

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 642 892**

51 Int. Cl.:

A61K 39/085 (2006.01)

A61K 39/02 (2006.01)

A61P 31/12 (2006.01)

A61P 31/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.03.2013 PCT/US2013/029053**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.09.2013 WO13134225**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.03.2013 E 13757330 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.09.2017 EP 2822582**

54 Título: **Protección de vacuna multivalente contra la infección por estafilococo aureus**

30 Prioridad:

05.03.2012 US 201261606750 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
20.11.2017

73 Titular/es:

**UNIVERSITY OF MARYLAND, BALTIMORE
(100.0%)
620 West Lexington Street, 4th Floor
Baltimore, MD 21201, US**

72 Inventor/es:

**SHIRTLIFF, MARK;
HARRO, JANETTE y
LEID, JEFFREY**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 642 892 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

Protección de vacuna multivalente contra la infección por estafilococo aureus

5 Esta invención se realizó con el apoyo del gobierno bajo el número de concesión AI069568 otorgado por the National Institutes of Health. El gobierno tiene ciertos derechos en la invención.

Antecedentes

10 Campo de la invención

La presente invención se refiere a formulaciones de vacunas multivalentes eficaces contra *Staphylococcus aureus*, que incluyen tanto tipos de biopelícula como planctónicos de infecciones bacterianas, y a usos de las formulaciones en el tratamiento y prevención de infecciones por *S. aureus* en sujetos.

15 Técnica relacionada

20 Uno de los problemas más comunes y costosos para el sistema de atención de salud de los Estados Unidos es las infecciones nosocomiales (26), siendo *S. aureus* la segunda causa principal de tales infecciones (4). El *S. aureus* resistente a la meticilina (MRSA) es responsable del 40-60% de todas las infecciones por *S. aureus* adquiridas nosocomialmente, y actualmente estas cepas resistentes se consideran endémicas en el hospital (36). Las cepas de *S. aureus* asociadas a la comunidad también pueden adquirir resistencia a la meticilina (CA-MRSA) y la aparición moderna de tales cepas es motivo de gran preocupación (24, 31, 64).

25 Estudios recientes indican que *S. aureus* es también el principal mediador de la infección por implante protésico (1, 54). El aumento de la participación de *S. aureus* en infecciones relacionadas con cuerpos extraños, el rápido desarrollo de resistencia a múltiples antibióticos por estos organismos, y la propensión de estas infecciones a cambiar de una infección aguda a una que es persistente, crónica y recurrente han llevado a este organismo una vez más recibir una atención significativa.

30 El tratamiento de las infecciones de implantes protésicos es un proceso complicado, y varios mecanismos de defensa estafilocócica pueden ser responsables de esta dificultad, así como la capacidad de *S. aureus* para evadir la eliminación por la respuesta inmune del huésped. Uno de los mecanismos más importantes usados por *S. aureus* para frustrar la respuesta inmune del huésped y convertirse en una infección persistente es a través de la formación de una biopelícula altamente desarrollada. Una biopelícula se define como una comunidad derivada de microbios en la que las células bacterianas se unen a una superficie hidratada y se incrustan en una matriz de polisacárido (13).

35 Las bacterias en una biopelícula exhiben un fenotipo alterado en su crecimiento, expresión génica, y producción de proteínas (17), y los dispositivos médicos protésicos son a menudo un sitio de infección crónica, porque presentan un sustrato apropiado para la adhesión bacteriana, la colonización y la formación de biopelícula. La formación de biopelícula por *S. aureus* durante la infección por el implante protésico hace que la erradicación de esta bacteria sea extremadamente difícil, debido en parte a la resistencia dramáticamente aumentada de las bacterias en una biopelícula a las defensas del huésped (21) y a los antibióticos (46, 51) comparado con sus contrapartes planctónicas

45 Estudios de vacunas anteriores han evaluado la eficacia de polisacáridos bacterianos, por ejemplo, las cápsulas de polisacáridos, el exopolisacárido y el peptidoglicano (10, 20, 38, 41), así como las vacunas de subunidad de proteína recombinante (2, 8, 9, 27, 29, 30, 33, 57, 65) contra la infección por *S. aureus*, pero ninguno ha demostrado una erradicación completa de *S. aureus* en modelos experimentales de animales (2, 8, 9, 27, 29, 30, 33, 57, 65) o ha superado los rigores de las pruebas clínicas de fase III (56, 59). La mayoría de las vacunas evaluadas hasta la fecha no tienen en cuenta la redundancia biológica de los factores de virulencia de *S. aureus*, la expresión diferencial de proteínas durante diferentes modos de crecimiento (crecimiento exponencial frente a estacionario) o el tipo de infección (planctónico frente a biopelícula), y la falta de conservación de antígenos entre los aislamientos clínicos relevantes. De hecho, una vacuna polisacárida (StaphVAX) desarrollada usando el polisacárido capsular 5 (CP5) de *S. aureus* y el polisacárido capsular 8 (CP8) conjugado con el exotoxide A de *Pseudomonas aeruginosa* no proporcionó protección en ensayos clínicos de fase III contra la bacteriemia mediada por *S. aureus* en dos cohortes diferentes de 1804 y 3600 pacientes en hemodiálisis (59). Los factores que contribuyen a este fracaso son la existencia de cepas no encapsuladas (las cepas CP5 y CP8 representan el 75-80% de los aislados) (12) y la expresión diferencial extrapolada a partir de datos in vitro indicando que la expresión del polisacárido capsular se limita al modo estacionario de crecimiento y la ausencia de expresión de CP5 en *S. aureus* unida a células endoteliales (48). Por lo tanto, la eficacia de la vacuna StaphVAX se limitaría a infecciones de tipo planctónico e ineficaz para dirigir la respuesta humoral a una biopelícula de *S. aureus*.

65 De forma similar a los hallazgos con la vacuna CP5/CP8 (20), las vacunas de subunidades desarrolladas contra el factor de aglutinación A (ClfA) (2, 27), el factor de aglutinación B (ClfB) (57), la proteína de unión a la fibronectina (FnBP) (65), α -Hemolisina (9, 29), leucocidina de Pantón-Valentine (PVL) (8), y el determinante B de la superficie

regulado con hierro (IsdB) (30, 33) median la protección parcial en modelos animales experimentales. Estas vacunas de subunidad no proporcionaron protección completa, a pesar de que las proteínas candidatas eran altamente inmunogénicas in vivo (25, 33, 57) y los anticuerpos resultantes promovían la muerte opsónica de *S. aureus*. (65).

5 Una deficiencia de estos enfoques se basa en una vacuna monovalente para promover la protección contra el patógeno. *S. aureus*. tiene casi 70 factores de virulencia y la redundancia funcional entre estos factores puede anular el efecto de neutralizar un factor. Se puede argumentar que *S. aureus* expresa múltiples sistemas de adquisición de hierro: los sideróforos estafiloferrina A y B transportan transferrina a los receptores HtsA y SirA (14, 43), un transportador ABC Fhu importa hidroxamatos de Fe³⁺ (58), y determinante de la superficie regulada por el
10 hierro (receptores IsdB e IsdH que se unen a los complejos hemoglobina/haptoglobina (18, 62), por lo tanto, la eficacia global de los anticuerpos anti-IsdB que bloquean la unión de la hemoglobina mediada por IsdB puede ser sólo un efecto modesto sobre la absorción de hierro y la patogenicidad del organismo (30). La validez de este argumento se ejemplifica por el cese de los ensayos clínicos de fase III de la vacuna IsdB de Merck (V710) que no proporcionaron protección completa (16), a pesar de la inmunogenicidad prometedor y los datos de muerte
15 opsónica de los ensayos de fase II (25, 52).

La eficacia de una vacuna monovalente también puede verse comprometida por la expresión diferencial de la proteína diana durante el curso de la infección. Mientras que *S. aureus* inicia la colonización uniendo los ligandos extracelulares del huésped usando sus proteínas de adhesión denominadas componentes de superficie microbiana que reconocen las moléculas de la matriz adhesiva (MSCRAMM), incluyendo la proteína de unión a la fibronectina (FnBP), estos factores tienen inhibida la expresión en su mayor parte ya que las bacterias sésiles se encapsulan en una matriz de polisacárido extracelular, o biopelícula (44, 55). De este modo, las vacunas diseñadas para dirigir un
20 MSCRAMM serán ineficaces al eliminar después de la transición de las bacterias al fenotipo de la biopelícula. La evaluación de la vacuna MSCRAMM FnBP demostró que proporcionaba protección parcial contra *S. aureus* en un modelo murino de sepsis, pero el estudio no pudo enumerar bacterias en la sangre y/o riñones para verificar la eliminación bacteriana. Es posible que *S. aureus* pueda subvertir la respuesta humoral a la FnBP, formar una biopelícula sésil e inhibir la expresión la FnBP, y convertirse en completamente recalcitrante en la respuesta del huésped.

30 Una estrategia de vacunación que evita la protección incompleta de las vacunas monovalentes causada por la redundancia de proteínas, la expresión diferencial de proteínas, o la divergencia genética aislada específica es la generación de un asalto multifactorial usando una vacuna de subunidad multivalente. Stranger-Jones et al. demostró una vacuna cuadrivalente compuesta de proteínas expuestas a la superficie: determinante de superficie regulado por hierro A (IsdA), IsdB, y proteína de repetición de serina aspartato D (SdrD) y SdrE aumentaron las tasas de supervivencia frente al desafío letal mediado por *S. aureus* en comparación con la protección proporcionada por cada variante monovalente (61). Aunque los autores acentuaron las tasas de supervivencia después del desafío letal, omitieron la enumeración de *S. aureus* en los riñones y las tasas de supervivencia más allá de 7 días después de la infección a partir del análisis de datos. Estas omisiones impiden llegar a una conclusión sobre la capacidad de la vacuna para promover la eliminación bacteriana completa y prevenir complicaciones futuras debidas a la
40 persistencia de *S. aureus* mediante la formación de biopelícula. En general, la vacuna multivalente tenía una eficacia limitada, proporcionando protección completa contra sólo dos de los cinco aislamientos clínicos de *S. aureus* probados (61). Además, el análisis comparativo de múltiples genomas de *S. aureus* encontró una falta de conservación entre algunas proteínas de superficie, incluyendo SdrD y SdrE (39), lo que indica que la eficacia limitada de la formulación de vacuna IsdA/IsdB/SdrD/SdrE se puede extender más allá de los aislados clínicos
45 probados por Stranger-Jones.

Los estudios de vacunas se han centrado predominantemente en la protección contra la infección mediada por plancton, examinando sepsis (20, 27, 33, 38, 41, 61, 65) o neumonía (9), mientras que pocos estudios han evaluado incidentalmente la protección mediada por candidatos populares de vacunas contra la infección por biopelícula con endocarditis experimental (2), piel (8, 22, 29), o modelos de absceso (20, 61). Como una desviación de las estrategias previas de la vacuna contra *S. aureus*, Brady et al. se centró en la identificación de proteínas expresadas en la biopelícula que son inmunogénicas (4) y estableció que una vacuna multivalente basada en biopelícula cuando se combina con el tratamiento con vancomicina podría erradicar una infección por biopelícula, que tradicionalmente es recalcitrante para eliminar por ya sea tratamiento con antibiótico o respuesta inmune (5). Los intentos previos de
55 focalizar el fenotipo de la biopelícula, sobre todo contra la adhesión intercelular estafilocócica (PIA) compuesta de poli-N-acetil-β-1,6-glucosamina (PNAG) (38, 40, 41), fueron dirigidos hacia la matriz de biopelícula que encapsula las bacterias frente a las proteínas asociadas a la pared celular. La vacuna de PNAG de polisacárido provocó una respuesta que redujo los recuentos bacterianos (40), pero los polisacáridos tienden a ser inmunógenos débiles e inducen anticuerpos con actividad de muerte opsónica baja. Además, las moléculas de PNAG tienden a estar ligeramente asociadas con la superficie bacteriana y la forma acetilada de PNAG se libera en suspensión (11). Los esfuerzos para mejorar la eficacia de la vacuna de PNAG han evaluado la forma desacetilada de PNAG (dPNAG), que puede ser retenida en la superficie celular, conjugada con un toxoide diftérico o un 9-mer sintético de β- (1 → 6)-D-glucosamina (GlcNH₂) conjugado con el toxoide tetánico, pero se observó protección parcial contra múltiples cepas de *S. aureus* a pesar de una inmunogenicidad mejorada (22, 38). La PIA es generada por enzimas
60 codificadas en el locus icaABDC (28), pero la presencia del locus icaABDC no se correlaciona directamente con la formación de biopelículas in vitro (32) y el locus icaABDC en *S. aureus* era dispensable en un subconjunto de

infecciones asociadas a prótesis ortopédicas in vivo y asociadas a catéter, que se identifican como infecciones mediadas por biopelícula (53). Aunque la eficacia de la vacuna de PNAG contra las biopelículas de *S. aureus* requiere una evaluación adicional, la dispensabilidad del locus icaABDC en algunas cepas de *S. aureus* aisladas de infecciones clínicas sugiere que la vacuna de PNAG proporcionaría una protección limitada contra las infecciones por biopelícula de *S. aureus*.

Otra consideración para el desarrollo de vacunas es el tipo de respuesta provocada por el sistema inmune del huésped y la capacidad del patógeno para subvertir mediadores inmunes usando factores de evitación inmune, que pueden tener resultados variados dependiendo del entorno del huésped. La respuesta inmune inducida in vitro contra *S. aureus* o sus factores de virulencia, específicamente enterotoxina estafilocócica A o B y la toxina alfa, es una respuesta Th1 proinflamatoria (3, 7, 15, 42). De hecho, la comparación de los resultados de la bacteremia de *S. aureus* en ratones con diferentes antecedentes genéticos encontró que los ratones C57BL/6J sesgados por Th1 eran resistentes y los ratones BALB/c sesgados por Th2 eran susceptibles a esta forma aguda de infección por *S. aureus* (63). Por el contrario, se obtuvo una respuesta de Th-1 robusta contra una infección por implante de *S. aureus* en ratones C57BL/6J, pero los ratones fueron susceptibles y desarrollaron una infección crónica con 10^7 CFU/tibia a los 49 días después de la infección (45). La biopelícula de *S. aureus* parece ser recalcitrante a la respuesta proinflamatoria, que daña el tejido del huésped en el sitio de la infección generando sitios desvitalizados para que *S. aureus* colonice. La evaluación posterior encontró que los ratones BALB/c sesgados por Th-2 eran resistentes a la infección por implante de *S. aureus*, y la ablación de interleucina-4 o el agotamiento de células Treg derogó la protección contra *S. aureus* en ratones BALB/c (46). La resistencia mediada por Th2 a infección bacteriana también se reveló para infecciones subcutáneas con *S. aureus*, donde se observaron cargas bacterianas mayores en ratones C57BL/6J frente a ratones BALB/c (45). El aumento de la expresión de CXCL-2 en los ratones C57BL/6J se correlacionó con la susceptibilidad a la infección subcutánea (45), y puede detener la actividad de muerte de los neutrófilos polimorfonucleares (PMN) después de la afluencia y la internalización de *S. aureus* (23). Esta respuesta inmunitaria diferencial contra *S. aureus*, que se observó con infecciones crónicas (implante o subcutánea) frente a aguda (sepsis), indica que la elección de la cepa del ratón puede afectar el resultado de los estudios de la vacuna.

La mayoría de los estudios de vacunas han examinado la protección contra *S. aureus* usando modelos experimentales desarrollados en ratones BALB/c (2, 8, 33, 61, 65), mientras que pocos estudios han evaluado la eficacia de la vacuna en ratones C57BL/6J (9, 29). El énfasis en los modelos experimentales de BALB/c para evaluar las vacunas de *S. aureus* puede aportar información sobre la eficacia contra las infecciones agudas o planctónicas, pero estos modelos serán evaluadores deficientes de infecciones crónicas de biopelícula y no representan el sesgo de respuesta inmune en humanos.

Formulaciones de vacunas adicionales adicionarían al arsenal de medios usados para tratar y/o prevenir infecciones por *S. aureus*.

Resumen

El *Staphylococcus aureus* ha resurgido como un patógeno humano principal y actualmente no existen vacunas que proporcionen una protección consistente y a largo plazo contra las infecciones por *S. aureus*. Mientras que las infecciones, en particular aquellas con MRSA, son a menudo de origen nosocomial, las infecciones adquiridas en la comunidad asociadas con esta especie microbiana han alcanzado niveles epidémicos. Una de las maneras en que *S. aureus* es capaz de persistir en el huésped y permanecer recalcitrante a la eliminación por el sistema inmune o agentes antimicrobianos es a través de un modo de biopelícula de crecimiento. Por lo tanto, se necesita una vacuna eficaz y/o modalidad de tratamiento que pueda prevenir el establecimiento de infecciones crónicas mediadas por biopelículas por *S. aureus*.

La presente invención demuestra protección contra la infección por *S. aureus* asociada a la biopelícula mediante el uso de una vacuna de múltiples componentes, sola o en combinación con la posterior terapia de agentes antimicrobianos. La protección completa se demostró en un modelo de implante de la tibia murino usando una vacuna pentavalente específica de biopelícula y planctónica, con una eliminación del 100% de *S. aureus*.

