<210> 12

<211> 327

<212> PRT

5 <213> Staphylococcus aureus

<400> 12

Met Lys Met Lys Lys Leu Val Lys Ser Ser Val Ala Ser Ser Ile Ala
 1 5 10 15

Leu Leu Leu Leu Ser Asn Thr Val Asp Ala Ala Gln His Ile Thr Pro
 20 25 30

Val Ser Glu Lys Lys Val Asp Asp Lys Ile Thr Leu Tyr Lys Thr Thr
 35 40 45

Ala Thr Ser Asp Asn Asp Lys Leu Asn Ile Ser Gln Ile Leu Thr Phe
 50 55 60

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

Ala Ala Gly Asn Ile Asn Ser Gly Tyr Lys Lys Pro Asn Pro Lys Asp
 85 90 95

ES 2 609 817 T3

Tyr Asn Tyr Ser Gln Phe Tyr Trp Gly Gly Lys Tyr Asn Val Ser Val
 100 105 110
 Ser Ser Glu Ser Asn Asp Ala Val Asn Val Val Asp Tyr Ala Pro Lys
 115 120 125
 Asn Gln Asn Glu Glu Phe Gln Val Gln Gln Thr Leu Gly Tyr Ser Tyr
 130 135 140
 Gly Gly Asp Ile Asn Ile Ser Asn Gly Leu Ser Gly Gly Leu Asn Gly
 145 150 155 160
 Ser Lys Ser Phe Ser Glu Thr Ile Asn Tyr Lys Gln Glu Ser Tyr Arg
 165 170 175
 Thr Thr Ile Asp Arg Lys Thr Asn His Lys Ser Ile Gly Trp Gly Val
 180 185 190
 Glu Ala His Lys Ile Met Asn Asn Gly Trp Gly Pro Tyr Gly Arg Asp
 195 200 205
 Ser Tyr Asp Pro Thr Tyr Gly Asn Glu Leu Phe Leu Gly Gly Arg Gln
 210 215 220
 Ser Ser Ser Asn Ala Gly Gln Asn Phe Leu Pro Thr His Gln Met Pro
 225 230 235 240
 Leu Leu Ala Arg Gly Asn Phe Asn Pro Glu Phe Ile Ser Val Leu Ser
 245 250 255
 His Lys Gln Asn Asp Thr Lys Lys Ser Lys Ile Lys Val Thr Tyr Gln
 260 265 270
 Arg Glu Met Asp Arg Tyr Thr Asn Gln Trp Asn Arg Leu His Trp Val
 275 280 285
 Gly Asn Asn Tyr Lys Asn Gln Asn Thr Val Thr Phe Thr Ser Thr Tyr
 290 295 300
 Glu Val Asp Trp Gln Asn His Thr Val Lys Leu Ile Gly Thr Asp Ser
 305 310 315 320
 Lys Glu Thr Asn Pro Gly Val
 325