Las formulaciones de vacuna de la presente invención son prometedoras para aquellos con factores de riesgo identificados para la infección por biopelícula de *S. aureus*. Incluso en los pacientes que adquieren una infección por *S. aureus*, una vacuna antibiopelícula podría permitir que estas infecciones previamente no tratables sean detenidas o curadas sin necesidad de intervención quirúrgica. La presente invención proporciona, de este modo, nuevos medios para limitar y erradicar las infecciones por biopelícula de *S. aureus* que podrían ayudar a prevenir la aparición de enfermedad crónica, salvando a los pacientes de morbilidad y mortalidad significativas.

Las realizaciones de la presente invención son como se definen en las reivindicaciones. En particular, la presente invención se refiere a una formulación de vacuna que comprende:

(a) cinco polipéptidos de *Staphylococcus aureus*, o partes de los mismos, o variantes de los mismos, o combinaciones de los mismos, en los que los polipéptidos de *S. aureus* son (i) el polipéptido de *S. aureus* SA0037 expuesto en SEQ ID NO: 13, (ii) el polipéptido de *S. aureus* SA0119 expuesto en SEQ ID NO: 14, (iii) el polipéptido

de *S. aureus* SA0486 expuesto en SEQ ID NO: 15, (iv) el polipéptido de *S. aureus* SA0688 expuesto en SEQ ID NO: 16, y (v) la glucosaminidasa de *S. aureus* expuesta en SEQ ID NO: 17, y

(b) un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable;

en el que la variante tiene al menos 95% de identidad de secuencia a lo largo de toda la longitud de los polipéptidos o partes de los mismos,

en la que la parte es al menos 95% del tamaño del polipéptido de longitud completa, y en el que la formulación de vacuna es apropiada para tratar o inhibir una infección por *S. aureus* de biopelícula y planctónica.

La presente invención se refiere también a una formulación de vacuna definida anteriormente para uso en un método de generación de una respuesta inmune en un sujeto o para su uso en un método para inhibir una infección por *S. aureus* en un sujeto en riesgo de desarrollar una infección por *S. aureus* o para su uso en un método de tratamiento de una infección por *S. aureus* en un sujeto que tiene una infección por *S. aureus*.

La presente invención está dirigida a las siguientes realizaciones adicionales de formulaciones de vacuna.

Se describe en este documento una formulación de vacuna que comprende cinco polipéptidos diferentes de una cepa de *S. aureus* (un primer, segundo, tercer, cuarto y quinto polipéptidos de una cepa de *S. aureus*), o partes de los mismos, o variantes de los mismos, o combinaciones de los mismos, y un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable. La cepa de *S. aureus* puede ser una cepa resistente a metilicina o sensible a metilicina de *S. aureus*.

En las formulaciones de la presente invención, uno de los polipéptidos de *S. aureus* es un polipéptido expresado por una forma planctónica de las bacterias y cuatro de los polipéptidos de *S. aureus* son polipéptidos expresados por una forma de biopelícula de las bacterias.

El primero, el segundo, el tercero, el cuarto y el quinto polipéptidos son el polipéptido de *S. aureus* SA0037 expuesto en la SEQ ID NO: 13, el polipéptido de *S. aureus* SA0119 expuesto en SEQ ID NO: 14, el polipéptido de *S. aureus* SA0486 expuesto en SEQ ID NO: 15, el polipéptido de *S. aureus* SA0688 expuesto en SEQ ID NO: 16, y la glucosaminidasa de *S. aureus* expuesta en SEQ ID NO: 17.

En aspectos adicionales, las formulaciones de vacuna comprenden una o más partes de uno o más de los polipéptidos *S. aureus* definidos anteriormente. En el mismo o en otros aspectos, las formulaciones de vacuna comprenden una o más variantes de uno o más de los polipéptidos de *S. aureus* o partes de los mismos, en las que las variantes tienen individualmente al menos aproximadamente 95% de identidad con un polipéptido de *S. aureus* o una parte del mismo.

En un aspecto particular, la presente invención está dirigida a una formulación de vacuna que comprende cinco polipéptidos de longitud completa, diferentes de una cepa de *S. aureus*, en la que los cinco polipéptidos son el polipéptido de *S. aureus* SA0037 expuesto en la SEQ ID NO: 13, el polipéptido de *S. aureus* SA0119 expuesto en SEQ ID NO: 14, el polipéptido de *S. aureus* SA0486 expuesto en SEQ ID NO: 15, el polipéptido de *S. aureus* SA0688 expuesto en SEQ ID NO: 16 y glucosaminidasa de *S. aureus*. expuesta en la SEQ ID NO: 17.

La presente invención se refiere también a las siguientes realizaciones de usos de las formulaciones de vacuna de la invención. De este modo, en una segunda realización, la presente invención se refiere a usos en la generación de una respuesta inmune en un sujeto que comprende administrar una cantidad inmunológicamente eficaz de una formulación de vacuna de la presente invención a un sujeto, generando así una respuesta inmune en un sujeto. En un aspecto, la respuesta inmune es una respuesta inmune protectora.

En una tercera realización, la presente invención se refiere a usos para tratar una infección por *S. aureus* en un sujeto, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de una formulación de vacuna de la presente invención a un sujeto que tiene una infección por *S. aureus*, tratando así una infección por *S. aureus* en un sujeto.

En una cuarta realización la presente invención se refiere a usos para inhibir una infección por *S. aureus* en un sujeto, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de una formulación de vacuna de la presente invención a un sujeto en riesgo de desarrollar una infección por *S. aureus*, inhibiendo así una infección por *S. aureus* en un sujeto.

En realizaciones relacionadas, los usos para tratar o inhibir una infección por *S. aureus* pueden comprender además administrar uno o más agentes antimicrobianos a un sujeto que tiene una infección por *S. aureus* o en riesgo de desarrollar una infección por *S. aureus*, en el que el agente antimicrobiano se administra antes, simultáneamente con o después de la formulación de vacuna. En estas realizaciones, el agente o agentes antimicrobianos se pueden seleccionar del grupo que incluye, pero no se limita a, un aminoglucósido, tal como ampicacina, gentamicina,

canamicina, neomicina, netilmicina, estreptomycin, tobramicina o paraomomicina; un carbacefem, tal como loracarbef; un carbapenem, tal como ertapenem, doripenem, imipenem/cilastatina o meropenem; una cefalosporina, tal como cefadroxilo, cefazolina, cefalotina, cefalexina, cefaclor, cefamandole, cefoxitina, cefprozil, cefuroxima, cefixima, cefdinir, cefditoren, cefoperazona, cefotaxima, cefpodoxima, ceftazidima, ceftibuten, ceftizoxima, ceftriaxona, cefepima o ceftobiprole; un glicopéptido, tal como teicoplanina o vancomicina; un macrólido, tal como azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, eritroped, roxitromicina, troleandomicina, telitromicina o espectinomicina; un monobactámico, tal como aztreonam; una penicilina, tal como amoxicilina, ampicilina, azlocilina, carbenicilina, cloxacilina, dicloxacilina, flucloxacilina, mezlocilina, meticilina, nafcilina, oxacilina, penicilina, piperacilina o ticarcilina; un polipéptido, tal como bacitracina, colistina o polimixina B; una quinolona, tal como ciprofloxacina, enoxacina, gatifloxacina, levofloxacina, lomefloxacina, moxifloxacina, norfloxacina, ofloxacina o trovafloxacina; una sulfonamida, tal como mafenida, prontosil (arcaico), sulfacetamida, sulfametizol, sulfanilamida (arcaico), sulfasalazina, sulfisoxazol, trimetoprim o trimetoprim-sulfametoxazol (cotrimoxazol) (TMP-SMX); una tetraciclina, tal como demeclociclina, doxiciclina, minociclina, oxitetraciclina o tetraciclina; así como cloranfenicol, clindamicina, lincomicina, ácido fusídico, furazolidona, linezolid, metronidazol, mupirocina, nitrofurantoina, macrobid, platensimicina, quinupristina/dalfopristina, rifampina o rifampicina.

En las realizaciones dirigidas a usos, la infección por *S. aureus* puede ser cualquier infección por *S. aureus*. De un sujeto, incluyendo, por ejemplo, una o más de una infección por biopelícula de *S. aureus*, una infección por *S. aureus* planctónica, una infección de osteomielitis por *S. aureus*, una infección de osteomielitis por *S. aureus* asociada a biopelícula, una infección por *S. aureus* que está en un dispositivo médico, una infección de endocarditis por *S. aureus*, una infección por *S. aureus* de úlcera o herida diabética, una infección de rinosinusitis crónica por *S. aureus*, una infección de neumonía asociada a un ventilador por *S. aureus*, una infección por *S. aureus* asociada a un catéter intravenoso, una infección de la piel por *S. aureus*, una fascitis necrotizante por *S. aureus*, una queratitis por *S. aureus*, una endoftalmítis por *S. aureus*, un pñeumotórax por *S. aureus*, un empiema por *S. aureus* y una septicemia por *S. aureus*.

Breve descripción de los dibujos

Figura 1: (A) Desarrollo de la infección crónica, mediada por biopelícula, que es recalcitrante a la terapia antimicrobiana. CFU/g de hueso con el tiempo, lo que indica el desarrollo de una infección crónica. Las tibias de ratones infectados y no infectados fueron retiradas a los días 4, 7, 14, 21, 28 y 49 días después de la infección. No se encontraron CFU en ratones no infectados. Diluciones en serie de homogeneizados óseos se sembraron en placas de agar sangre. Las CFU/g de hueso se calcularon y registraron con el tiempo (n = 5-8 ratones por grupo, experimentos realizados por triplicado, *indica $p < 0.05$ comparado con controles por la prueba exacta de Fisher). Las barras representan SD. (B-D) imágenes microscópicas confocales láser de barrido de (B) pernos no infectados retirados 21 días después de la implantación, y los pernos infectados por *S. aureus* retirados en (C) 7 y (D) 21 días después de la implantación. Los pernos fueron marcados usando una sonda PNA-FISH marcada con FITC. La formación de biopelícula es evidente en el perno retirado del ratón infectado.

Figura 2: Vacunación con vacuna cuadrivalente y tratamiento adjunto con vancomicina en un modelo de conejo de una infección de osteomielitis por *S. aureus* de biopelícula. (A) Animales vacunados sólo con PBS (1), PBS y tratamiento posterior con vancomicina (2), la vacuna cuadrivalente solamente (3), o la vacuna más vancomicina (4). La media \pm SEM para CFU/gramos de hueso se muestra para cada grupo. * = diferencia significativa del grupo 1, control de PBS ($P < 0.05$, t de Student). (B) Animales en cada grupo que fueron completamente eliminados de la infección. * = diferencia significativa del grupo 1, control de PBS ($P < 0.05$, prueba exacta de Fisher).

Figura 3: Vacunación con vacuna de biopelícula cuadrivalente, vacuna planctónica, o vacuna de fenotipo dual pentavalente en un modelo murino de una infección de implante por *S. aureus*. Los ratones control no recibieron tratamiento (columna 1) o no vacunados con Alum solo (columna 2). Los ratones experimentales recibieron una vacuna cuadrivalente dirigida a la biopelícula (columna 3), una vacuna monovalente específica del plancton (SA0119, columna 4), o una combinación de los antígenos en una vacuna pentavalente (columna 5).

Descripción detallada

Las bacterias incrustadas en la biopelícula tienen propiedades fenotípicas y antigénicas notablemente diferentes en comparación con sus contrapartes planctónicas de flotación libre. Estas diferencias han presentado una lucha al diseñar formulaciones de vacunas para su uso en el tratamiento y la prevención de ambos tipos de infecciones bacterianas. Incluso las etapas individuales del crecimiento de la biopelícula (desde las etapas tempranas ligadas a la maduración y los estadios de maduración completa) han demostrado ser más antigénicamente distintas unas de otras que incluso las biopelículas frente a las bacterias planctónicas (66).

A través de una extensa investigación en candidatos a vacunas aceptables, los inventores han identificado genes expresados/producidos únicamente en biopelícula y en modos planctónicos de crecimiento a través de técnicas proteómica y transcriptómica. En particular, los inventores encontraron que se deben comparar múltiples estadios de crecimiento de la biopelícula (desde las fases de maduración temprana y de maduración completa) hasta múltiples etapas de crecimiento planctónico (log temprano, log tardío, estacionario y post-estacionario) con el fin de encontrar

aquellos antígenos de la pared celular con expresión inducida y sostenida en todos los estadios de biopelícula y aquellos con expresión inducida y sostenida en todos los estadios de crecimiento planctónico. Mediante la combinación de biopelícula y antígenos planctónicos que se expresan en la membrana o pared celular en una vacuna multivalente, puede obtenerse la protección del huésped frente al desafío microbiano por las especies microbianas específicas. Esta protección puede ser promovida ya que las bacterias en el huésped existen en formas antigénicamente distintas de los modos de crecimiento planctónico y biopelícula durante una infección y, como resultado, debe producirse una doble respuesta inmune contra ambos fenotipos en el huésped.

Las formulaciones de vacuna de la presente invención incluyen antígenos eficaces en la imprimación de la respuesta inmunitaria del huésped para eliminar tanto las poblaciones separadas, de flotación libre, de bacterias, así como las bacterias que forman un tipo de biopelícula de infección. Este trabajo es el primero en reconocer y superar las diferencias de expresión de proteínas dentro de los diferentes tipos de infección causados por el mismo microorganismo y demostrar (como se muestra en los ejemplos) una eliminación completa en un modelo animal de *S. aureus* de infección en lugar de solo una reducción significativa en las poblaciones bacterianas.

Como se ha expuesto anteriormente y en este documento, la presente invención se refiere a formulaciones de vacuna eficaces contra *S. aureus*, incluyendo *S. aureus* resistente a la meticilina (MRSA) y *S. aureus* sensible a la meticilina (MSSA), y a usos de las vacunas en el tratamiento y prevención de infecciones por *S. aureus* en un sujeto.

I. Componentes de la vacuna-Proteínas

Las formulaciones de vacuna de la presente invención comprenden al menos una parte (como se ha definido anteriormente) de cada uno de cinco polipéptidos diferentes de una cepa de *S. aureus* como se ha definido anteriormente y un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable. Se describen en este documento las formulaciones de vacunas caracterizadas porque comprenden al menos un polipéptido de *S. aureus* expresado por una forma planctónica de las bacterias y al menos un polipéptido de *S. aureus* expresado por una forma de biopelícula de las bacterias. En este documento se describen las formulaciones de vacunas de la presente invención pueden comprender, de este modo, uno, dos, tres o cuatro polipéptidos de *S. aureus* expresados por una forma planctónica de las bacterias, y uno, dos, tres o cuatro polipéptidos de *S. aureus* expresados por una forma de biopelícula de la bacteria. Las formulaciones de vacuna de la invención comprenden un polipéptido de *S. aureus* expresado por una forma planctónica de las bacterias y cuatro polipéptidos de *S. aureus* expresados por una forma de biopelícula de la bacteria.

El experto en la técnica comprenderá que la identidad, el número y el tamaño de las diferentes proteínas de *S. aureus* que pueden incluirse en las formulaciones de vacuna de la presente invención pueden variar. Por ejemplo, las formulaciones pueden comprender sólo versiones de longitud completa de los polipéptidos. O las formulaciones pueden comprender solamente partes (como se definen anteriormente) de los polipéptidos de longitud completa. O las formulaciones pueden comprender una combinación de partes y polipéptidos de longitud completa.

Además, las combinaciones incluyen formulaciones que tienen una, dos, tres, cuatro, cinco, seis o más partes diferentes del mismo polipéptido de *S. aureus* en combinación con una o más partes de otros polipéptidos y/o polipéptidos de longitud completa y/o ambas partes y versiones de longitud completa del mismo polipéptido. Sin embargo, cada una de las formulaciones comprende al menos una parte de cada uno de cinco polipéptidos diferentes de una cepa de *S. aureus* definida anteriormente.

Se describe en este documento, la identidad de los polipéptidos expresados en plancton y biopelícula incluidos en las formulaciones de vacuna no está particularmente limitada, pero cada una es un polipéptido de una cepa de *S. aureus*. Debido a que el propósito primario de las formulaciones de vacuna de la presente invención es imprimir y activar el sistema inmunitario del sujeto que recibe la formulación de vacuna, se usan polipéptidos expuestos en la superficie de las bacterias. Los polipéptidos que son polipéptidos asociados a pared celular y pared celular de *S. aureus* incluyen los polipéptidos de *S. aureus* SA0037 (SEQ ID NO: 13), SA0119 (SEQ ID NO: 14), SA0486 (SEQ ID NO: 15), SA0688 (SEQ ID NO: 16), y glucosaminidasa (SEQ ID NO: 17).

Los polipéptidos de *S. aureus* adicionales que se pueden usar en las formulaciones de vacuna de la presente invención incluyen los polipéptidos de la Tabla 1.

Tabla 1

Polipéptidos expresados en biopelícula	
SACOL0405	proteína de la familia de eflujo MATE (SEQ ID NO: 18)
SACOL0379	bacteriófago L54a, proteína de dominio de peptidasa M23/M37 (SEQ ID NO:19)
SACOL2658	represor de arginina (SEQ ID NO: 20)
SACOL1041	proteína hipotética SACOL1041 (SEQ ID NO: 21)
SACOL0048	proteína hipotética (SEQ ID NO: 22)
SACOL2292	Na ⁺ /H ⁺ antiportador (SEQ ID NO:23)
SACOL0204	formiato acetiltransferasa (SEQ ID NO: 24)
SACOL2729	familia de dominios de núcleo, integrasa/recombinasa (SEQ ID NO: 25)

SACOL2424	6-carboxihexanoato-CoA ligasa (SEQ ID NO: 26)
SACOL1183	proteína de membrana, putativa (SEQ ID NO: 27)
SACOL2446	epimerasa/deshidratasa, putativa (SEQ ID NO: 28)
SACOL0386	bacteriófago L54a, proteína hipotética (SEQ ID NO: 29)
Polipéptidos expresados en plancton	
SACOL0633	proteína hipotética conservada (SEQ ID NO: 30)
SACOL1664	proteína hipotética conservada TIGR00370 (SEQ ID NO: 31)
SACOL0541	proteína de esporulación G estadio V spoVG (SEQ ID NO: 32)
SACOL1138	proteína de superficie celular de 29 kDa, putativa sasJ (SEQ ID NO: 33)
SACOL0117	proteína de extrusión de polisacárido (SEQ ID NO: 34)
SACOL1659	proteína hipotética conservada (SEQ ID NO: 35)
SACOL2150	proteína mrp sasB (SEQ ID NO: 36)

5 Cuando sólo se usa una(s) parte(s) de un polipéptido en una formulación de vacuna, el tamaño del péptido está limitado por su capacidad para ser reconocida por el sistema inmune del sujeto al que se administra la vacuna. Los péptidos incluidos en las formulaciones, descritos en este documento deben ser de aproximadamente 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 o más aminoácidos contiguos de la proteína de longitud completa. El tamaño preferido de los péptidos, descritos en este documento, está entre aproximadamente 20 aminoácidos y 3000 aminoácidos de longitud, más preferiblemente entre aproximadamente 40 aminoácidos y 1500 aminoácidos de longitud, aún más preferiblemente entre aproximadamente 150 aminoácidos y 1300 aminoácidos de longitud. En otros aspectos, los péptidos pueden ser del 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% del tamaño de la proteína de longitud completa.

15 Como se indicó anteriormente, los polipéptidos y partes de los mismos usados en las formulaciones de la presente invención son de cepas de *S. aureus*. No hay limitación en las diferentes cepas de *S. aureus* que podrían ser usadas. A modo de ejemplo solamente, se pueden usar polipéptidos de cepas de *S. aureus* médicamente importantes, tales *S. aureus* resistente a meticilina (ya sea cepas asociadas a la comunidad o adquiridas en el hospital) y *S. aureus* sensible a meticilina, para constituir las formulaciones de vacuna de la presente invención. Por lo tanto, las formulaciones de vacuna de la presente invención incluyen el uso de variantes de los polipéptidos de *S. aureus* y partes de los mismos definidas en este documento y que tienen al menos aproximadamente 95%, 96%, 20 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia en toda su longitud con los polipéptidos de *S. aureus* y partes de los mismos. La identidad de la secuencia se determina alineando la secuencia de aminoácidos de dos péptidos o proteínas y calculando el número de diferencias de aminoácidos en toda la longitud de la alineación. El experto en la técnica comprenderá que hay una serie de programas de manipulación de secuencias comercialmente disponibles para su uso en la realización de tales cálculos, incluyendo el sitio web del National Center for Biotechnology Information.

25 Los polipéptidos, partes y variantes de los mismos (denominados colectivamente "proteínas") usados en las formulaciones de vacuna se pueden obtener a través de cualquiera de los muchos medios bien establecidos conocidos en la técnica. El experto en la técnica comprenderá que las proteínas pueden poseer la glicosilación nativa del polipéptido a medida que se produce por la correspondiente cepa de *S. aureus*, o pueden carecer de dicha glicosilación, o pueden tener una glicosilación alterada.

II. Componentes de la vacuna-portadores y excipientes

35 El portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable incluido en las formulaciones de vacuna variará basándose en la identidad de las proteínas en la formulación, en los medios usados para administrar la formulación, en el sitio de administración y en el programa de dosificación utilizado. Ejemplos apropiados de vehículos y diluyentes son bien conocidos para los expertos en el arte e incluyen agua para inyección, solución salina, solución salina reguladora, dextrosa, agua, glicerol, etanol, propilenglicol, polisorbato 80 (Tween-80™) poli(etileno)glicol 300 y 400 (PEG 300 y 400), aceite de ricino PEGilado (por ejemplo, Cremophor EL), poloxámero 407 y 188, portadores hidrófilos e hidrófobos, y combinaciones de los mismos. Los portadores hidrófobos incluyen, por ejemplo, 40 emulsiones de grasa, lípidos, fosfolípidos PEGilados, matrices poliméricas, polímeros biocompatibles, liposomas, vesículas, partículas y liposomas. Los términos excluyen específicamente el medio de cultivo celular. Otros portadores incluyen almidón de maíz, gelatina, lactosa, sacarosa, celulosa microcristalina, caolín, manitol, fosfato dicálcico, cloruro de sodio, ácido algínico, croscarmelosa de sodio y glicolato sódico de almidón.

45 Los excipientes incluidos en una formulación tienen propósitos diferentes dependiendo, por ejemplo, de la naturaleza de la formulación de vacuna y del modo de administración. Ejemplos de excipientes generalmente usados incluyen, sin limitación: agentes estabilizantes, agentes solubilizantes y surfactantes, soluciones reguladoras, antioxidantes y 50 conservantes, agentes de tonicidad, agentes de carga, agentes lubricantes, emulsionantes, agentes de suspensión o viscosidad, diluyentes inertes, cargas, agentes desintegrantes, agentes aglutinantes, agentes humectantes, agentes lubricantes, antibacterianos, agentes quelantes, edulcorantes, agentes perfumantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes, auxiliares de administración y combinaciones de los mismos.

Como un ejemplo específico, las preparaciones intramusculares se pueden preparar y administrar en un diluyente farmacéuticamente aceptable tal como agua para inyección, solución salina al 0.9% o solución de glucosa al 5%.

En una realización de la presente invención, las formulaciones de vacunas existen como dispersiones atomizadas para administración por inhalación. La dispersión atomizada de la formulación de vacuna contiene por lo general portadores comunes para dispersiones atomizadas o aerosolizadas, tales como solución salina reguladora y/u otros compuestos bien conocidos para los expertos en el arte. La administración de las formulaciones de vacuna por inhalación tiene el efecto de dispersar rápidamente la formulación de vacuna a una gran área de tejidos mucosales, así como de absorción rápida por la sangre para su circulación. Un ejemplo de un método de preparación de una dispersión atomizada se describe en la Patente de los Estados Unidos No. 6,187,344, titulada "Powdered Pharmaceutical Formulations Having Improved Dispensibility,".

Adicionalmente, las vacunas y formulaciones de vacuna también se pueden administrar en forma líquida. El líquido puede ser para dosificación oral, para dosis oftálmica o nasal como gotas, o para uso como enema o ducha. Cuando la formulación de vacuna se formula como un líquido, el líquido puede ser una solución o una suspensión de la formulación de vacuna. Hay una variedad de formulaciones apropiadas para la solución o suspensión de la formulación de vacuna que son bien conocidas para los expertos en el arte, dependiendo del uso pretendido de la misma. Las formulaciones líquidas para administración oral preparadas en agua u otros vehículos acuosos pueden contener diversos agentes de suspensión tales como metilcelulosa, alginatos, tragacanto, pectina, kelgin, carragenano, acacia, polivinilpirrolidona y alcohol polivinílico. Las formulaciones líquidas también pueden incluir soluciones, emulsiones, jarabes y elixires que contienen, junto con el(los) compuesto(s) activo(s), agentes humectantes, edulcorantes y agentes colorantes y aromatizantes. Se pueden preparar diversas formulaciones líquidas y en polvo por métodos convencionales para la inhalación en los pulmones del mamífero que se va a tratar.

Las formulaciones de vacuna de la presente invención también pueden incluir un adyuvante. Los adyuvantes apropiados incluyen adyuvante completo e incompleto de Freund, Titermax, adyuvantes de aceite en agua, así como compuestos de aluminio donde los antígenos, normalmente proteínas, son precipitados físicamente con sales insolubles hidratadas de hidróxido de aluminio o fosfato de aluminio. Otros adyuvantes incluyen coadyuvantes de tipo liposoma que comprenden esferas que tienen bicapas de fosfolípidos que forman un compartimiento acuoso que contiene el candidato de vacuna y que lo protegen de una degradación rápida, y que proporcionan un efecto de depósito para liberación sostenida. Los agentes con actividad de superficie también se pueden usar como adyuvantes e incluyen el ácido lipoteicoico de organismos grampositivos, el lípido A y el TDM. Quil A y QS-21 (adyuvantes de tipo saponina), monofosforil lípido A y derivados lipófilos de MDP son adyuvantes apropiados que tienen dominios hidrófilos e hidrófobos a partir de los cuales surgen sus propiedades de actividad de superficie. Los compuestos normalmente encontrados en el cuerpo tales como la vitamina A y E, y la lisolecitina también se pueden usar como agentes con actividad de superficie. Otras clases de adyuvantes incluyen análogo de glicano, coenzima Q, anfotericina B, bromuro de dimetildiocadecilamonio (DDA), levamisol y compuestos de bencimidazol. La inmunoestimulación proporcionada por un agente con actividad de superficie también se puede realizar desarrollando una proteína de fusión con partes no activas de la toxina del cólera, exotoxina A o la toxina lábil por calor de *E. coli*. También se puede usar la inmunomodulación mediante el uso de anti-IL-17, anti-IFN- γ , anti-IL-12, IL-2, IL-10 o IL-4 también se puede usar para promover una fuerte respuesta mediada por Th2 o anticuerpo a la formulación de vacuna.

III. Usos para generar una respuesta inmune

La presente invención también se refiere a usos para generar una respuesta inmune en un sujeto a una formulación de vacuna de la presente invención. En una realización, la presente invención se refiere a usos para generar una respuesta inmunológica en un sujeto, que comprende administrar una cantidad inmunológicamente eficaz de una formulación de vacuna de la presente invención a un sujeto, generando así una respuesta inmune en un sujeto. En cada uno de los usos para generar una respuesta inmune de la presente invención, la respuesta inmune es preferiblemente una respuesta inmune protectora.

Una "cantidad inmunológicamente eficaz" de una formulación de vacuna es aquella que es suficiente para inducir una respuesta inmune a los componentes de la vacuna en el sujeto al que se administra la formulación de vacuna. Una "respuesta inmune protectora" es aquella que confiere al sujeto al que se administra la formulación de vacuna, inmunidad protectora contra *S. aureus*. La inmunidad protectora puede ser inmunidad parcial o completa.

IV. Usos para el tratamiento y la prevención

La presente invención también se refiere a usos para tratar una infección por *S. aureus* en un sujeto que usa las formulaciones de vacuna de la presente invención. En una realización, la presente invención se refiere a usos para tratar una infección por *S. aureus* en un sujeto, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de una formulación de vacuna de la presente invención a un sujeto que tiene una infección por *S. aureus*, tratando así una infección por *S. aureus* en un sujeto. En ciertos aspectos, el uso comprende además administrar un agente antimicrobiano al sujeto que tiene una infección por *S. aureus* junto con la administración de la formulación de vacuna.

Las formulaciones de vacuna de la presente invención también se pueden usar en usos para inhibir una infección por *S. aureus* en un sujeto. Tales usos comprenden administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de una formulación de vacuna de la presente invención a un sujeto en riesgo de desarrollar una infección por *S. aureus*, inhibiendo así una infección por *S. aureus* en un sujeto. En ciertos aspectos, el uso comprende además administrar un agente antimicrobiano al sujeto en riesgo de desarrollar una infección por *S. aureus* junto con la administración de la formulación de vacuna.

Una "cantidad terapéuticamente eficaz" de una formulación de vacuna es aquella que es suficiente para proporcionar al menos alguna reducción en los síntomas de una infección por *S. aureus* en un sujeto al que se le administra la formulación de vacuna, o uno que sea suficiente para lograr el objetivo del uso.

Como se usa en este documento, los términos "tratar" y "tratamiento" tienen sus significados ordinarios y habituales, e incluyen uno o más de, mejorar un síntoma de una infección por *S. aureus* en un sujeto, bloquear o mejorar una recurrencia de un síntoma de una infección por *S. aureus* en un sujeto, disminuyendo en gravedad y/o frecuencia un síntoma de una infección por *S. aureus* en un sujeto, como estasis, disminución o inhibición del crecimiento de *S. aureus* en un sujeto. El tratamiento significa el mejoramiento, bloqueo, reducción, disminución o inhibición de aproximadamente 1% a aproximadamente 100% frente a un sujeto al que no se ha administrado la formulación de vacuna de la presente invención (con o sin la administración adicional del agente antimicrobiano). Preferiblemente, el mejoramiento, bloqueo, reducción, disminución o inhibición es el 100%, 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10%, 5% o 1%. El tratamiento puede comenzar antes, simultáneamente o después del inicio de los síntomas clínicos de la infección. Los resultados del tratamiento pueden ser permanentes, tales como cuando la infección por *S. aureus* está completamente eliminada del sujeto, o puede ser por un período de días (tal como 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7 días), semanas (tales como 1, 2, 3 o 4 semanas) o meses (tales como 1, 2, 3, 4, 5, 6 o más meses).

Como se usa en este documento, los términos "inhibir", "que inhibe" e "inhibición" tienen sus significados ordinarios y usuales, e incluyen uno o más de la colonización inhibidora de *S. aureus*, inhibiendo el crecimiento de *S. aureus* (todas las formas, incluyendo planctónica y biopelícula) e inhibiendo la propagación de *S. aureus*. Tal inhibición es una inhibición de aproximadamente 1% a aproximadamente 100% frente a un sujeto al que no se ha administrado la formulación de vacuna de la presente invención (con o sin la administración adicional del agente antimicrobiano). Preferiblemente, la inhibición es una inhibición del 100%, 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10%, 5% o 1%. Como se usa en este documento, la inhibición dura al menos un período de días, semanas, meses o años al completar el programa de dosificación. Preferiblemente, la inhibición es para la esperanza de vida del sujeto.

Los usos para tratar o inhibir una infección por *S. aureus* pueden comprender además administrar uno o más agentes antimicrobianos a un sujeto que tiene una infección por *S. aureus* o en riesgo de desarrollar una infección por *S. aureus*. Cuando un agente antimicrobiano se incluye en los usos de la presente invención, el agente antimicrobiano se puede administrar antes a, simultánea con o después de la formulación de vacuna se administra al sujeto. Cuando el agente antimicrobiano es administrado antes o después de la formulación de vacuna, el período de tiempo entre el momento en que se administran el agente antimicrobiano y la formulación de vacuna puede ser un período de horas (tal como 6, 12, 18 o 24 horas), días (tal como 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7 días), semanas (tal como 1, 2, 3 o 4 semanas) o meses (tal como 1, 2, 3, 4, 5, 6 o más meses). El agente antimicrobiano puede ser cualquiera que sea eficaz en el tratamiento de una infección por *S. aureus* y puede incluir, pero no está limitado a, un aminoglucósido, tal como amicacina, gentamicina, canamicina, neomicina, netilmicina, estreptomina, tobramicina o paromomicina; un carbocéfem, tal como loracarbef; una carbapenema, tal como ertapenem, doripenem, imipenem/cilastatina o meropenem; una cefalosporina, tal como cefadroxilo, cefazolina, cefalotina, cefalexina, cefaclor, cefamandole, cefoxitina, cefprozil, cefuroxima, cefixima, cefdinir, cefditórén, cefoperazona, cefotaxima, cefpodoxima, ceftazidima, ceftibuten, ceftizoxima, ceftriaxona, cefepima o ceftobiprole; un glicopéptido, tal como teicoplanina o vancomicina; un macrólido, tal como azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, eritroped, roxitromicina, troleandomicina, telitromicina o espectinomicina; un monobactámico, tal como aztreonam; una penicilina, tal como amoxicilina, ampicilina, azlocilina, carbenicilina, cloxacilina, dicloxacilina, flucloxacilina, mezlocilina, meticilina, nafcilina, oxacilina, penicilina, piperacilina o ticarcilina; un polipéptido, tal como bacitracina, colistina o polimixina B; una quinolona, tal como ciprofloxacina, enoxacina, gatifloxacina, levofloxacina, lomefloxacina, moxifloxacina, norfloxacina, ofloxacina o trovafloxacina; una sulfonamida, tal como mafenida, prontosil (arcaico), sulfacetamida, sulfametizol, sulfanilamida (arcaico), sulfasalazina, sulfisoxazol, trimetoprim o trimetoprim-sulfametoxazol (cotrimoxazol) (TMP-SMX); una tetraciclina, tal como demeclociclina, doxiciclina, minociclina, oxitetraciclina o tetraciclina; así como cloranfenicol, clindamicina, lincomicina, ácido fusídico, furazolidona, linezolid, metronidazol, mupirocina, nitrofurantoína, macrobid, platensimicina, quinupristina/dalfopristina, rifampina o rifamicina.

En cada uno de los usos de la presente invención, las formulaciones de vacuna se administran en una forma farmacéuticamente aceptable y en cantidades sustancialmente no tóxicas. Las formulaciones de vacuna se pueden administrar a un sujeto usando diferentes programas de dosificación, dependiendo del uso particular al que se aplican las formulaciones (por ejemplo, administración al sujeto antes o después del desafío a *S. aureus*), la edad y el tamaño del sujeto, y la salud general del sujeto, para nombrar sólo algunos factores a considerar. En general, las

5 formulaciones de vacunas se pueden administrar una vez, o dos veces, tres veces, cuatro veces, cinco veces, seis veces o más, en un programa de dosificación. El tiempo entre cada dosis en un programa de dosificación puede oscilar entre unas pocas horas, seis, 12 o 18 horas, o 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 o más días. La misma cantidad de proteína en la formulación se puede administrar en cada dosis del programa de dosificación, o las cantidades en cada dosis pueden variar. La identidad de los péptidos y polipéptidos particulares en la formulación también puede variar o permanecer igual en cada dosis en un programa de dosificación.