<210> 13

<211> 327

<212> PRT

5 <213> Staphylococcus aureus

<400> 13

ES 2 609 817 T3

Met Lys Met Lys Lys Leu Val Lys Ser Ser Val Ala Ser Ser Ile Ala
 1 5 10 15

Leu Leu Leu Leu Ser Asn Thr Val Asp Ala Ala Gln His Ile Thr Pro
 20 25 30

Val Ser Glu Lys Lys Val Asp Asp Lys Ile Thr Leu Tyr Lys Thr Thr
 35 40 45

Ala Thr Ser Asp Asn Asp Lys Leu Asn Ile Ser Gln Ile Leu Thr Phe
 50 55 60

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

Ala Ala Gly Asn Ile Asn Ser Gly Tyr Lys Lys Pro Asn Pro Lys Asp
 85 90 95

Tyr Asn Tyr Ser Gln Phe Tyr Trp Gly Gly Lys Tyr Asn Val Ser Val
 100 105 110

Ser Ser Glu Ser Asn Asp Ala Val Asn Val Val Asp Tyr Ala Pro Lys
 115 120 125

Asn Gln Asn Glu Glu Phe Gln Val Gln Gln Thr Leu Gly Tyr Ser Tyr
 130 135 140

Gly Gly Asp Ile Asn Ile Ser Asn Gly Leu Ser Gly Gly Leu Asn Gly
 145 150 155 160

Ser Lys Ser Phe Ser Glu Thr Ile Asn Tyr Lys Gln Glu Ser Tyr Arg
 165 170 175

Thr Thr Ile Asp Arg Lys Thr Asn His Lys Ser Ile Gly Trp Gly Val
 180 185 190

Glu Ala His Lys Ile Met Asn Asn Gly Trp Gly Pro Tyr Gly Arg Asp
 195 200 205

Ser Tyr Asp Pro Thr Tyr Gly Asn Glu Leu Phe Leu Gly Gly Arg Gln
 210 215 220

Ser Ser Ser Asn Ala Gly Gln Asn Phe Leu Pro Thr His Gln Met Pro
 225 230 235 240

ES 2 609 817 T3

Leu Leu Ala Arg Gly Asn Phe Asn Pro Glu Phe Ile Ser Val Leu Ser
 245 250 255

His Lys Gln Asn Asp Thr Lys Lys Ser Lys Ile Lys Val Thr Tyr Gln
 260 265 270

Arg Glu Met Asp Arg Tyr Thr Asn Gln Trp Asn Arg Leu His Trp Val
 275 280 285

Gly Asn Asn Tyr Lys Asn Gln Asn Thr Val Thr Phe Thr Ser Thr Tyr
 290 295 300

Glu Val Asp Trp Gln Asn His Thr Val Lys Leu Ile Gly Thr Asp Ser
 305 310 315 320

Lys Glu Thr Asn Pro Gly Val
 325

<210> 14

<211> 327

<212> PRT

5 <213> Staphylococcus aureus

<400> 14

Met Lys Met Lys Lys Leu Val Lys Ser Ser Val Ala Ser Ser Ile Ala
 1 5 10 15

Leu Leu Leu Leu Ser Asn Thr Val Asp Ala Ala Gln His Ile Thr Pro
 20 25 30

Val Ser Glu Lys Lys Val Asp Asp Lys Ile Thr Leu Tyr Lys Thr Thr
 35 40 45

Ala Thr Ser Asp Asn Asp Lys Leu Asn Ile Ser Gln Ile Leu Thr Phe
 50 55 60

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

Ala Ala Gly Asn Ile Asn Ser Gly Tyr Lys Lys Pro Asn Pro Lys Asp
 85 90 95

Tyr Asn Tyr Ser Gln Phe Tyr Trp Gly Gly Lys Tyr Asn Val Ser Val
 100 105 110

Ser Ser Glu Ser Asn Asp Ala Val Asn Val Val Asp Tyr Ala Pro Lys
 115 120 125

ES 2 609 817 T3

Asn Gln Asn Glu Glu Phe Gln Val Gln Gln Thr Leu Gly Tyr Ser Tyr
 130 135 140

Gly Gly Asp Ile Asn Ile Ser Asn Gly Leu Ser Gly Gly Leu Asn Gly
 145 150 155 160

Ser Lys Ser Phe Ser Glu Thr Ile Asn Tyr Lys Gln Glu Ser Tyr Arg
 165 170 175

Thr Thr Ile Asp Arg Lys Thr Asn His Lys Ser Ile Gly Trp Gly Val
 180 185 190

Glu Ala His Lys Ile Met Asn Asn Gly Trp Gly Pro Tyr Gly Arg Asp
 195 200 205

Ser Tyr Asp Pro Thr Tyr Gly Asn Glu Leu Phe Leu Gly Gly Arg Gln
 210 215 220

Ser Ser Ser Asn Ala Gly Gln Asn Phe Leu Pro Thr His Gln Met Pro
 225 230 235 240

Leu Leu Ala Arg Gly Asn Phe Asn Pro Glu Phe Ile Ser Val Leu Ser
 245 250 255

His Lys Gln Asn Asp Thr Lys Lys Ser Lys Ile Lys Val Thr Tyr Gln
 260 265 270

Arg Glu Met Asp Arg Tyr Thr Asn Gln Trp Asn Arg Leu His Trp Val
 275 280 285