10 La cantidad de proteína administrada a un sujeto en una dosis cuando se practican los usos de la presente invención variará en base a los usos particulares que se practican (por ejemplo, prevención frente al tratamiento de una infección por *S. aureus*), los medios y la formulación de la administración, la edad y el tamaño del sujeto, y la salud general del sujeto, por citar sólo algunos factores a considerar. Sin embargo, en general, la cantidad de proteína de *S. aureus* administrada a un sujeto en una dosis será suficiente para inducir o aumentar una respuesta inmune en un sujeto a los componentes de la vacuna. Por ejemplo, las formulaciones de vacunas pueden contener entre 15 aproximadamente 1 y aproximadamente 1000 µg de proteína *S. aureus* total por kg de peso corporal del sujeto al que se administrará la dosis de la formulación de vacuna, más preferiblemente entre aproximadamente 10 y aproximadamente 200 µg, incluso más preferiblemente entre aproximadamente 15 y aproximadamente 100 µg.

20 Las dosis y los programas de dosificación apropiados se pueden determinar fácilmente mediante técnicas bien conocidas para los expertos en el arte sin experimentación excesiva. Dicha determinación se basará, en parte, en la tolerabilidad y la eficacia de una dosis particular.

25 La administración de las formulaciones de vacunas puede ser a través de cualquiera de los medios conocidos comúnmente en la técnica de suministro de la vacuna. Tales rutas incluyen rutas de administración intravenosa, intraperitoneal, intramuscular, subcutánea e intradérmica, así como aplicación nasal, por inhalación, por vía oftálmica, oral, rectal, vaginal o por cualquier otro modo que da lugar a la formulación de vacuna en contacto con los tejidos de la mucosa.

30 Como se usa en este documento, la infección por *S. aureus* puede ser cualquier infección por *S. aureus* de un sujeto, incluyendo, por ejemplo, una o más de una infección por biopelícula de *S. aureus*, una infección por *S. aureus* planctónica, una infección de osteomielitis por *S. aureus*, una infección de osteomielitis por *S. aureus* asociada a biopelícula, una infección por *S. aureus* que está en un dispositivo médico, una infección de endocarditis por *S. aureus*, una infección por *S. aureus* de úlcera o herida diabética, una infección de rinosinusitis crónica por *S. aureus*, una infección de neumonía asociada a un ventilador por *S. aureus*, una infección por *S. aureus* asociada a un catéter intravenoso, una infección de la piel por *S. aureus*, una fascitis necrotizante por *S. aureus*, una queratitis por *S. aureus*, una endoftalmitis por *S. aureus*, un pionemotórax por *S. aureus*, un empiema por *S. aureus* y una septicemia por *S. aureus*.

40 El término "sujeto" pretende significar un animal, tales aves o mamíferos, incluyendo seres humanos y animales de Importancia veterinaria o agrícola, tales como perros, gatos, caballos, ovejas, cabras y ganado.

Se describe también en este documento un kit que comprende los componentes necesarios de una formulación de vacuna que provoca una respuesta inmune a una cepa de *S. aureus* e instrucciones para su uso.

45 Se entiende que los ejemplos descritos en este documento son sólo con fines ilustrativos.

Ejemplos

Materiales y métodos

50 A menos que se indique lo contrario, los siguientes detalles experimentales pertenecen a cada uno de los ejemplos proporcionados en los ejemplos específicos expuestos y discutidos a continuación.

55 Ratones. Se adquirieron C57BL/6 endogámicos (6-8 semanas de edad) de Jackson Laboratories (Bar Harbor, ME). Los ratones se mantuvieron bajo condiciones de microaislador en la instalación de animales en the University of Maryland Dental School (Baltimore, MD), de acuerdo con protocolos revisados y aprobados por the *Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC)*.

60 Cepa bacteriana y preparación de inóculos infecciosos. La cepa de *S. aureus* utilizada en estos experimentos, MRSAM2, es un aislamiento clínico obtenido de un paciente de osteomielitis sometido a tratamiento en the University of Texas Medical Branch (Galveston, TX) y ha sido utilizado en análisis moleculares previos de biopelículas y modelos de infección animal 5, 34, 37, 60) (6, 47, 49, 50). Se cultivó un cultivo de caldo de soja tríptico (TSB) de *S. aureus* durante toda la noche a 37°C con agitación a 250 rpm y se incubó durante 2 h a 37°C con agitación a 250 rpm. Las células se centrifugaron, se lavaron con PBS, se contaron a través de un contador de Petroff Hausser y se diluyeron a 1×10^6 CFU/ml.

Clonación, expresión y purificación de proteínas. Los antígenos candidatos seleccionados de Brady et al. (5) se amplificaron usando los cebadores enumerados en la Tabla 2.

Tabla 2. Cebadores usados en este estudio (todos los productos amplificados de la cepa *S. aureus* M2 MRSA).

Nombre del cebador	Secuencia (5'- 3'); SEQ ID NO:	Producto, tamaño
5' SA0037 SEQ ID NO:1	ATGAATACAATCAAAACTACGAAA	Proteína hipotética conservada, 519 pb
3' SA0037 SEQ ID NO:2	<u>CTTCTCATCGTCATCTGATTCAAAAATCCATTTT</u> TGA	
5' Lipasa SEQ ID NO:3	<u>ACTCTAGGCTCTCACTCCCATCTGAAACAACATT</u> ATGACCAAAT	Lipasa, 966 bp
3' Lipasa SEQ ID NO:4	<u>ATGGTAGGCTCATATCATAAAGGATTTAACGG</u> TAATTCATTACT	
5' SA0688 SEQ ID NO:5	<u>ATGGTAGGCTCACTCCGATAAGTCAAATGGCA</u> AACTAAAAGT	ABC trans. lipoproteína, 860 pb
3' SA0688 SEQ ID NO:6	<u>ATGGTAGGCTCATATCATTTCATGCTTCCGTGT</u> ACAGTT	
5' Glucosaminidasa SEQ ID NO:7	<u>ATGGTAGGCTCACTCCGCTTATACTGTTACTA</u> AACCACAAAC	Glucosaminidasa, 1443 bp
3' Glucosaminidasa SEQ ID NO:8	<u>ATGGTAGGCTCATATCATTATATGTGGGAT</u> GTCGAAGTATT	
5' SA0486 SEQ ID NO:9	<u>ACTCTAGGCTCACTCCAAGAAGATTCAAAAG</u> AAGAACAAT	Lipoproteína hipotética, 683 pb
3' SA0486 SEQ ID NO:10	<u>ATGGTAGGCTCATATCAGCTATCTTCATCAGA</u> CGGCCCA	
5' SA0119 SEQ ID NO:11	CATGCCATGGACACGACTTCAATGAATG	Proteína putativa sin caracterizar, 726 pb
3' SA0119 SEQ ID NO:12	<u>AGCTTTGTTTTAAACTCAATGATGATGATGATGA</u> TGAACTTTTTTGTTACTTTGGTTC	

Los sitios Bsal están subrayados en los cebadores.

Los productos de PCR se clonaron en pBAD-Thio/TOPO (SACOL0037 y SACOL0119) o pASK-IBA14 (SACOL0486, SACOL0688, y glucosaminidasa), transformados en TOP10 *E. coli*, y fueron secuenciados. Los detalles relativos a los plásmidos se proporcionan en la Tabla 3.

Tabla 3. Plásmidos usados en este estudio.

Plásmido	Genotipo o características	fuelle
pBAD-Thio/TOPO	4454 bp pUC ori, Amp ^R , promotor pBAD, para la expresión inducible por arabinosa del producto de PCR	Invitrogen Life Technologies
pASK-IBA14	3001 bp pUC ori, Amp ^R , promotor tetA, para expresión inducible por tetraciclina	IBA, Göttingen, Germany

Los clones se expresaron a continuación usando ya sea inducción de arabinosa (SACOL0037 y SACOL0119) o inducción de anhidrotetraciclina (todos los demás). SACOL0037 y SACOL0119 se purificaron a través de cromatografía de afinidad ProBond cobalto (Invitrogen, Life Technologies, Carlsbad, CA), mientras que todos los otros antígenos se purificaron usando columnas Strep-Tactin Superflow (IBA, Göttingen, Alemania). La pureza se confirmó resolviendo cada proteína en SDS-PAGE al 10-20% y las cantidades se determinaron por BCA (Pierce, Rockford IL). Se realizó el desalado y el intercambio de regulador con solución salina reguladora con fosfato (PBS) para SACOL0486, SACOL0688 y glucosaminidasa usando unidades de filtración Amicon (MWCO) de corte de peso molecular de 30 kDa (Millipore, Billerica, MA) según las instrucciones del fabricante. Se realizó el desalado y el intercambio de regulador con PBS para SACOL0119 usando unidades de filtración Amicon MWCO de 10 kDa (Millipore, Billerica, MA). El desalinizado de SACOL0037 en agua Nano-pura se logró usando columnas PD-10 desalinizadoras (GE Healthcare, Waukesha, WI) siguiendo el procedimiento del fabricante. Posteriormente, se liofilizó SACOL0037 usando un secador de congelador Virtis (SP Scientific, Warminster, PA) y la partícula de proteína se reconstituyó en PBS. Las cantidades de proteínas se determinaron mediante BCA (Pierce, Rockland, IL) y se confirmaron mediante la resolución de las proteínas en SDS-PAGE al 10-20%.

Implantación quirúrgica de pernos. Cuatro a ocho ratones por grupo experimental (realizado por duplicado) fueron ya sea no vacunados con coadyuvante de alumbre solo o vacunados con la vacuna cuadrivalente de biopelícula, el antígeno único adicional (SA0119), o la combinación de todos los antígenos probados (vacuna pentavalente) a 12.5 µg/antígeno en coadyuvante de alumbre. Las vacunas se administraron por inyección intraperitoneal (IP). Los animales fueron reforzados 14 días más tarde con un tratamiento no vacunado de PBS o tratamiento vacunado con las composiciones de vacuna anteriores suspendidas en PBS lineal. 14 días después del refuerzo, los ratones se anestesiaron mediante inyección IP de 100 mg/kg de ketamina (Ketaset®-Fort Dodge Laboratories, Inc., Fort Dodge, Iowa) y 10 mg/kg de xilacina (Rugby Laboratories, Inc., Rockville Center, NY). La pierna izquierda de cada ratón se limpió con yodo de povidona y se enjuagó con etanol al 70% antes de la implantación quirúrgica de un perno de insectos estériles de 0.25 mm (Fine Science Tools, Foster City, CA) según los métodos descritos anteriormente (35, 49). Después de la implantación, se inoculó directamente 1 µl de la suspensión de *S. aureus* de 1×10^6 CFU/ml preparada anteriormente sobre el implante de perno seguido de un cierre de incisión. Dado que 100 CFU de *S. aureus* son capaces de causar infección crónica en este modelo (datos no mostrados) y en infecciones de cuerpos extraños en humanos (19), esta dosis infecciosa es al menos diez veces mayor que la requerida para causar infección. Todos los ratones no sufrieron ningún tratamiento adicional después de la cirugía hasta el sacrificio. Todos los experimentos con animales se realizaron de acuerdo con los protocolos revisados y aprobados por the *Institutional Animal Care and Use Committee* (IACUC) at the University of Maryland School of Medicine (Baltimore, MD).

Cultivos óseos. Con el fin de demostrar la eficacia del modelo animal, a los 4, 7, 14, 21, 28 y 49 días después de la implantación, los ratones infectados y no infectados se sacrificaron, se retiraron las tibias izquierdas y todos los tejidos blandos se disecaron del hueso. Utilizando tijeras estériles, las tibias se cortaron en trozos pequeños y se colocaron en 300 µl de solución salina estéril al 0.85% por 100 µg de hueso. Los huesos se homogeneizaron usando un homogeneizador portátil Polytron PT 1200 (Kinematica, Bohemia, NY) y se sembraron diluciones en serie de 10 veces de homogeneizados óseos en placas de agar de sangre de soja triptica para enumerar *S. aureus* viables por g de hueso y placas CHROMagar MRSA (CHROMagar, París, Francia) para verificar una infección monomicrobiana por *S. aureus*. Además, los ratones no vacunados (solo alumbre) y los ratones vacunados con la vacuna cuadrivalente, el antígeno único adicional SA0119, o todos los antígenos combinados se sacrificaron a los 21 días después de la infección y se determinaron las unidades formadoras de colonias tibiales (CFU) como se describió anteriormente. La diseminación de la infección por *S. aureus* se controló mediante la homogeneización de los riñones y el recubrimiento de los homogeneizados como se ha descrito anteriormente.

Detección de biopelícula de PNA-FISH en pernos explantados. Con el fin de demostrar biopelículas en pernos infectados en la tibia de los ratones, los pernos de ratones infectados y no infectados fueron cuidadosamente retirados de las tibias para evitar la perturbación de masa de biopelícula a los 7 y 21 días después del implante. Los pernos se fijaron en paraformaldehído al 2% en PBS antes de la hibridación PNA-FISH con una sonda de *S. aureus* marcada con FITC y una sonda de células eucariotas universales marcada con rodamina, según las instrucciones del fabricante (Advandx, Woburn, MA). A continuación, cada perno fue examinado con un microscopio láser de barrido confocal Zeiss LSM 510 (Carl Zeiss, Thornwood, NY) para fluorescencia tanto verde como roja usando un filtro FITC/Texas Red de doble banda y un objetivo 63X.

Análisis estadístico. La media y la SD se calcularon y analizaron usando la prueba t de Student con un valor de P <0.05 para determinar la significación estadística. Experimento que determina el porcentaje de ratones aún infectados después del tratamiento con vancomicina o PBS se analizó usando la prueba exacta de Fisher con un valor p <0.05 para significación estadística.

Resultados

La infección del implante por *S. aureus* da como resultado una infección crónica. Las tibias de ratones con pernos infectados con *S. aureus* y las tibias control con pernos no infectados se cosecharon y se procesaron a los 4, 7, 14, 21, 28 y 49 días después de la implantación. Las CFU se enumeraron a partir de hueso homogeneizado para determinar el desarrollo de infecciones crónicas y cargas bacterianas en la tibia. Los resultados demuestran que se cultivaron *S. aureus* viables a partir del perno infectado con *S. aureus* y del hueso circundante en todos los puntos de tiempo probados, hasta en 49 días después de la infección (figura 1). Las cargas bacterianas inicialmente aumentaron a más de 3 logs de la dosis infectante a $> 10^8$ CFU/tibia, pero luego disminuyeron entre 4 y 7 días después de la infección. Sin embargo, al día 7 y más allá, las cargas bacterianas eran consistentes. La formación de biopelícula fue evidente en los pernos implantados de ratones infectados (véase la figura 1B) pero no en ratones no infectados (véase la figura 1C, D) mediante microscopía confocal láser de barrido.

Vacunación con antígenos que inducen la expresión de biopelícula acoplados con terapia antibiótica promueve la eliminación de una infección de osteomielitis por *S. aureus*. En un trabajo anterior, Brady et al. identificaron las proteínas candidatas que fueron inducidas para la expresión durante el modo de crecimiento de biopelícula y altamente inmunogénicas en conejos para formular una vacuna multivalente contra las infecciones mediadas por biopelícula de *S. aureus* (4). En un ensayo de vacunación inicial, se inyectó una vacuna cuadrivalente compuesta de SACOL0486, SACOL0688, SACOL0037 y glucosaminidasa (10 µg por proteína recombinante) en conejos a los 20 y 10 días antes del desafío usando una infección de osteomielitis de la tibia por *S. aureus*. Los conejos vacunados

tuvieron una ligera reducción en la carga bacteriana a los 14 días después de la infección en comparación con los animales control, pero no se alcanzó la eliminación bacteriana (datos no presentados/Brady 2011). Mientras que la vacuna cuadrivalente se dirige a la biopelícula de *S. aureus*, sus componentes no activan una respuesta humoral eficaz contra las células planctónicas de *S. aureus* y estas bacterias persisten el día 14 después de la infección debido a la expresión de factores de evitación inmune. De este modo, se adaptó la estrategia de vacunación adicionando un ciclo de tratamiento de vancomicina de 10 días comenzando 14 días después del desafío para erradicar las bacterias planctónicas sensibles a los antibióticos dispersas de la biopelícula. Para evaluar la eficacia de la terapia dual, se compararon la enumeración de *S. aureus* (Figura 2A) y las tasas de eliminación (Figura 2B) en conejos del grupo de terapia dual con los grupos no vacunados y no tratados, no vacunados pero tratados y vacunados, pero no tratados. Se observaron reducciones significativas tanto en el recuento bacteriano como en la tasa de infección con la terapia dual (columna 4), que establece que dirigir el fenotipo planctónico de *S. aureus* es crítico para erradicar una infección mediada por biopelícula. En general, se observó una reducción del 99.9% en la población bacteriana en animales vacunados en comparación con animales control.

Vacunación con vacunas pentavalentes compuestas de antígenos específicos de plaguicida y expresión inducida por biopelícula promueve la eliminación de una infección de implante de la tibia por *S. aureus*. Como una extensión del estudio de la vacuna en el modelo en conejo de osteomielitis de la tibia, se dirige el fenotipo planctónico de una infección por *S. aureus* con la adición de un antígeno específico planctónico, SACOL0119, a la vacuna cuadrivalente dirigida por biopelícula (SACOL0486, SACOL0688, SACOL0037 y glucosaminidasa). La eficacia de esta vacuna pentavalente contra la infección por *S. aureus* se evaluó usando un modelo de implante de la tibia murino, que es una evaluación crítica de la vacuna contra otra infección mediada por biopelícula además de la osteomielitis. La vacuna pentavalente, que estaba compuesta de 12.5 µg de cada antígeno recombinante, se administró a los 28 y 14 días antes del desafío con *S. aureus* usando el modelo de implante de la tibia. A los 21 días después del desafío, las CFU en las tibias de ratones vacunados con la vacuna pentavalente se enumeraron y compararon con los recuentos de ratones vacunados con ya sea la vacuna cuadrivalente o vacuna monovalente SACOL0119 y ratones no vacunados. También se examinaron los homogeneizados de riñón para determinar el recuento de bacterias. No se observó *S. aureus* en los riñones de ningún animal control o de experimentación, lo que confirma que las infecciones fueron localizadas y no se diseminaron desde la tibia. En los ratones no vacunados, se observó una tasa de infección del 100% (Figura 3) y el desarrollo de un *involucrum* alrededor del sitio de inserción del implante (datos no mostrados). La vacuna cuadrivalente y la vacuna SACOL0119 proporcionaron protección parcial contra la infección por *S. aureus* con una eliminación bacteriana observada en 50% y 40% de los animales, respectivamente (Figura 3). En los ratones vacunados con cuadrivalente y SACOL0119, la presencia de un *involucrum* en la tibia correspondía con la presencia de *S. aureus* en el sitio del implante. Dado que la vacunación con ya sea los antígenos que inducen la expresión de biopelícula o el antígeno planctónico específico solo proporciona una protección aproximadamente equivalente, se supone que una combinación de los antígenos tendría un efecto sinérgico y proporcionaría una eliminación completa de *S. aureus* en el modelo de implante de la tibia. La adición de este antígeno planctónico sustituiría al uso de una terapia antibiótica adyuvante para erradicar la *S. aureus* persistente, como se ha demostrado previamente por nuestro laboratorio. De hecho, la vacuna pentavalente proporcionó una protección completa contra *S. aureus* con una eliminación del 100% en todos los ratones dentro de este subgrupo de vacuna (Figura 3). Además, las tibias de los ratones vacunados pentavalentes se parecían a tibias no infectadas sin signos de infección. Por lo tanto, la incorporación del antígeno planctónico único contra la vacuna multivalente dirigida a biopelícula aumentó la eficacia de la vacuna de 50% a 100% de prevención de una infección de implante mediada por biopelícula en ratones C57BL/6J. En este caso, se ha logrado la eliminación bacteriana completa de *S. aureus*, lo cual es un logro que nunca se ha alcanzado con otras formulaciones de vacunas, incluyendo aquellas que avanzaron en los ensayos clínicos, usando una estrategia de vacunación dirigida tanto al fenotipo planctónico como a la biopelícula del patógeno.

Referencias

1. Arciola, C. R., M. Cervellati, V. Pirini, S. Gamberini, and L. Montanaro. 2001/10. Staphylococci in orthopaedic surgical wounds. *New Microbiol.* 24:365-369.
2. Arrecubieta, C., I. Matsunaga, T. Asai, Y. Naka, M. C. Deng, and F. D. Lowy. 2008. Vaccination with clumping factor A and fibronectin binding protein A to prevent *Staphylococcus aureus* infection of an aortic patch in mice. *J Infect Dis* 198:571-5.
3. Assenmacher, M., M. Lohning, A. Scheffold, R. A. Manz, J. Schmitz, and A. Radbruch. 1998. Sequential production of IL-2, IFN-gamma and IL-10 by individual staphylococcal enterotoxin B-activated T helper lymphocytes. *Eur J Immunol* 28:1534-43.
4. Benton, B. M., J. P. Zhang, S. Bond, C. Pope, T. Christian, L. Lee, K. M. Winterberg, M. B. Schmid, and J. M. Buysse. 2004/12. Large-scale identification of genes required for full virulence of *Staphylococcus aureus*. *J.Bacteriol.* 186:8478-8489.
5. Brady, R. A., J. G. Leid, A. K. Camper, J. W. Costerton, and M. E. Shirtliff. 2006. Identification of *Staphylococcus aureus* proteins recognized by the antibody-mediated immune response to a biofilm infection. *Infection and Immunity*

74:3415-26.

- 5 6. Brady, R. A., G. A. O'May, J. G. Leid, M. L. Prior, J. W. Costerton, and M. E. Shirtliff. 2011. Resolution of *Staphylococcus aureus* biofilm infection using vaccination and antibiotic treatment. *Infection and Immunity* 79:1797-803.
- 10 7. Breuer, K., M. Wittmann, K. Kempe, A. Kapp, U. Mai, O. Dittrich-Breiholz, M. Kracht, S. Mrabet-Dahbi, and T. Werfel. 2005. Alpha-toxin is produced by skin colonizing *Staphylococcus aureus* and induces a T helper type 1 response in atopic dermatitis. *Clin Exp Allergy* 35:1088-95.
- 15 8. Brown, E. L., O. Dumitrescu, D. Thomas, C. Badiou, E. M. Koers, P. Choudhury, V. Vazquez, J. Etienne, G. Lina, F. Vandenesch, and M. G. Bowden. 2009. The Panton-Valentine leukocidin vaccine protects mice against lung and skin infections caused by *Staphylococcus aureus* USA300. *Clin Microbiol Infect* 15:156-64. infections caused by *Staphylococcus aureus* USA300. *Clin Microbiol Infect* 15:156-64.
- 20 9. Bubeck Wardenburg, J., and O. Schneewind. 2008. Vaccine protection against *Staphylococcus aureus* pneumonia. *J Exp Med* 205:287-94.
- 25 10. Capparelli, R., N. Nocerino, C. Medaglia, G. Blaiotta, P. Bonelli, and D. Iannelli. 2011. The *Staphylococcus aureus* peptidoglycan protects mice against the pathogen and eradicates experimentally induced infection. *PLoS One* 6:e28377.
- 30 11. Cerca, N., K. K. Jefferson, T. Maira-Litran, D. B. Pier, C. Kelly-Quintos, D. A. Goldmann, J. Azeredo, and G. B. Pier. 2007. Molecular basis for preferential protective efficacy of antibodies directed to the poorly acetylated form of staphylococcal poly-N-acetyl-beta-(1-6)-glucosamine. *Infect Immun* 75:3406-13.
- 35 12. Cocchiario, J. L., M. I. Gomez, A. Risley, R. Solinga, D. O. Sordelli, and J. C. Lee. 2006. Molecular characterization of the capsule locus from non-typeable *Staphylococcus aureus*. *Mol Microbiol* 59:948-60.
- 40 13. Costerton, J. W., P. S. Stewart, and E. P. Greenberg. 1999/5/21. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*. 284:1318-1322.
- 45 14. Dale, S. E., A. Doherty-Kirby, G. Lajoie, and D. E. Heinrichs. 2004. Role of siderophore biosynthesis in virulence of *Staphylococcus aureus*: identification and characterization of genes involved in production of a siderophore. *Infect Immun* 72:29-37.
- 50 15. Dauwalder, O., D. Thomas, T. Ferry, A. L. Debard, C. Badiou, F. Vandenesch, J. Etienne, G. Lina, and G. Monneret. 2006. Comparative inflammatory properties of staphylococcal superantigenic enterotoxins SEA and SEG: implications for septic shock. *J Leukoc Biol* 80:753-8.
- 55 16. Dedent, A., H. K. Kim, D. Missiakas, and O. Schneewind. 2012. Exploring *Staphylococcus aureus* pathways to disease for vaccine development. *Semin Immunopathol* 34:317-33.
- 60 17. Donlan, R. M., and J. W. Costerton. 2002/4. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin.Microbiol.Rev.* 15:167-193.
- 65 18. Dryla, A., D. Gelbmann, A. von Gabain, and E. Nagy. 2003. Identification of a novel iron regulated staphylococcal surface protein with haptoglobin-haemoglobin binding activity. *Mol Microbiol* 49:37-53.
19. Elek, S. D. 1956. Experimental staphylococcal infections in the skin of man. *Annals of the New York Academy of Sciences* 65:85-90.
20. Fattom, A. L., J. Sarwar, A. Ortiz, and R. Naso. 1996. A *Staphylococcus aureus* capsular polysaccharide (CP) vaccine and CP-specific antibodies protect mice against bacterial challenge. *Infect Immun* 64:1659-65.
21. Fedtke, I., F. Gotz, and A. Peschel. 2004/9. Bacterial evasion of innate host defenses--the *Staphylococcus aureus* lesson. *Int.J.Med.Microbiol* 294:189-194.
22. Gening, M. L., T. Maira-Litran, A. Kropec, D. Skurnik, M. Grout, Y. E. Tsvetkov, N. E. Nifantiev, and G. B. Pier. 2010. Synthetic {beta}-(1->6)-linked N-acetylated and nonacetylated oligoglucosamines used to produce conjugate vaccines for bacterial pathogens. *Infect Immun* 78:764-72.
23. Gresham, H. D., J. H. Lowrance, T. E. Caver, B. S. Wilson, A. L. Cheung, and F. P. Lindberg. 2000. Survival of *Staphylococcus aureus* inside neutrophils contributes to infection. *J Immunol* 164:3713-22.

24. Grundmann, H., M. Aires-de-Sousa, J. Boyce, and E. Tiemersma. 2006/9/2. Emergence and resurgence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a public-health threat. *Lancet*. 368:874-885.
- 5 25. Harro, C. D., R. F. Betts, J. S. Hartzel, M. T. Onorato, J. Lipka, S. S. Smugar, and N. A. Kartsonis. 2012. The immunogenicity and safety of different formulations of a novel *Staphylococcus aureus* vaccine (V710): Results of two Phase I studies. *Vaccine* 30:1729-36.
- 10 26. Horan, T. C., D. H. Culver, R. P. Gaynes, W. R. Jarvis, J. R. Edwards, and C. R. Reid. 1993/2. Nosocomial infections in surgical patients in the United States, January 1986-June 1992. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 14:73-80.
- 15 27. Josefsson, E., O. Hartford, L. O'Brien, J. M. Patti, and T. Foster. 2001. Protection against experimental *Staphylococcus aureus* arthritis by vaccination with clumping factor A, a novel virulence determinant. *J Infect Dis* 184:1572-80.
- 20 28. Joyce, J. G., C. Abeygunawardana, Q. Xu, J. C. Cook, R. Hepler, C. T. Przysiecki, K. M. Grimm, K. Roper, C. C. Ip, L. Cope, D. Montgomery, M. Chang, S. Campie, M. Brown, T. B. McNeely, J. Zorman, T. Maira-Litran, G. B. Pier, P. M. Keller, K. U. Jansen, and G. E. Mark. 2003. Isolation, structural characterization, and immunological evaluation of a high-molecular-weight exopolysaccharide from *Staphylococcus aureus*. *Carbohydr Res* 338:903-22.
- 25 29. Kennedy, A. D., J. Bubeck-Wardenburg, D. J. Gardner, D. Long, A. R. Whitney, K. R. Braughton, O. Schneewind, and F. R. DeLeo. 2010. Targeting of alpha-hemolysin by active or passive immunization decreases severity of USA300 skin infection in a mouse model. *J Infect Dis* 202:1050-8.
- 30 30. Kim, H. K., A. DeDent, A. G. Cheng, M. McAdow, F. Bagnoli, D. M. Missiakas, and O. Schneewind. 2010. IsdA and IsdB antibodies protect mice against *Staphylococcus aureus* abscess formation and lethal challenge. *Vaccine* 28:6382-92.
- 35 31. Klevens, R. M., M. A. Morrison, J. Nadle, S. Petit, K. Gershman, S. Ray, L. H. Harrison, R. Lynfield, G. Dumyati, J. M. Townes, A. S. Craig, E. R. Zell, G. E. Fosheim, L. K. McDougal, R. B. Carey, and S. K. Fridkin. 2007/10/17. Invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in the United States. *JAMA*. 298:1763-1771.
- 40 32. Knobloch, J. K., M. A. Horstkotte, H. Rohde, and D. Mack. 2002. Evaluation of different detection methods of biofilm formation in *Staphylococcus aureus*. *Med Microbiol Immunol* 191:101-6.
- 45 33. Kuklin, N. A., D. J. Clark, S. Secore, J. Cook, L. D. Cope, T. McNeely, L. Noble, M. J. Brown, J. K. Zorman, X. M. Wang, G. Pancari, H. Fan, K. Isett, B. Burgess, J. Bryan, M. Brownlow, H. George, M. Meinz, M. E. Liddell, R. Kelly, L. Schultz, D. Montgomery, J. Onishi, M. Losada, M. Martin, T. Ebert, C. Y. Tan, T. L. Schofield, E. Nagy, A. Meineke, J. G. Joyce, M. B. Kurtz, M. J. Caulfield, K. U. Jansen, W. McClements, and A. S. Anderson. 2006. A novel *Staphylococcus aureus* vaccine: iron surface determinant B induces rapid antibody responses in rhesus macaques and specific increased survival in a murine *S. aureus* sepsis model. *Infect Immun* 74:2215-23.
- 50 34. Leid, J. G., M. E. Shirliff, J. W. Costerton, and A. P. Stoodley. 2002. Human leukocytes adhere to, penetrate, and respond to *Staphylococcus aureus* biofilms. *Infection and Immunity* 70:6339-45.
- 55 35. Li, D., K. Gromov, K. Soballe, J. E. Puzas, R. J. O'Keefe, H. Awad, H. Drissi, and E. M. Schwarz. 2008/1. Quantitative mouse model of implant-associated osteomyelitis and the kinetics of microbial growth, osteolysis, and humoral immunity. *J Orthop. Res.* 26:96-105.
- 60 36. Lindsay, J. A., and M. T. Holden. 2004/8. *Staphylococcus aureus*: superbug, super genome? *Trends Microbiol* 12:378-385.
- 65 37. Mader, J. T., and M. E. Shirliff. 1999. The rabbit model of bacterial osteomyelitis of the tibia. Academic Press Ltd., London, England.
38. Maira-Litran, T., A. Kropec, D. A. Goldmann, and G. B. Pier. 2005. Comparative opsonic and protective activities of *Staphylococcus aureus* conjugate vaccines containing native or deacetylated *Staphylococcal* Poly-N-acetyl-beta-(1-6)-glucosamine. *Infect Immun* 73:6752-62.
39. McCarthy, A. J., and J. A. Lindsay. 2010. Genetic variation in *Staphylococcus aureus* surface and immune evasion genes is lineage associated: implications for vaccine design and host-pathogen interactions. *BMC Microbiol* 10:173.
40. McKenney, D., J. Hubner, E. Muller, Y. Wang, D. A. Goldmann, and G. B. Pier. 1998. The *ica* locus of *Staphylococcus epidermidis* encodes production of the capsular polysaccharide/adhesin. *Infect Immun* 66:4711-20.