Gly Asn Asn Tyr Lys Asn Gln Asn Thr Val Thr Phe Thr Ser Thr Tyr
 290 295 300

Glu Val Asp Trp Gln Asn His Thr Val Lys Leu Ile Gly Thr Asp Ser
 305 310 315 320

Lys Glu Thr Asn Pro Gly Val
 325

<210> 15

<211> 327

<212> PRT

5 <213> Staphylococcus aureus

<400> 15

Met Lys Met Lys Lys Leu Val Lys Ser Ser Val Ala Ser Ser Ile Ala
 1 5 10 15

ES 2 609 817 T3

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

ES 2 609 817 T3

260 265 270

Arg Glu Met Asp Arg Tyr Thr Asn Gln Trp Asn Arg Leu His Trp Val
 275 280 285

Gly Asn Asn Tyr Lys Asn Gln Asn Thr Val Thr Phe Thr Ser Thr Tyr
 290 295 300

Glu Val Asp Trp Gln Asn His Thr Val Lys Leu Ile Gly Thr Asp Ser
 305 310 315 320

Lys Glu Thr Asn Pro Gly Val
 325

<210> 16

<211> 327

<212> PRT

5 <213> Staphylococcus aureus

<400> 16

Met Lys Met Lys Lys Leu Val Lys Ser Ser Val Ala Ser Ser Ile Ala
 1 5 10 15

Leu Leu Leu Leu Ser Asn Thr Val Asp Ala Ala Gln His Ile Thr Pro
 20 25 30

Val Ser Glu Lys Lys Val Asp Asp Lys Ile Thr Leu Tyr Lys Thr Thr
 35 40 45

Ala Thr Ser Asp Asn Asp Lys Leu Asn Ile Ser Gln Ile Leu Thr Phe
 50 55 60

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

Ala Ala Gly Asn Ile Asn Ser Gly Tyr Lys Lys Pro Asn Pro Lys Asp
 85 90 95

Tyr Asn Tyr Ser Gln Phe Tyr Trp Gly Gly Lys Tyr Asn Val Ser Val
 100 105 110

Ser Ser Glu Ser Asn Asp Ala Val Asn Val Val Asp Tyr Ala Pro Lys
 115 120 125

Asn Gln Asn Glu Glu Phe Gln Val Gln Gln Thr Leu Gly Tyr Ser Tyr
 130 135 140

Gly Gly Asp Ile Asn Ile Ser Asn Gly Leu Ser Gly Gly Leu Asn Gly

ES 2 609 817 T3

```

145                150                155                160

Ser Lys Ser Phe Ser Glu Thr Ile Asn Tyr Lys Gln Glu Ser Tyr Arg
          165                170                175

Thr Thr Ile Asp Arg Lys Thr Asn His Lys Ser Ile Gly Trp Gly Val
          180                185                190

Glu Ala His Lys Ile Met Asn Asn Gly Trp Gly Pro Tyr Gly Arg Asp
          195                200                205

Ser Tyr Asp Pro Thr Tyr Gly Asn Glu Leu Phe Leu Gly Gly Arg Gln
          210                215                220

Ser Ser Ser Asn Ala Gly Gln Asn Phe Leu Pro Thr His Gln Met Pro
          225                230                235

Leu Leu Ala Arg Gly Asn Phe Asn Pro Glu Phe Ile Ser Val Leu Ser
          245                250                255

His Lys Gln Asn Asp Thr Lys Lys Ser Lys Ile Lys Val Thr Tyr Gln
          260                265                270

Arg Glu Met Asp Arg Tyr Thr Asn Gln Trp Asn Arg Leu His Trp Val
          275                280                285

Gly Asn Asn Tyr Lys Asn Gln Asn Thr Val Thr Phe Thr Ser Thr Tyr
          290                295                300

Glu Val Asp Trp Gln Asn His Thr Val Lys Leu Ile Gly Thr Asp Ser
          305                310                315                320

Lys Glu Thr Asn Pro Gly Val
          325

```

<210> 17

<211> 327

<212> PRT

5 <213> Staphylococcus aureus

<400> 17

```

Met Lys Met Lys Lys Leu Val Lys Ser Ser Val Ala Ser Ser Ile Ala
1          5          10          15

Leu Leu Leu Leu Ser Asn Thr Val Asp Ala Ala Gln His Ile Thr Pro
          20          25          30

Val Ser Glu Lys Lys Val Asp Asp Lys Ile Thr Leu Tyr Lys Thr Thr