41. McKenney, D., K. L. Pouliot, Y. Wang, V. Murthy, M. Ulrich, G. Doring, J. C. Lee, D. A. Goldmann, and G. B. Pier. 1999. Broadly protective vaccine for *Staphylococcus aureus* based on an in vivo-expressed antigen. *Science* 284:1523-7.
- 5 42. Megyeri, K., Y. Mandi, M. Degre, and I. Rosztoczy. 2002. Induction of cytokine production by different *Staphylococcal* strains. *Cytokine* 19:206-12.
43. Modun, B., R. W. Evans, C. L. Joannou, and P. Williams. 1998. Receptor-mediated recognition and uptake of iron from human transferrin by *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *Infect Immun* 66:3591-6.
- 10 44. Ni Eidhin, D., S. Perkins, P. Francois, P. Vaudaux, M. Hook, and T. J. Foster. 1998. Clumping factor B (ClfB), a new surface-located fibrinogen-binding adhesin of *Staphylococcus aureus*. *Mol Microbiol* 30:245-57.
45. Nippe, N., G. Varga, D. Holzinger, B. Loffler, E. Medina, K. Becker, J. Roth, J. M. Ehrchen, and C. Sunderkotter. 2011. Subcutaneous infection with *S. aureus* in mice reveals association of resistance with influx of neutrophils and Th2 response. *J Invest Dermatol* 131:125-32.
- 15 46. Nishimura, S., T. Tsurumoto, A. Yonekura, K. Adachi, and H. Shindo. 2006. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms isolated from infected total hip arthroplasty cases. *J Orthop Sci* 11:46-50.
- 20 47. Peters, B. M., M. A. Jabra-Rizk, M. A. Scheper, J. G. Leid, J. W. Costerton, and M. E. Shirtliff. Microbial interactions and differential protein expression in *Staphylococcus aureus* -*Candida albicans* dual-species biofilms. *FEMS Immunol Med Microbiol* 59:493-503.
- 25 48. Pohlmann-Dietze, P., M. Ulrich, K. B. Kiser, G. Doring, J. C. Lee, J. M. Fournier, K. Botzenhart, and C. Wolz. 2000. Adherence of *Staphylococcus aureus* to endothelial cells: influence of capsular polysaccharide, global regulator agr, and bacterial growth phase. *Infect Immun* 68:4865-71.
- 30 49. Prabhakara, R., J. M. Harro, J. G. Leid, M. Harris, and M. E. Shirtliff. 2011. Murine immune response to a chronic *Staphylococcus aureus* biofilm infection. *Infection and Immunity* 79:1789-96.
50. Prabhakara, R., J. M. Harro, J. G. Leid, A. D. Keegan, M. L. Prior, and M. E. Shirtliff. 2011. Suppression of the Inflammatory Immune Response Prevents the Development of Chronic Biofilm Infection Due to Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Infection and Immunity* 79:5010-8.
- 35 51. Raad, I. I., R. Darouiche, R. Hachem, M. Sacilowski, and G. P. Bodey. 1995. Antibiotics and prevention of microbial colonization of catheters. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 39:2397-400.
- 40 52. Raedler, M. D., S. Heyne, E. Wagner, S. K. Shalkowski, S. Secore, A. S. Anderson, J. Cook, L. Cope, T. McNeely, M. Retzlaff, J. Shanter, L. J. Rubinstein, T. Green, N. Kartsonis, and M. T. Esser. 2009. Serologic assay to quantify human immunoglobulin G antibodies to the *Staphylococcus aureus* iron surface determinant B antigen. *Clin Vaccine Immunol* 16:739-48.
- 45 53. Rohde, H., J. K. Knobloch, M. A. Horstkotte, and D. Mack. 2001. Correlation of *Staphylococcus aureus* icaADBC genotype and biofilm expression phenotype. *J Clin Microbiol* 39:4595-6.
54. Sanderson, P. J. 1991. Infection in orthopaedic implants. *Journal of Hospital Infection* 18 Suppl A:367-75.
- 50 55. Saravia-Otten, P., H. P. Muller, and S. Arvidson. 1997. Transcription of *Staphylococcus aureus* fibronectin binding protein genes is negatively regulated by agr and an agr-independent mechanism. *J Bacteriol* 179:5259-63.
56. Schaffer, A. C., and J. C. Lee. 2008. Vaccination and passive immunisation against *Staphylococcus aureus*. *Int J Antimicrob Agents* 32 Suppl 1:S71-8.
- 55 57. Schaffer, A. C., R. M. Solinga, J. Cocchiario, M. Portoles, K. B. Kiser, A. Risley, S. M. Randall, V. Valtulina, P. Speziale, E. Walsh, T. Foster, and J. C. Lee. 2006. Immunization with *Staphylococcus aureus* clumping factor B, a major determinant in nasal carriage, reduces nasal colonization in a murine model. *Infect Immun* 74:2145-53.
- 60 58. Sebulsky, M. T., D. Hohnstein, M. D. Hunter, and D. E. Heinrichs. 2000. Identification and characterization of a membrane permease involved in iron-hydroxamate transport in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol* 182:4394-400.
- 65 59. Shinefield, H., S. Black, A. Fattom, G. Horwith, S. Rasgon, J. Ordonez, H. Yeoh, D. Law, J. B. Robbins, R. Schneerson, L. Muenz, S. Fuller, J. Johnson, B. Fireman, H. Alcorn, and R. Naso. 2002. Use of a *Staphylococcus aureus* conjugate vaccine in patients receiving hemodialysis. *N Engl J Med* 346:491-6.

60. Shirliff, M. E., J. H. Calhoun, and J. T. Mader. 2002. Gatifloxacin efficacy in treatment of experimental methicillinsensitive *Staphylococcus aureus*-induced osteomyelitis in rabbits. *Antimicrob Agents Chemother* 46:231-3.
- 5 61. Stranger-Jones, Y. K., T. Bae, and O. Schneewind. 2006. Vaccine assembly from surface proteins of *Staphylococcus aureus*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:16942-7.
62. Torres, V. J., G. Pishchany, M. Humayun, O. Schneewind, and E. P. Skaar. 2006. *Staphylococcus aureus* IsdB is a hemoglobin receptor required for heme iron utilization. *J Bacteriol* 188:8421-9.
- 10 63. von Kockritz-Blickwede, M., M. Rohde, S. Oehmcke, L. S. Miller, A. L. Cheung, H. Herwald, S. Foster, and E. Medina. 2008. Immunological mechanisms underlying the genetic predisposition to severe *Staphylococcus aureus* infection in the mouse model. *Am J Pathol* 173:1657-68.
- 15 64. Wang, R., K. R. Braughton, D. Kretschmer, T. H. Bach, S. Y. Queck, M. Li, A. D. Kennedy, D. W. Dorward, S. J. Klebanoff, A. Peschel, F. R. DeLeo, and M. Otto. 2007/12. Identification of novel cytolytic peptides as key virulence determinants for community-associated MRSA. *Nat.Med.* 13:1510-1514.
- 20 65. Zhou, H., Z. Y. Xiong, H. P. Li, Y. L. Zheng, and Y. Q. Jiang. 2006. An immunogenicity study of a newly fusion protein Cna-FnBP vaccinated against *Staphylococcus aureus* infections in a mice model. *Vaccine* 24:4830-7.
66. Sauer, K., A. K. Camper, G. D. Ehrlich, J. W. Costerton, and D. G. Davies. 2002. *Pseudomonas aeruginosa* Displays Multiple Phenotypes during Development as a Biofilm. *J. Bacteriol.* 184:1140-1154.

Lista de secuencias

- 25 <110> SHIRTLIFF, Mark E.
HARRO, Janette M.
LEID, Jeffrey G.
- 30 <120> Protección multivalente de la vacuna contra la infección por staphylococcus aureus
- <130> 59966
- <150> US 61/606,750<151> 2012-03-05
- 35 <160> 36
- <170> PatentIn version 3.5
- 40 <210> 1
<211> 24
<212> ADN
<213> Secuencia artificial
- 45 <220>
<223> Cebador PCR 5' SA0037
- <400> 1
atgaatacaa tcaaaactac gaaa 24
- 50 <210> 2
<211> 37
<212> ADN
<213> Secuencia artificial
- 55 <220>
<223> Cebador PCR 3' SA0037
- <400> 2
cttctcatcg tcactctgatt tcaaaatcca ttttga 37
- 60 <210> 3
<211> 43
<212> ADN
- 65 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Cebador PCR 5' Lipasa

 <400> 3
 5 actctaggct tcaactccat ctgaaacaac attatgacca aat 43

 <210> 4
 <211> 45
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Cebador PCR 3' Lipasa

 <400> 4
 15 atggtaggtc tcatatcata aaggatttaa cggtaatca ttact 45

 <210> 5
 <211> 43
 20 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Cebador PCR 5' SA0688
 25
 <400> 5
 atggtaggtc tcaactccgat aagtc aaatg gcaaaactaa agt 43

 <210> 6
 30 <211> 40
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 35 <223> Cebador PCR 3' SA0688

 <400> 6
 atggtaggtc tcatatcatt tcatgctcc ggtacagtt 40

 40 <210> 7
 <211> 43
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 45 <220>
 <223> Cebador PCR 5' Glucosaminidasa

 <400> 7
 50 atggtaggtc tcaactccgct tatactgtta ctaaaccaca aac 43

 <210> 8
 <211> 44
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 55
 <220>
 <223> Cebador PCR 3' Glucosaminidasa

 <400> 8
 60 atggtaggtc tcatatcatt tatattgtgg gatgtcgaag tatt 44

 <210> 9
 <211> 43
 <212> ADN
 65 <213> Secuencia artificial

ES 2 642 892 T3

<220>
 <223> Cebador PCR 5' SA0486

<400> 9
 5 actctaggtc tcaactccaaa gaagattcaa aagaagaaca aat 43

<210> 10
 <211> 40
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Cebador PCR 3' SA0486

<400> 10
 15 atggtaggtc tcatatcagc tatcttcatc agacggccca 40

<210> 11
 <211> 28
 20 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Cebador PCR 5' SA0119

<400> 11
 25 catgccatgg acacgacttc aatgaatg 28

<210> 12
 <211> 57
 30 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Cebador PCR 3' SA0119

<400> 12
 35 agctttgttt aaactcaatg atgatgatga tgatgaactt tttgttact ttggttc 57

<210> 13
 <211> 168
 <212> PRT
 <213> Staphylococcus aureus

<400> 13
 45

Met Asn Thr Ile Lys Asn Thr Ile Tyr Thr Glu Ala Ile Phe Ser Lys
 1 5 10 15

Asp Glu Lys His Arg Tyr Leu Leu Lys Lys Thr Trp Asp Glu Lys Lys
 20 25 30

Pro Ala Cys Thr Val Ile Thr Met Tyr Pro His Leu Asp Gly Val Leu
 35 40 45

Ser Leu Asp Leu Thr Thr Val Leu Ile Leu Asn Gln Leu Ala Asn Ser
 50 55 60

Glu Arg Tyr Gly Ala Val Tyr Leu Val Asn Leu Phe Ser Asn Ile Lys
 65 70 75 80

ES 2 642 892 T3

Thr Pro Glu Asn Leu Lys His Ile Lys Glu Pro Tyr Asp Lys His Thr
 85 90 95

Asp Ile His Leu Met Lys Ala Ile Ser Glu Ser Asp Thr Val Ile Leu
 100 105 110

Ala Tyr Gly Ala Tyr Ala Lys Arg Pro Val Val Val Glu Arg Val Glu
 115 120 125

Gln Val Met Glu Met Leu Lys Pro His Lys Lys Lys Val Lys Lys Leu
 130 135 140

Ile Asn Pro Ala Thr Asn Glu Ile Met His Pro Leu Asn Pro Lys Ala
 145 150 155 160

Arg Gln Lys Trp Thr Leu Lys Ala
 165

- <210> 14
- <211> 241
- 5 <212> PRT
- <213> Staphylococcus aureus
- <400> 14

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

Val Phe Ser Ser Met Pro Phe Gln Asn Ala His Ala Asp Thr Thr Ser
 20 25 30

Met Asn Val Pro Asn Lys Gln Ser Gln Asn Val Gln Asn His Arg Pro
 35 40 45

Tyr Gly Gly Val Val Pro Gln Gly Met Thr Gln Ala Gln Tyr Thr Glu
 50 55 60

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

Tyr Asn Met Lys Leu Tyr Asp Ala Thr Gln Asn Ile Ala Asp Lys Tyr
 85 90 95

Asn Val Ile Ile Thr Thr Asn Val Gly Val Phe Lys Pro His Ala Val
 100 105 110

Arg Asp Met Asn Gly His Ala Leu Pro Leu Thr Lys Asp Gly Asn Phe
 115 120 125

10

ES 2 642 892 T3

Tyr Gln Thr Asn Val Asp Ala Asn Gly Val Asn His Gly Gly Ser Glu
 130 135 140

Met Val Gln Asn Lys Thr Gly His Met Ser Gln Gln Asp His Met Asn
 145 150 155 160

Gln Asn Thr His Met Asn Gln Gln Pro Gln Ile Gln Gln Gly His Met
 165 170 175

Gln Ser Ser Asn His Gln Met Met Ser Pro Lys Ala Asn Met His Ser
 180 185 190

Ser Asn His Gln Met Asn Gln Ser Asn Lys Lys Val Leu Pro Ala Ala
 195 200 205

Gly Glu Ser Met Thr Ser Ser Ile Leu Thr Ala Ser Ile Ala Ala Leu
 210 215 220

Leu Leu Val Ser Gly Leu Phe Leu Ala Phe Arg Arg Arg Ser Thr Asn
 225 230 235 240

Lys

- <210> 15
- <211> 270
- 5 <212> PRT
- <213> Staphylococcus aureus
- <400> 15

Met Lys Tyr Lys Thr Glu Arg Arg Glu Met Met Gly Asn Ile Lys Ser
 1 5 10 15

Phe Ala Leu Tyr Ile Ser Ile Leu Leu Leu Ile Val Val Val Ala Gly
 20 25 30

Cys Gly Lys Ser Asp Lys Thr Lys Glu Asp Ser Lys Glu Glu Gln Ile
 35 40 45

Lys Lys Ser Phe Ala Lys Thr Leu Asp Met Tyr Pro Ile Lys Asn Leu
 50 55 60

Glu Asp Leu Tyr Asp Lys Glu Gly Tyr Arg Asp Gly Glu Phe Lys Lys
 65 70 75 80

Gly Asp Lys Gly Thr Trp Thr Leu Leu Thr Ser Phe Ser Lys Ser Asn
 85 90 95

10

ES 2 642 892 T3

Lys Pro Asp Glu Ile Asp Asp Glu Gly Met Val Leu Tyr Leu Asn Arg
 100 105 110

Asn Thr Lys Lys Ala Thr Gly Tyr Tyr Phe Val Asn Lys Ile Tyr Asp
 115 120 125

Asp Ile Ser Lys Asn Gln Asn Glu Lys Lys Tyr Arg Val Glu Leu Lys
 130 135 140

Asn Asn Lys Ile Val Leu Leu Asp Asn Val Glu Asp Glu Lys Leu Lys
 145 150 155 160

Gln Lys Ile Glu Asn Phe Lys Phe Phe Ser Gln Tyr Ala Asp Phe Lys
 165 170 175

Asp Leu Lys Asn Tyr Gln Asp Gly Ser Ile Thr Thr Asn Glu Asn Ile
 180 185 190

Pro Ser Tyr Glu Ala Glu Tyr Lys Leu Asn Asn Ser Asp Glu Asn Val
 195 200 205

Lys Lys Leu Arg Asp Ile Tyr Pro Ile Thr Thr Lys Lys Ala Pro Ile
 210 215 220

Leu Lys Leu His Ile Asp Gly Asp Ile Lys Gly Ser Ser Val Gly Tyr
 225 230 235 240

Lys Lys Ile Glu Tyr Lys Phe Ser Lys Val Lys Asp Gln Glu Thr Thr
 245 250 255

Leu Arg Asp Tyr Leu Asn Phe Gly Pro Ser Asp Glu Asp Ser
 260 265 270

<210> 16
 <211> 309
 <212> PRT
 <213> Staphylococcus aureus

5

<400> 16

Met Lys Lys Leu Val Pro Leu Leu Leu Ala Leu Leu Leu Leu Val Ala
 1 5 10 15

Ala Cys Gly Thr Gly Gly Lys Gln Ser Ser Asp Lys Ser Asn Gly Lys
 20 25 30

Leu Lys Val Val Thr Thr Asn Ser Ile Leu Tyr Asp Met Ala Lys Asn
 35 40 45

10

ES 2 642 892 T3

Val Gly Gly Asp Asn Val Asp Ile His Ser Ile Val Pro Val Gly Gln
50 55 60

Asp Pro His Glu Tyr Glu Val Lys Pro Lys Asp Ile Lys Lys Leu Thr
65 70 75 80

Asp Ala Asp Val Ile Leu Tyr Asn Gly Leu Asn Leu Glu Thr Gly Asn
85 90 95

Gly Trp Phe Glu Lys Ala Leu Glu Gln Ala Gly Lys Ser Leu Lys Asp
100 105 110

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

Gly Glu Glu Gly Asn Lys Asp Lys Gln Asp Pro His Ala Trp Leu Ser
130 135 140

Leu Asp Asn Gly Ile Lys Tyr Val Lys Thr Ile Gln Gln Thr Phe Ile
145 150 155 160

Asp Asn Asp Lys Lys His Lys Ala Asp Tyr Glu Lys Gln Gly Asn Lys
165 170 175

Tyr Ile Ala Gln Leu Glu Lys Leu Asn Asn Asp Ser Lys Asp Lys Phe
180 185 190

Asn Asp Ile Pro Lys Glu Gln Arg Ala Met Ile Thr Ser Glu Gly Ala
195 200 205

Phe Lys Tyr Phe Ser Lys Gln Tyr Gly Ile Thr Pro Gly Tyr Ile Trp
210 215 220

Glu Ile Asn Thr Glu Lys Gln Gly Thr Pro Glu Gln Met Arg Gln Ala
225 230 235 240

Ile Glu Phe Val Lys Lys His Lys Leu Lys His Leu Leu Val Glu Thr
245 250 255

Ser Val Asp Lys Lys Ala Met Glu Ser Leu Ser Glu Glu Thr Lys Lys
260 265 270

Asp Ile Phe Gly Glu Val Tyr Thr Asp Ser Ile Gly Lys Glu Gly Thr
275 280 285

Lys Gly Asp Ser Tyr Tyr Lys Met Met Lys Ser Asn Ile Glu Thr Val
290 295 300

His Gly Ser Met Lys
305

ES 2 642 892 T3

<210> 17
 <211> 1257
 <212> PRT
 <213> Staphylococcus aureus

5

<400> 17

```

Met Ala Lys Lys Phe Asn Tyr Lys Leu Pro Ser Met Val Ala Leu Thr
 1          5          10          15

Leu Val Gly Ser Ala Val Thr Ala His Gln Val Gln Ala Ala Glu Thr
          20          25          30

Thr Gln Asp Gln Thr Thr Asn Lys Asn Val Leu Asp Ser Asn Lys Val
          35          40          45

Lys Ala Thr Thr Glu Gln Ala Lys Ala Glu Val Lys Asn Pro Thr Gln
 50          55          60

Asn Ile Ser Gly Thr Gln Val Tyr Gln Asp Pro Ala Ile Val Gln Pro
65          70          75          80

Lys Ala Ala Asn Lys Thr Gly Asn Ala Gln Val Asn Gln Lys Val Asp
          85          90          95

Thr Thr Gln Val Asn Gly Asp Thr Arg Ala Thr Gln Ser Thr Thr Ser
          100          105          110

Asn Asn Ala Lys Pro Val Thr Lys Ser Thr Asn Thr Thr Ala Pro Lys
          115          120          125

Thr Asn Asn Asn Val Thr Ser Ala Gly Tyr Ser Leu Val Asp Asp Glu
          130          135          140

Asp Asp Asn Ser Glu Asn Gln Ile Asn Pro Glu Leu Ile Lys Ser Ala
145          150          155          160

Ala Lys Pro Ala Ala Leu Glu Thr Gln Tyr Lys Ala Ala Ala Pro Lys
          165          170          175

Ala Thr Pro Val Ala Pro Lys Ala Lys Thr Glu Ala Thr Pro Lys Val
          180          185          190

Thr Thr Phe Ser Ala Ser Ala Gln Pro Arg Ser Ala Ala Ala Ala Pro
          195          200          205
    
```