```


ES 2 609 817 T3

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

ES 2 609 817 T3

Gly Asn Asn Tyr Lys Asn Gln Asn Thr Val Thr Phe Thr Ser Thr Tyr
 290 295 300

Glu Val Asp Trp Gln Asn His Thr Val Lys Leu Ile Gly Thr Asp Ser
 305 310 315 320

Lys Glu Thr Asn Pro Gly Val
 325

<210> 18

<211> 327

<212> PRT

5 <213> Staphylococcus aureus

<400> 18

Met Lys Met Lys Lys Leu Val Lys Ser Ser Val Ala Ser Ser Ile Ala
 1 5 10 15

Leu Leu Leu Leu Ser Asn Thr Val Asp Ala Ala Gln His Ile Thr Pro
 20 25 30

Val Ser Glu Lys Lys Val Asp Asp Lys Ile Thr Leu Tyr Lys Thr Thr
 35 40 45

Ala Thr Ser Asp Asn Asp Lys Leu Asn Ile Ser Gln Ile Leu Thr Phe
 50 55 60

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

Ala Ala Gly Asn Ile Asn Ser Gly Tyr Lys Lys Pro Asn Pro Lys Asp
 85 90 95

Tyr Asn Tyr Ser Gln Phe Tyr Trp Gly Gly Lys Tyr Asn Val Ser Val
 100 105 110

Ser Ser Glu Ser Asn Asp Ala Val Asn Val Val Asp Tyr Ala Pro Lys
 115 120 125

Asn Gln Asn Glu Glu Phe Gln Val Gln Gln Thr Leu Gly Tyr Ser Tyr
 130 135 140

Gly Gly Asp Ile Asn Ile Ser Asn Gly Leu Ser Gly Gly Leu Asn Gly
 145 150 155 160

Ser Lys Ser Phe Ser Glu Thr Ile Asn Tyr Lys Gln Glu Ser Tyr Arg
 165 170 175

ES 2 609 817 T3

Thr Thr Ile Asp Arg Lys Thr Asn His Lys Ser Ile Gly Trp Gly Val
 180 185 190

Glu Ala His Lys Ile Met Asn Asn Gly Trp Gly Pro Tyr Gly Arg Asp
 195 200 205

Ser Tyr Asp Pro Thr Tyr Gly Asn Glu Leu Phe Leu Gly Gly Arg Gln
 210 215 220

Ser Ser Ser Asn Ala Gly Gln Asn Phe Leu Pro Thr His Gln Met Pro
 225 230 235 240

Leu Leu Ala Arg Gly Asn Phe Asn Pro Glu Phe Ile Ser Val Leu Ser
 245 250 255

His Lys Gln Asn Asp Thr Lys Lys Ser Lys Ile Lys Val Thr Tyr Gln
 260 265 270

Arg Glu Met Asp Arg Tyr Thr Asn Gln Trp Asn Arg Leu His Trp Val
 275 280 285

Gly Asn Asn Tyr Lys Asn Gln Asn Thr Val Thr Phe Thr Ser Thr Tyr
 290 295 300

Glu Val Asp Trp Gln Asn His Thr Val Lys Leu Ile Gly Thr Asp Ser
 305 310 315 320

Lys Glu Thr Asn Pro Gly Val
 325

<210> 19

<211> 327

<212> PRT

5 <213> Staphylococcus aureus

<400> 19

Met Lys Met Lys Lys Leu Val Lys Ser Ser Val Ala Ser Ser Ile Ala
 1 5 10 15

Leu Leu Leu Leu Ser Asn Thr Val Asp Ala Ala Gln His Ile Thr Pro
 20 25 30

Val Ser Glu Lys Lys Val Asp Asp Lys Ile Thr Leu Tyr Lys Thr Thr
 35 40 45

Ala Thr Ser Asp Asn Asp Lys Leu Asn Ile Ser Gln Ile Leu Thr Phe
 50 55 60

ES 2 609 817 T3

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

Ala Ala Gly Asn Ile Asn Ser Gly Tyr Lys Lys Pro Asn Pro Lys Asp
85 90 95

Tyr Asn Tyr Ser Gln Phe Tyr Trp Gly Gly Lys Tyr Asn Val Ser Val
100 105 110

Ser Ser Glu Ser Asn Asp Ala Val Asn Val Val Asp Tyr Ala Pro Lys
115 120 125

Asn Gln Asn Glu Glu Phe Gln Val Gln Gln Thr Leu Gly Tyr Ser Tyr
130 135 140

Gly Gly Asp Ile Asn Ile Ser Asn Gly Leu Ser Gly Gly Leu Asn Gly
145 150 155 160

Ser Lys Ser Phe Ser Glu Thr Ile Asn Tyr Lys Gln Glu Ser Tyr Arg
165 170 175

Thr Thr Ile Asp Arg Lys Thr Asn His Lys Ser Ile Gly Trp Gly Val
180 185 190

Glu Ala His Lys Ile Met Asn Asn Gly Trp Gly Pro Tyr Gly Arg Asp
195 200 205

Ser Tyr Asp Pro Thr Tyr Gly Asn Glu Leu Phe Leu Gly Gly Arg Gln
210 215 220

Ser Ser Ser Asn Ala Gly Gln Asn Phe Leu Pro Thr His Gln Met Pro
225 230 235 240

Leu Leu Ala Arg Gly Asn Phe Asn Pro Glu Phe Ile Ser Val Leu Ser
245 250 255

His Lys Gln Asn Asp Thr Lys Lys Ser Lys Ile Lys Val Thr Tyr Gln
260 265 270

Arg Glu Met Asp Arg Tyr Thr Asn Gln Trp Asn Arg Leu His Trp Val
275 280 285

Gly Asn Asn Tyr Lys Asn Gln Asn Thr Val Thr Phe Thr Ser Thr Tyr
290 295 300

Glu Val Asp Trp Gln Asn His Thr Val Lys Leu Ile Gly Thr Asp Ser
305 310 315 320

Lys Glu Thr Asn Pro Gly Val
325

<210> 20

<211> 327

ES 2 609 817 T3

<212> PRT

<213> Staphylococcus aureus

<400> 20

```

Met Lys Met Lys Lys Leu Val Lys Ser Ser Val Ala Ser Ser Ile Ala
 1          5          10          15

Leu Leu Leu Leu Ser Asn Thr Val Asp Ala Ala Gln His Ile Thr Pro
 20          25          30

Val Ser Glu Lys Lys Val Asp Asp Lys Ile Thr Leu Tyr Lys Thr Thr
 35          40          45

Ala Thr Ser Asp Asn Asp Lys Leu Asn Ile Ser Gln Ile Leu Thr Phe
 50          55          60

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

Ala Ala Gly Asn Ile Asn Ser Gly Tyr Lys Lys Pro Asn Pro Lys Asp
 85          90          95

Tyr Asn Tyr Ser Gln Phe Tyr Trp Gly Gly Lys Tyr Asn Val Ser Val
 100         105         110

Ser Ser Glu Ser Asn Asp Ala Val Asn Val Val Asp Tyr Ala Pro Lys
 115         120         125

Asn Gln Asn Glu Glu Phe Gln Val Gln Gln Thr Leu Gly Tyr Ser Tyr
 130         135         140

Gly Gly Asp Ile Asn Ile Ser Asn Gly Leu Ser Gly Gly Leu Asn Gly
 145         150         155         160

Ser Lys Ser Phe Ser Glu Thr Ile Asn Tyr Lys Gln Glu Ser Tyr Arg
 165         170         175

Thr Thr Ile Asp Arg Lys Thr Asn His Lys Ser Ile Gly Trp Gly Val
 180         185         190

Glu Ala His Lys Ile Met Asn Asn Gly Trp Gly Pro Tyr Gly Arg Asp
 195         200         205

```

ES 2 609 817 T3

Ser Tyr Asp Pro Thr Tyr Gly Asn Glu Leu Phe Leu Gly Gly Arg Gln
 210 215 220

Ser Ser Ser Asn Ala Gly Gln Asn Phe Leu Pro Thr His Gln Met Pro
 225 230 235 240

Leu Leu Ala Arg Gly Asn Phe Asn Pro Glu Phe Ile Ser Val Leu Ser
 245 250 255

His Lys Gln Asn Asp Thr Lys Lys Ser Lys Ile Lys Val Thr Tyr Gln
 260 265 270

Arg Glu Met Asp Arg Tyr Thr Asn Gln Trp Asn Arg Leu His Trp Ile
 275 280 285

Gly Asn Asn Tyr Lys Asn Gln Asn Thr Val Thr Phe Thr Ser Thr Tyr
 290 295 300

Glu Val Asp Trp Gln Asn His Thr Val Lys Leu Ile Gly Thr Asp Ser
 305 310 315 320

Lys Glu Thr Asn Pro Gly Val
 325

<210> 21

<211> 327

<212> PRT

5 <213> Staphylococcus aureus

<400> 21

Met Lys Met Lys Lys Leu Val Lys Ser Ser Val Ala Ser Ser Ile Ala
 1 5 10 15

Leu Leu Leu Leu Ser Asn Thr Val Asp Ala Ala Gln His Ile Thr Pro
 20 25 30

Val Ser Glu Lys Lys Val Asp Asp Lys Ile Thr Leu Tyr Lys Thr Thr
 35 40 45

Ala Thr Ser Asp Asn Asp Lys Leu Asn Ile Ser Gln Ile Leu Thr Phe
 50 55 60

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

Ala Ala Gly Asn Ile Asn Ser Gly Tyr Lys Lys Pro Asn Pro Lys Asp
 85 90 95

ES 2 609 817 T3

Tyr Asn Tyr Ser Gln Phe Tyr Trp Gly Gly Lys Tyr Asn Val Ser Val
 100 105 110
 Ser Ser Glu Ser Asn Asp Ala Val Asn Val Val Asp Tyr Ala Pro Lys
 115 120 125
 Asn Gln Asn Glu Glu Phe Gln Val Gln Gln Thr Leu Gly Tyr Ser Tyr
 130 135 140
 Gly Gly Asp Ile Asn Ile Ser Asn Gly Leu Ser Gly Gly Leu Asn Gly
 145 150 155 160
 Ser Lys Ser Phe Ser Glu Thr Ile Asn Tyr Lys Gln Glu Ser Tyr Arg
 165 170 175
 Thr Thr Ile Asp Arg Lys Thr Asn His Lys Ser Ile Gly Trp Gly Val
 180 185 190
 Glu Ala His Lys Ile Met Asn Asn Gly Trp Gly Pro Tyr Gly Arg Asp
 195 200 205
 Ser Tyr Asp Pro Thr Tyr Gly Asn Glu Leu Phe Leu Gly Gly Arg Gln
 210 215 220
 Ser Ser Ser Asn Ala Gly Gln Asn Phe Leu Pro Thr His Gln Met Pro
 225 230 235 240
 Leu Leu Ala Arg Gly Asn Phe Asn Pro Glu Phe Ile Ser Val Leu Ser
 245 250 255
 His Lys Gln Asn Asp Thr Lys Lys Ser Lys Ile Lys Val Thr Tyr Gln
 260 265 270
 Arg Glu Met Asp Arg Tyr Thr Asn Gln Trp Asn Arg Leu His Trp Ile
 275 280 285
 Gly Asn Asn Tyr Lys Asn Gln Asn Thr Val Thr Phe Thr Ser Thr Tyr
 290 295 300
 Glu Val Asp Trp Gln Asn His Thr Val Lys Leu Ile Gly Thr Asp Ser
 305 310 315 320
 Lys Glu Thr Asn Pro Gly Val
 325