ES 2 642 892 T3

Lys Thr Ser Leu Pro Lys Tyr Lys Pro Gln Val Asn Ser Ser Ile Asn
 210 215 220

Asp Tyr Ile Arg Lys Asn Asn Leu Lys Ala Pro Lys Ile Glu Glu Asp
 225 230 235 240

Tyr Thr Ser Tyr Phe Pro Lys Tyr Ala Tyr Arg Asn Gly Val Gly Arg
 245 250 255

Pro Glu Gly Ile Val Val His Asp Thr Ala Asn Asp Arg Ser Thr Ile
 260 265 270

Asn Gly Glu Ile Ser Tyr Met Lys Asn Asn Tyr Gln Asn Ala Phe Val
 275 280 285

His Ala Phe Val Asp Gly Asp Arg Ile Ile Glu Thr Ala Pro Thr Asp
 290 295 300

Tyr Leu Ser Trp Gly Val Gly Ala Val Gly Asn Pro Arg Phe Ile Asn
 305 310 315 320

Val Glu Ile Val His Thr His Asp Tyr Ala Ser Phe Ala Arg Ser Met
 325 330 335

Asn Asn Tyr Ala Asp Tyr Ala Ala Thr Gln Leu Gln Tyr Tyr Gly Leu
 340 345 350

Lys Pro Asp Ser Ala Glu Tyr Asp Gly Asn Gly Thr Val Trp Thr His
 355 360 365

Tyr Ala Val Ser Lys Tyr Leu Gly Gly Thr Asp His Ala Asp Pro His
 370 375 380

Gly Tyr Leu Arg Ser His Asn Tyr Ser Tyr Asp Gln Leu Tyr Asp Leu
 385 390 395 400

Ile Asn Glu Lys Tyr Leu Ile Lys Met Gly Lys Val Ala Pro Trp Gly
 405 410 415

Thr Gln Ser Thr Thr Thr Pro Thr Thr Pro Ser Lys Pro Ser Thr Pro
 420 425 430

Ser Lys Pro Ser Thr Pro Ser Thr Gly Lys Leu Thr Val Ala Ala Asn
 435 440 445

Asn Gly Val Ala Gln Ile Lys Pro Thr Asn Ser Gly Leu Tyr Thr Thr
 450 455 460

ES 2 642 892 T3

Val Tyr Asp Lys Thr Gly Lys Ala Thr Asn Glu Val Gln Lys Thr Phe
465 470 475 480

Ala Val Ser Lys Thr Ala Thr Leu Gly Asn Gln Lys Phe Tyr Leu Val
485 490 495

Gln Asp Tyr Asn Ser Gly Asn Lys Phe Gly Trp Val Lys Glu Gly Asp
500 505 510

Val Val Tyr Asn Thr Ala Lys Ser Pro Val Asn Val Asn Gln Ser Tyr
515 520 525

Ser Ile Lys Pro Gly Thr Lys Leu Tyr Thr Val Pro Trp Gly Thr Ser
530 535 540

Lys Gln Val Ala Gly Ser Val Ser Gly Ser Gly Asn Gln Thr Phe Lys
545 550 555 560

Ala Ser Lys Gln Gln Gln Ile Asp Lys Ser Ile Tyr Leu Tyr Gly Ser
565 570 575

Val Asn Gly Lys Ser Gly Trp Val Ser Lys Ala Tyr Leu Val Asp Thr
580 585 590

Ala Lys Pro Thr Pro Thr Pro Thr Pro Lys Pro Ser Thr Pro Thr Thr
595 600 605

Asn Asn Lys Leu Thr Val Ser Ser Leu Asn Gly Val Ala Gln Ile Asn
610 615 620

Ala Lys Asn Asn Gly Leu Phe Thr Thr Val Tyr Asp Lys Thr Gly Lys
625 630 635 640

Pro Thr Lys Glu Val Gln Lys Thr Phe Ala Val Thr Lys Glu Ala Ser
645 650 655

Leu Gly Gly Asn Lys Phe Tyr Leu Val Lys Asp Tyr Asn Ser Pro Thr
660 665 670

Leu Ile Gly Trp Val Lys Gln Gly Asp Val Ile Tyr Asn Asn Ala Lys
675 680 685

Ser Pro Val Asn Val Met Gln Thr Tyr Thr Val Lys Pro Gly Thr Lys
690 695 700

Leu Tyr Ser Val Pro Trp Gly Thr Tyr Lys Gln Glu Ala Gly Ala Val

ES 2 642 892 T3

705 710 715 720
 Ser Gly Thr Gly Asn Gln Thr Phe Lys Ala Thr Lys Gln Gln Gln Ile
 725 730 735
 Asp Lys Ser Ile Tyr Leu Tyr Gly Thr Val Asn Gly Lys Ser Gly Trp
 740 745 750
 Ile Ser Lys Ala Tyr Leu Ala Val Pro Ala Ala Pro Lys Lys Ala Val
 755 760 765
 Ala Gln Pro Lys Thr Ala Val Lys Ala Tyr Ala Val Thr Lys Pro Gln
 770 775 780
 Thr Thr Gln Thr Val Ser Lys Ile Ala Gln Val Lys Pro Asn Asn Thr
 785 790 795 800
 Gly Ile Arg Ala Ser Val Tyr Glu Lys Thr Ala Lys Asn Gly Ala Lys
 805 810 815
 Tyr Ala Asp Arg Thr Phe Tyr Val Thr Lys Glu Arg Ala His Gly Asn
 820 825 830
 Glu Thr Tyr Val Leu Leu Asn Asn Thr Ser His Asn Ile Pro Leu Gly
 835 840 845
 Trp Phe Asn Val Lys Asp Leu Asn Val Gln Asn Leu Gly Lys Glu Val
 850 855 860
 Lys Thr Thr Gln Lys Tyr Thr Val Asn Arg Ser Asn Asn Gly Leu Ser
 865 870 875 880
 Met Val Pro Trp Gly Thr Lys Asn Gln Val Ile Leu Thr Gly Asn Asn
 885 890 895
 Ile Ala Gln Gly Thr Phe Asn Ala Thr Lys Gln Val Ser Val Gly Lys
 900 905 910
 Asp Val Tyr Leu Tyr Gly Thr Ile Asn Asn Arg Thr Gly Trp Val Asn
 915 920 925
 Ser Lys Asp Leu Thr Ala Pro Thr Ala Val Lys Pro Thr Thr Ser Ala
 930 935 940
 Ala Lys Asp Tyr Asn Tyr Thr Tyr Val Ile Lys Asn Gly Asn Gly Tyr
 945 950 955 960

ES 2 642 892 T3

Tyr Tyr Val Thr Pro Asn Ser Asp Thr Ala Lys Tyr Ser Leu Lys Ala
 965 970 975
 Phe Asn Glu Gln Pro Phe Ala Val Val Lys Glu Gln Val Ile Asn Gly
 980 985 990
 Gln Thr Trp Tyr Tyr Gly Lys Leu Ser Asn Gly Lys Leu Ala Trp I
 995 1000 1005
 Lys Ser Thr Asp Leu Ala Lys Glu Leu Ile Lys Tyr Asn Gln Ile
 1010 1015 1020
 Gly Met Thr Leu Asn Gln Val Ala Gln Ile Gln Ala Gly Leu Gln
 1025 1030 1035
 Tyr Lys Pro Gln Val Gln Arg Val Pro Gly Lys Trp Thr Asp Ala
 1040 1045 1050
 Asn Phe Asn Asp Val Lys His Ala Met Asp Thr Lys Arg Leu Ala
 1055 1060 1065
 Gln Asp Pro Ala Leu Lys Tyr Gln Phe Leu Arg Leu Asp Gln Pro
 1070 1075 1080
 Gln Asn Ile Ser Ile Asp Lys Ile Asn Gln Phe Leu Lys Gly Lys
 1085 1090 1095
 Gly Val Leu Glu Asn Gln Gly Ala Ala Phe Asn Lys Ala Ala Gln
 1100 1105 1110
 Met Tyr Gly Ile Asn Glu Val Tyr Leu Ile Ser His Ala Leu Leu
 1115 1120 1125
 Glu Thr Gly Asn Gly Thr Ser Gln Leu Ala Lys Gly Ala Asp Val
 1130 1135 1140
 Val Asn Asn Lys Val Val Thr Asn Ser Asn Thr Lys Tyr His Asn
 1145 1150 1155
 Val Phe Gly Ile Ala Ala Tyr Asp Asn Asp Pro Leu Arg Glu Gly
 1160 1165 1170
 Ile Lys Tyr Ala Lys Gln Ala Gly Trp Asp Thr Val Ser Lys Ala
 1175 1180 1185
 Ile Val Gly Gly Ala Lys Phe Ile Gly Asn Ser Tyr Val Lys Ala
 1190 1195 1200

ES 2 642 892 T3

Gly Gln Asn Thr Leu Tyr Lys Met Arg Trp Asn Pro Ala His Pro
 1205 1210 1215

Gly Thr His Gln Tyr Ala Thr Asp Val Asp Trp Ala Asn Ile Asn
 1220 1225 1230

Ala Lys Ile Ile Lys Gly Tyr Tyr Asp Lys Ile Gly Glu Val Gly
 1235 1240 1245

Lys Tyr Phe Asp Ile Pro Gln Tyr Lys
 1250 1255

<210> 18

<211> 451

5 <212> PRT

<213> Staphylococcus aureus

<400> 18

Met Lys Asp Glu Gln Leu Tyr Tyr Phe Glu Lys Ser Pro Val Phe Lys
 1 5 10 15

Ala Met Met His Phe Ser Leu Pro Met Met Ile Gly Thr Leu Leu Ser
 20 25 30

Val Ile Tyr Gly Ile Leu Asn Ile Tyr Phe Ile Gly Phe Leu Glu Asp
 35 40 45

Ser His Met Ile Ser Ala Ile Ser Leu Thr Leu Pro Val Phe Ala Ile
 50 55 60

Leu Met Gly Leu Gly Asn Leu Phe Gly Val Gly Ala Gly Thr Tyr Ile
 65 70 75 80

Ser Arg Leu Leu Gly Ala Lys Asp Tyr Ser Lys Ser Lys Phe Val Ser
 85 90 95

Ser Phe Ser Ile Tyr Gly Gly Ile Ala Leu Gly Leu Ile Val Ile Leu
 100 105 110

Val Thr Leu Pro Phe Ser Asp Gln Ile Ala Ala Ile Leu Gly Ala Arg
 115 120 125

Gly Glu Thr Leu Ala Leu Thr Ser Asn Tyr Leu Lys Val Met Phe Leu
 130 135 140

Ser Ala Pro Phe Val Ile Leu Phe Phe Ile Leu Glu Gln Phe Ala Arg
 145 150 155 160

ES 2 642 892 T3

Ala Ile Gly Ala Pro Met Val Ser Met Ile Gly Met Leu Ala Ser Val
 165 170 175

Gly Leu Asn Ile Ile Leu Asp Pro Ile Leu Ile Phe Gly Phe Asp Leu
 180 185 190

Asn Val Val Gly Ala Ala Leu Gly Thr Ala Ile Ser Asn Val Ala Ala
 195 200 205

Ala Leu Phe Phe Ile Ile Tyr Phe Met Lys Asn Ser Asp Val Val Ser
 210 215 220

Val Asn Ile Lys Leu Ala Lys Pro Asn Lys Glu Met Leu Ser Glu Ile
 225 230 235 240

Phe Lys Ile Gly Ile Pro Ala Phe Leu Met Ser Ile Leu Met Gly Phe
 245 250 255

Thr Gly Leu Val Leu Asn Leu Phe Leu Ala His Tyr Gly Asn Phe Ala
 260 265 270

Ile Ala Ser Tyr Gly Ile Ser Phe Arg Leu Val Gln Phe Pro Glu Leu
 275 280 285

Ile Ile Met Gly Leu Cys Glu Gly Val Val Pro Leu Ile Ala Tyr Asn
 290 295 300

Phe Met Ala Asn Lys Gly Arg Met Lys Asp Val Ile Lys Ala Val Ile
 305 310 315 320

Met Ser Ile Gly Val Ile Phe Val Val Cys Met Ser Ala Val Phe Thr
 325 330 335

Ile Gly His His Met Val Gly Leu Phe Thr Thr Asp Gln Ala Ile Val
 340 345 350

Glu Met Ala Thr Phe Ile Leu Lys Val Thr Met Ala Ser Leu Leu Leu
 355 360 365

Asn Gly Ile Gly Phe Leu Phe Thr Gly Met Leu Gln Ala Thr Gly Gln
 370 375 380

Gly Arg Gly Ala Thr Ile Met Ala Ile Leu Gln Gly Ala Ile Ile Ile
 385 390 395 400

Pro Val Leu Phe Ile Met Asn Ala Leu Phe Gly Leu Thr Gly Val Ile
 405 410 415

ES 2 642 892 T3

Trp Ser Leu Leu Ile Ala Glu Ser Leu Cys Ala Leu Ala Ala Met Leu
 420 425 430

Ile Val Tyr Leu Leu Arg Asp Arg Leu Thr Val Asp Thr Ser Glu Leu
 435 440 445

Ile Glu Gly
 450

- <210> 19
- <211> 2066
- 5 <212> PRT
- <213> Staphylococcus aureus
- <400> 19

Met Asn Glu Lys Val Glu Gly Met Thr Leu Glu Leu Lys Leu Asp His
 1 5 10 15

Leu Gly Val Gln Glu Gly Met Lys Gly Leu Lys Arg Gln Leu Gly Val
 20 25 30

Val Asn Ser Glu Met Lys Ala Asn Leu Ser Ala Phe Asp Lys Ser Glu
 35 40 45

Lys Ser Met Glu Lys Tyr Gln Ala Arg Ile Lys Gly Leu Asn Asp Arg
 50 55 60

Leu Lys Val Gln Lys Lys Met Tyr Ser Gln Val Glu Asp Glu Leu Lys
 65 70 75 80

Gln Val Asn Ala Asn Tyr Gln Lys Ala Lys Ser Ser Val Lys Asp Val
 85 90 95

Glu Lys Ala Tyr Leu Lys Leu Val Glu Ala Asn Lys Lys Glu Lys Leu
 100 105 110

Ala Leu Asp Lys Ser Lys Glu Ala Leu Lys Ser Ser Asn Thr Glu Leu
 115 120 125

Lys Lys Ala Glu Asn Gln Tyr Lys Arg Thr Asn Gln Arg Lys Gln Asp
 130 135 140

Ala Tyr Gln Lys Leu Lys Gln Leu Arg Asp Ala Glu Gln Lys Leu Lys
 145 150 155 160

Asn Ser Asn Gln Ala Thr Thr Ala Gln Leu Lys Arg Ala Ser Asp Ala
 165 170 175

ES 2 642 892 T3

Val Gln Lys Gln Ser Ala Lys His Lys Ala Leu Val Glu Gln Tyr Lys
 180 185 190

Gln Glu Gly Asn Gln Val Gln Lys Leu Lys Val Gln Asn Asp Asn Leu
 195 200 205

Ser Lys Ser Asn Asp Lys Ile Glu Ser Ser Tyr Ala Lys Thr Asn Thr
 210 215 220

Lys Leu Lys Gln Thr Glu Lys Glu Phe Asn Asp Leu Asn Asn Thr Ile
 225 230 235 240

Lys Asn His Ser Ala Asn Val Ala Lys Ala Glu Thr Ala Val Asn Lys
 245 250 255

Glu Lys Ala Ala Leu Asn Asn Leu Glu Arg Ser Ile Asp Lys Ala Ser
 260 265 270

Ser Glu Met Lys Thr Phe Asn Lys Glu Gln Met Ile Ala Gln Ser His
 275 280 285

Phe Gly Lys Leu Ala Ser Gln Ala Asp Val Met Ser Lys Lys Phe Ser
 290 295 300

Ser Ile Gly Asp Lys Met Thr Ser Leu Gly Arg Thr Met Thr Met Gly
 305 310 315 320

Val Ser Thr Pro Ile Thr Leu Gly Leu Gly Ala Ala Leu Lys Thr Ser
 325 330 335

Ala Asp Phe Glu Gly Gln Met Ser Arg Val Gly Ala Ile Ala Gln Ala
 340 345 350

Ser Ser Lys Asp Leu Lys Ser Met Ser Asn Gln Ala Val Asp Leu Gly
 355 360 365

Ala Lys Thr Ser Lys Ser Ala Asn Glu Val Ala Lys Gly Met Glu Glu
 370 375 380

Leu Ala Ala Leu Gly Phe Asn Ala Lys Gln Thr Met Glu Ala Met Pro
 385 390 395 400

Gly Val Ile Ser Ala Ala Glu Ala Ser Gly Ala Glu Met Ala Thr Thr
 405 410 415

Ala Thr Val Met Ala Ser Ala Ile Asn Ser Phe Gly Leu Lys Ala Ser

ES 2 642 892 T3

				420						425					430
Asp	Ala	Asn	His	Val	Ala	Asp	Leu	Leu	Ala	Arg	Ser	Ala	Asn	Asp	Ser
		435					440					445			
Ala	Ala	Asp	Ile	Gln	Tyr	Met	Gly	Asp	Ala	Leu	Lys	Tyr	Ala	Gly	Thr
	450					455					460				
Pro	Ala	Lys	Ala	Leu	Gly	Val	Ser	Ile	Glu	Asp	Thr	Ser	Ala	Ala	Ile
465					470					475					480
Glu	Val	Leu	Ser	Asn	Ser	Gly	Leu	Glu	Gly	Ser	Gln	Ala	Gly	Thr	Ala
				485					490					495	
Leu	Arg	Ala	Ser	Phe	Ile	Arg	Leu	Ala	Asn	Pro	Ser	Lys	Asn	Thr	Ala
			500					505					510		
Lys	Glu	Met	Lys	Lys	Leu	Gly	Ile	His	Leu	Ser	Asp	Ala	Lys	Gly	Gln
		515					520					525			
Phe	Val	Gly	Met	Gly	Glu	Leu	Ile	Arg	Gln	Phe	Gln	Asp	Asn	Met	Lys
	530					535					540				
Gly	Met	Thr	Arg	Glu	Gln	Lys	Leu	Ala	Thr	Val	Ala	Thr	Ile	Val	Gly
545					550					555					560
Thr	Glu	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Leu	Ala	Leu	Ile	Glu	Ala	Gly	Pro	Asp
				565					570					575	
Lys	Ile	Asn	Ser	Tyr	Ser	Lys	Ser	Leu	Lys	Asn	Ser	Asn	Gly	Glu	Ser
		580						585					590		
Lys	Lys	Ala	Ala	Asp	Leu	Met	Lys	Asp	Asn	Leu	Lys	Gly	Ala	Leu	Glu
		595				600						605			
Gln	Leu	Gly	Gly	Ala	Phe	Glu	Ser	Leu	Ala	Ile	Glu	Val	Gly	Lys	Asp
	610					615					620				
Leu	Thr	Pro	Met	Ile	Arg	Ala	Gly	Ala	Glu	Gly	Leu	Thr	Lys	Leu	Val
625					630					635					640
Asp	Gly	Phe	Thr	His	Leu	Pro	Gly	Trp	Val	Arg	Lys	Ala	Ser	Val	Gly
				645					650					655	
Leu	Ala	Leu	Phe	Gly	Ala	Ala	Ile	Gly	Pro	Ala	Val	Leu	Ala	Gly	Gly
			660					665					670		