<210> 22

<211> 327

<212> PRT

5 <213> Staphylococcus aureus

<220>

ES 2 609 817 T3

<221> misc_feature

<222> (288)..(288)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

<400> 22

```

Met Lys Met Lys Lys Leu Val Lys Ser Ser Val Ala Ser Ser Ile Ala
 1          5          10          15

Leu Leu Leu Leu Ser Asn Thr Val Asp Ala Ala Gln His Ile Thr Pro
 20          25          30

Val Ser Glu Lys Lys Val Asp Asp Lys Ile Thr Leu Tyr Lys Thr Thr
 35          40          45

Ala Thr Ser Asp Asn Asp Lys Leu Asn Ile Ser Gln Ile Leu Thr Phe
 50          55          60

Asn Phe Ile Lys Asp Lys Ser Tyr Asp Lys Asp Thr Leu Val Leu Lys
 65          70          75

Ala Ala Gly Asn Ile Asn Ser Gly Tyr Lys Lys Pro Asn Pro Lys Asp
 85          90          95

Tyr Asn Tyr Ser Gln Phe Tyr Trp Gly Gly Lys Tyr Asn Val Ser Val
 100         105         110

Ser Ser Glu Ser Asn Asp Ala Val Asn Val Val Asp Tyr Ala Pro Lys
 115         120         125

Asn Gln Asn Glu Glu Phe Gln Val Gln Gln Thr Leu Gly Tyr Ser Tyr
 130         135         140

Gly Gly Asp Ile Asn Ile Ser Asn Gly Leu Ser Gly Gly Leu Asn Gly
 145         150         155

Ser Lys Ser Phe Ser Glu Thr Ile Asn Tyr Lys Gln Glu Ser Tyr Arg
 165         170         175

Thr Thr Ile Asp Arg Lys Thr Asn His Lys Ser Ile Gly Trp Gly Val
 180         185         190

Glu Ala His Lys Ile Met Asn Asn Gly Trp Gly Pro Tyr Gly Arg Asp
 195         200         205

```


ES 2 609 817 T3

Ser Tyr Asp Pro Thr Tyr Gly Asn Glu Leu Phe Leu Gly Gly Arg Gln
 210 215 220

Ser Ser Ser Asn Ala Gly Gln Asn Phe Leu Pro Thr His Gln Met Pro
 225 230 235 240

Leu Leu Ala Arg Gly Asn Phe Asn Pro Glu Phe Ile Ser Val Leu Ser
 245 250 255

His Lys Gln Asn Asp Thr Lys Lys Ser Lys Ile Lys Val Thr Tyr Gln
 260 265 270

Arg Glu Met Asp Arg Tyr Thr Asn Gln Trp Asn Arg Leu His Trp Xaa
 275 280 285

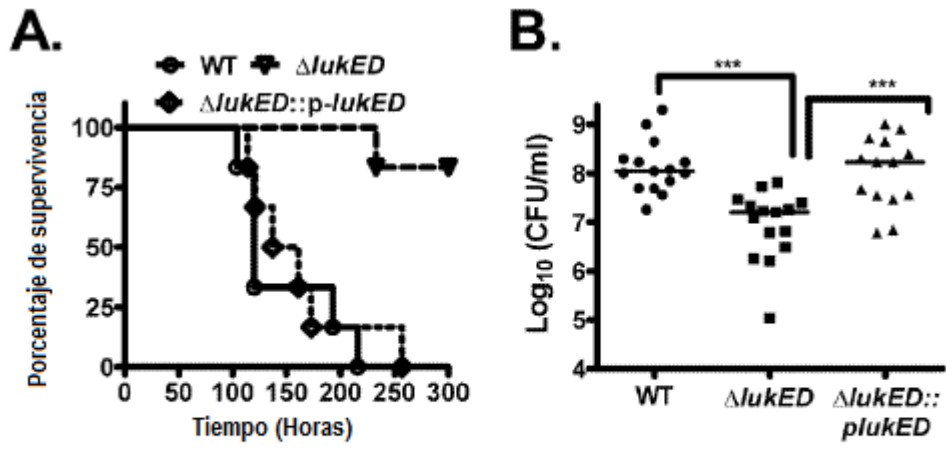
Gly Asn Asn Tyr Lys Asn Gln Asn Thr Val Thr Phe Thr Ser Thr Tyr
 290 295 300

Glu Val Asp Trp Gln Asn His Thr Val Lys Leu Ile Gly Thr Asp Ser
 305 310 315 320

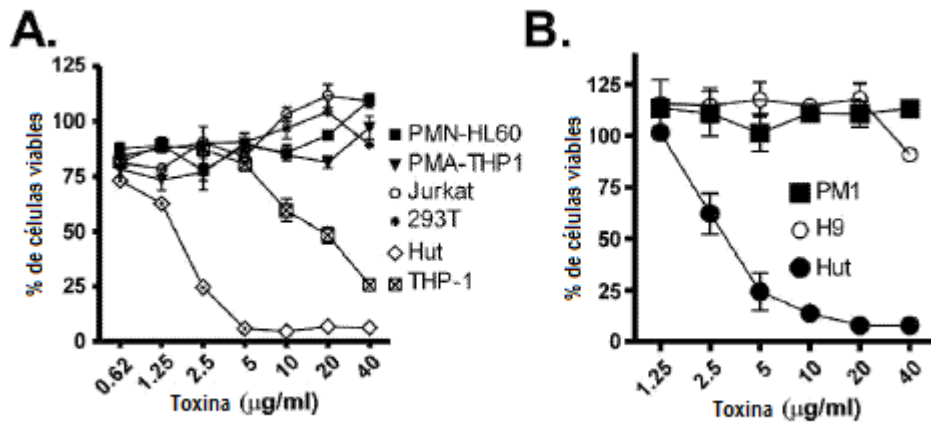
Lys Glu Thr Asn Pro Gly Val
 325

Reivindicaciones.

1. Una composición que comprende una proteína Leucocidina E (LukE) aislada, o un polipéptido de la misma, y una proteína Leucocidina D (LukD) aislada, o polipéptido de la misma, para uso en un método de prevención o tratamiento de la infección por virus de inmunodeficiencia humana (HIV) en un sujeto, comprendiendo el método:
5 administrar la composición en una cantidad eficaz para prevenir o tratar la infección por HIV en el sujeto.
2. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la composición comprende una proteína LukE aislada que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:11 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70% de similitud de secuencia con SEQ ID NO:11.
3. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la composición comprende un polipéptido de LukE aislado que comprende los residuos de aminoácidos 48-291 de SEQ ID NO:11.
10
4. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la composición comprende una proteína LukD aislada que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70% de similitud de secuencia con SEQ ID NO: 22.
5. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la composición comprende un polipéptido de LukD aislado que comprende los residuos de aminoácidos 46-307 de SEQ ID NO: 22.
15
6. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el método comprende, además:
administrar uno o más agentes antivirales u otros agentes útiles en el tratamiento del HIV en combinación con la composición que comprende una proteína LukE aislada o un polipéptido de la misma y una proteína LukD aislada o polipéptido de la misma.
7. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 6, en donde el agente antiviral se selecciona del grupo que consiste en un inhibidor nucleósido de la transcriptasa inversa, un inhibidor no nucleósido de la transcriptasa inversa y un inhibidor de la proteasa.
20
8. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 6, en donde el agente antiviral se selecciona del grupo que consiste en zidovudina, lamivudina, zalcitabina, didanosina, estavudina, abacavir, adefovir dipivoxil, lobucavir, BC H-10652, emitricitabina, beta-L-FD4, DAPD, lodenosina, nevirapina, delaviridina, efavirenz, PNU-142721, AG-1549, MKC-442, (+)-calanolida A y B, saquinavir, indinavir, ritonavir, nelfinavir, lasinavir, DMP-450, BMS-2322623 , ABT-378, amprenavir, hidroxiurea, ribavirina, IL-2, IL-12, pentafusida, Yissum No. 1 1607 y AG-1549.
25



FIGURAS 1A-1B



FIGURAS 2A-2B

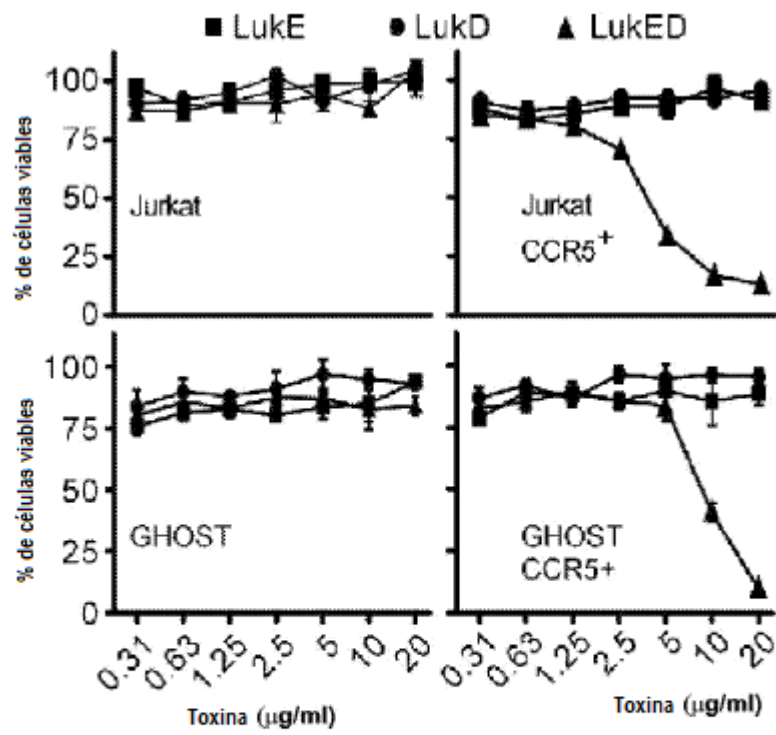
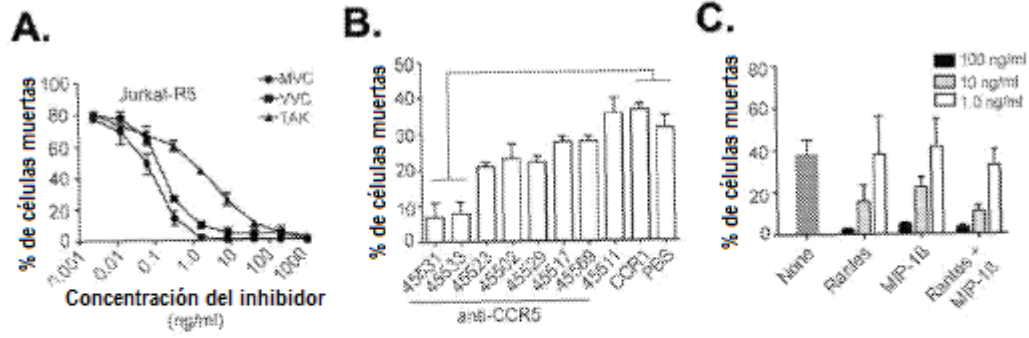
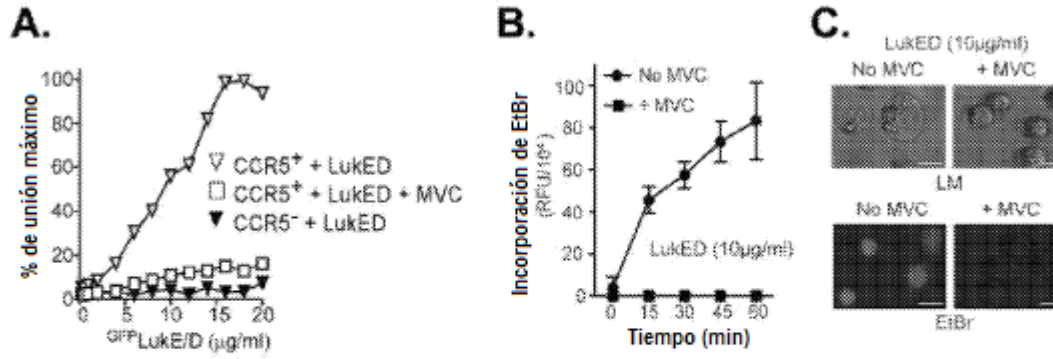


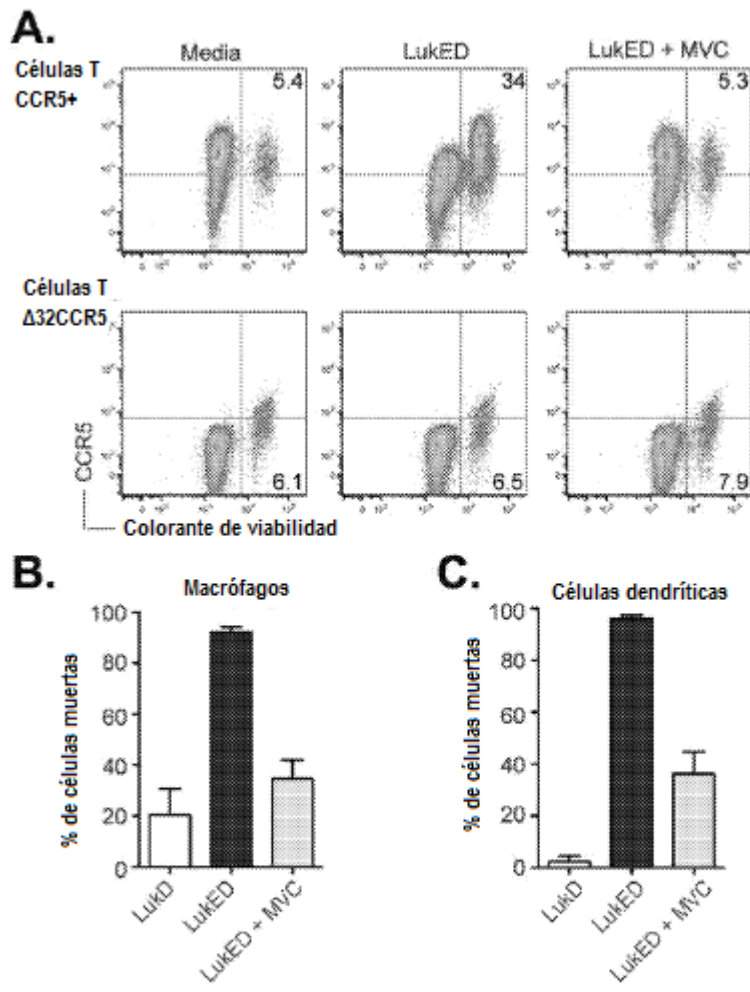
FIGURA 3



FIGURAS 4A-4C



FIGURAS 5A-5C



FIGURAS 6A-6C