ES 2 642 892 T3

Leu Leu Ile Arg Thr Val Gly Ser Ala Ala Lys Gly Tyr Ala Ser Leu
 675 680 685

Asn Arg Arg Ile Ala Glu Asn Thr Ile Leu Ser Asn Thr Asn Ser Lys
 690 695 700

Ala Met Lys Ser Leu Gly Leu Gln Thr Leu Phe Leu Gly Ser Thr Thr
 705 710 715 720

Gly Lys Thr Ser Lys Gly Phe Lys Gly Leu Ala Gly Ala Met Met Phe
 725 730 735

Asn Leu Lys Pro Ile Asn Val Leu Lys Asn Ser Ala Lys Leu Ala Ile
 740 745 750

Leu Pro Phe Lys Leu Leu Lys Asn Gly Leu Gly Leu Ala Ala Lys Ser
 755 760 765

Leu Phe Ala Val Ser Gly Gly Ala Arg Phe Ala Gly Val Ala Leu Arg
 770 775 780

Phe Leu Thr Gly Pro Ile Gly Ala Thr Ile Thr Ala Ile Thr Ile Ala
 785 790 795 800

Tyr Lys Val Phe Lys Thr Ala Tyr Asp Arg Val Glu Trp Phe Arg Asn
 805 810 815

Gly Ile Asn Gly Leu Gly Glu Thr Ile Lys Phe Phe Gly Gly Lys Ile
 820 825 830

Ile Gly Gly Ala Val Arg Lys Leu Gly Glu Phe Lys Asn Tyr Leu Gly
 835 840 845

Ser Ile Gly Lys Ser Phe Lys Glu Lys Phe Ser Lys Asp Met Lys Asp
 850 855 860

Gly Tyr Lys Ser Leu Ser Asp Asp Asp Leu Leu Lys Val Gly Val Asn
 865 870 875 880

Lys Phe Lys Gly Phe Met Gln Thr Met Gly Thr Ala Ser Lys Lys Ala
 885 890 895

Ser Asp Thr Val Lys Val Leu Gly Lys Gly Val Ser Lys Glu Thr Glu
 900 905 910

Lys Ala Leu Glu Lys Tyr Val His Tyr Ser Glu Glu Asn Ser Arg Ile
 915 920 925

ES 2 642 892 T3

Met Glu Lys Val Arg Leu Asn Ser Gly Gln Ile Ser Glu Asp Lys Ala
930 935 940

Lys Lys Leu Leu Lys Ile Glu Thr Asp Leu Ser Asn Asn Leu Ile Ala
945 950 955 960

Glu Ile Glu Lys Arg Asn Lys Lys Glu Leu Glu Lys Thr Gln Glu Leu
965 970 975

Ile Asp Lys Tyr Ser Ala Phe Asp Glu Gln Glu Lys Gln Asn Ile Leu
980 985 990

Thr Arg Thr Lys Glu Lys Asn Asp Leu Arg Ile Lys Lys Glu Gln Glu
995 1000 1005

Leu Asn Gln Lys Ile Lys Glu Leu Lys Glu Lys Ala Leu Ser Asp
1010 1015 1020

Gly Gln Ile Ser Glu Asn Glu Arg Lys Glu Ile Glu Lys Leu Glu
1025 1030 1035

Asn Gln Arg Arg Asp Ile Thr Val Lys Glu Leu Ser Lys Thr Glu
1040 1045 1050

Lys Glu Gln Glu Arg Ile Leu Val Arg Met Gln Arg Asn Arg Asn
1055 1060 1065

Ala Tyr Ser Ile Asp Glu Ala Ser Lys Ala Ile Lys Glu Ala Glu
1070 1075 1080

Lys Ala Arg Lys Ala Arg Lys Lys Glu Val Asp Lys Gln Tyr Glu
1085 1090 1095

Asp Asp Val Ile Ala Ile Lys Asn Asn Val Asn Leu Ser Lys Ser
1100 1105 1110

Glu Lys Asp Lys Leu Leu Ala Ile Ala Asp Gln Arg His Lys Asp
1115 1120 1125

Glu Val Arg Lys Ala Lys Ser Lys Lys Asp Ala Val Val Asp Val
1130 1135 1140

Val Lys Lys Gln Asn Lys Asp Ile Asp Lys Glu Met Asp Leu Ser
1145 1150 1155

Ser Gly Arg Val Tyr Lys Asn Thr Glu Lys Trp Trp Asn Gly Leu
1160 1165 1170

ES 2 642 892 T3

Lys Ser Trp Trp Ser Asn Phe Arg Glu Asp Gln Lys Lys Lys Ser
 1175 1180 1185
 Asp Lys Tyr Ala Lys Glu Gln Glu Glu Thr Ala Arg Arg Asn Arg
 1190 1195 1200
 Glu Asn Ile Lys Lys Trp Phe Gly Asn Ala Trp Asp Gly Val Lys
 1205 1210 1215
 Thr Lys Thr Gly Glu Ala Phe Ser Lys Met Gly Arg Asn Ala Asn
 1220 1225 1230
 His Phe Gly Gly Glu Met Lys Lys Met Trp Ser Gly Ile Lys Gly
 1235 1240 1245
 Ile Pro Ser Lys Leu Ser Ser Ser Trp Ser Ser Ala Lys Ser Ser
 1250 1255 1260
 Val Gly Tyr His Thr Lys Ala Ile Ala Asn Ser Thr Gly Lys Trp
 1265 1270 1275
 Phe Gly Lys Ala Trp Gln Ser Val Lys Ser Thr Thr Gly Ser Ile
 1280 1285 1290
 Tyr Asn Gln Thr Lys Gln Lys Tyr Ser Asp Ala Ser Asp Lys Ala
 1295 1300 1305
 Trp Ala His Ser Lys Ser Ile Trp Lys Gly Thr Ser Lys Trp Phe
 1310 1315 1320
 Ser Asn Ala Tyr Lys Ser Ala Lys Gly Trp Leu Thr Asp Met Ala
 1325 1330 1335
 Asn Lys Ser Arg Ser Lys Trp Asp Asn Ile Ser Ser Thr Ala Trp
 1340 1345 1350
 Ser Asn Ala Lys Ser Val Trp Lys Gly Thr Ser Lys Trp Phe Gly
 1355 1360 1365
 Asn Ser Tyr Lys Ser Leu Lys Gly Trp Thr Gly Asp Met Tyr Ser
 1370 1375 1380
 Arg Ala His Asp Arg Phe Asp Ala Ile Ser Ser Ser Ala Trp Ser
 1385 1390 1395
 Asn Ala Lys Ser Val Phe Asn Gly Phe Arg Lys Trp Leu Ser Lys

ES 2 642 892 T3

1400						1405									1410
Thr	Tyr	Asp	Trp	Ile	Arg	Asp	Ile	Gly	Lys	Asp	Met	Gly	Arg	Ala	
1415						1420					1425				
Ala	Ala	Asp	Leu	Gly	Lys	Asn	Val	Ala	Asn	Lys	Ala	Ile	Gly	Gly	
1430						1435					1440				
Leu	Asn	Ser	Met	Ile	Gly	Gly	Ile	Asn	Lys	Ile	Ser	Lys	Ala	Ile	
1445						1450					1455				
Thr	Asp	Lys	Asn	Leu	Ile	Lys	Pro	Ile	Pro	Thr	Leu	Ser	Thr	Gly	
1460						1465					1470				
Thr	Leu	Ala	Gly	Lys	Gly	Val	Ala	Thr	Asp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	
1475						1480					1485				
Thr	Gln	Pro	Thr	Phe	Ala	Val	Leu	Asn	Asp	Arg	Gly	Ser	Gly	Asn	
1490						1495					1500				
Ala	Pro	Gly	Gly	Gly	Val	Gln	Glu	Val	Ile	His	Arg	Ala	Asp	Gly	
1505						1510					1515				
Thr	Phe	His	Ala	Pro	Gln	Gly	Arg	Asp	Val	Val	Val	Pro	Leu	Gly	
1520						1525					1530				
Val	Gly	Asp	Ser	Val	Ile	Asn	Ala	Asn	Asp	Thr	Leu	Lys	Leu	Gln	
1535						1540					1545				
Arg	Met	Gly	Val	Leu	Pro	Lys	Phe	His	Gly	Gly	Thr	Lys	Lys	Lys	
1550						1555					1560				
Lys	Trp	Met	Glu	Gln	Val	Thr	Glu	Asn	Leu	Gly	Lys	Lys	Ala	Gly	
1565						1570					1575				
Asp	Phe	Gly	Ser	Lys	Ala	Lys	Asn	Thr	Ala	His	Asn	Ile	Lys	Lys	
1580						1585					1590				
Gly	Ala	Glu	Glu	Met	Val	Glu	Ala	Ala	Gly	Asp	Lys	Ile	Lys	Asp	
1595						1600					1605				
Gly	Ala	Ser	Trp	Leu	Gly	Asp	Lys	Ile	Gly	Asp	Val	Trp	Asp	Tyr	
1610						1615					1620				
Val	Gln	His	Pro	Gly	Lys	Leu	Val	Asn	Lys	Val	Met	Ser	Gly	Leu	
1625						1630					1635				

ES 2 642 892 T3

Asn Ile Asn Phe Gly Gly Gly Ala Asn Ala Thr Val Lys Ile Ala
 1640 1645 1650
 Lys Gly Ala Tyr Ser Leu Leu Lys Lys Lys Leu Val Asp Lys Val
 1655 1660 1665
 Lys Ser Trp Phe Glu Asp Phe Gly Gly Gly Gly Asp Gly Ser Tyr
 1670 1675 1680
 Leu Phe Asp His Pro Ile Trp Gln Arg Phe Gly Ser Tyr Thr Gly
 1685 1690 1695
 Gly Leu Asn Phe Asn Gly Gly Arg His Tyr Gly Ile Asp Phe Gly
 1700 1705 1710
 Met Pro Thr Gly Thr Asn Ile Tyr Ala Val Lys Gly Gly Ile Ala
 1715 1720 1725
 Asp Lys Val Trp Thr Asp Tyr Gly Gly Gly Asn Ser Ile Gln Ile
 1730 1735 1740
 Lys Thr Gly Ala Asn Glu Trp Asn Trp Tyr Met His Leu Ser Lys
 1745 1750 1755
 Gln Leu Ala Arg Gln Gly Gln Arg Ile Lys Ala Gly Gln Leu Ile
 1760 1765 1770
 Gly Lys Ser Gly Ala Thr Gly Asn Phe Val Arg Gly Ala His Leu
 1775 1780 1785
 His Phe Gln Leu Met Gln Gly Ser His Pro Gly Asn Asp Thr Ala
 1790 1795 1800
 Lys Asp Pro Glu Lys Trp Leu Lys Ser Leu Lys Gly Ser Gly Val
 1805 1810 1815
 Arg Ser Gly Ser Gly Val Asn Lys Ala Ala Ser Ala Trp Ala Gly
 1820 1825 1830
 Asp Ile Arg Arg Ala Ala Lys Arg Met Gly Val Asn Val Thr Ser
 1835 1840 1845
 Gly Asp Val Gly Asn Ile Ile Ser Leu Ile Gln His Glu Ser Gly
 1850 1855 1860
 Gly Asn Ala Gly Ile Thr Gln Ser Ser Ser Leu Arg Asp Ile Asn
 1865 1870 1875

ES 2 642 892 T3

Val Leu Gln Gly Asn Pro Ala Lys Gly Leu Leu Gln Tyr Ile Pro
 1880 1885 1890

Gln Thr Phe Arg His Tyr Ala Val Arg Gly His Asn Asn Ile Tyr
 1895 1900 1905

Ser Gly Tyr Asp Gln Leu Leu Ala Phe Phe Asn Asn Arg Tyr Trp
 1910 1915 1920

Arg Ser Gln Phe Asn Pro Arg Gly Gly Trp Ser Pro Ser Gly Pro
 1925 1930 1935

Arg Arg Tyr Ala Asn Gly Gly Leu Ile Thr Lys His Gln Leu Ala
 1940 1945 1950

Glu Val Gly Glu Gly Asp Lys Gln Glu Met Val Ile Pro Leu Thr
 1955 1960 1965

Arg Arg Lys Arg Ala Ile Gln Leu Thr Glu Gln Val Met Arg Ile
 1970 1975 1980

Ile Gly Met Asp Gly Lys Pro Asn Asn Ile Thr Val Asn Asn Asp
 1985 1990 1995

Thr Ser Thr Val Glu Lys Leu Leu Lys Gln Ile Val Met Leu Ser
 2000 2005 2010

Asp Lys Gly Asn Lys Leu Thr Asp Ala Leu Ile Gln Thr Val Ser
 2015 2020 2025

Ser Gln Asp Asn Asn Leu Gly Ser Asn Asp Ala Ile Arg Gly Leu
 2030 2035 2040

Glu Lys Ile Leu Ser Lys Gln Ser Gly His Arg Ala Asn Ala Asn
 2045 2050 2055

Asn Tyr Met Gly Gly Leu Thr Asn
 2060 2065

<210> 20

<211> 149

5 <212> PRT

<213> Staphylococcus aureus

<400> 20

Met Lys Lys Ser Lys Arg Leu Glu Ile Val Ser Thr Ile Val Lys Lys
 1 5 10 15

ES 2 642 892 T3

His Lys Ile Tyr Lys Lys Glu Gln Ile Ile Ser Tyr Ile Glu Glu Tyr
 20 25 30

Phe Gly Val Arg Tyr Ser Ala Thr Thr Ile Ala Lys Asp Leu Lys Glu
 35 40 45

Leu Asn Ile Tyr Arg Val Pro Ile Asp Cys Glu Thr Trp Ile Tyr Lys
 50 55 60

Ala Ile Asn Asn Gln Thr Glu Gln Glu Met Arg Glu Lys Phe Arg His
 65 70 75 80

Tyr Cys Glu His Glu Val Leu Ser Ser Ile Ile Asn Gly Ser Tyr Ile
 85 90 95

Ile Val Lys Thr Ser Pro Gly Phe Ala Gln Gly Ile Asn Tyr Phe Ile
 100 105 110

Asp Gln Leu Asn Ile Glu Glu Ile Leu Gly Thr Val Ser Gly Asn Asp
 115 120 125

Thr Thr Leu Ile Leu Thr Ala Ser Asn Asp Met Ala Glu Tyr Val Tyr
 130 135 140

Ala Lys Leu Phe Lys
 145

<210> 21
 <211> 96
 5 <212> PRT
 <213> Staphylococcus aureus

<400> 21

Leu Phe Tyr Ala Cys His Phe Lys Val Lys Ile Gly Gly Val Ile Leu
 1 5 10 15

Thr Arg Thr Tyr Asn Ile Ile Gly Ile Leu Ser Cys Leu Ile Ser Phe
 20 25 30

Ile Ile Met Ala Leu Pro Met Ile Trp Tyr Thr Ala Ser Ala Leu Trp
 35 40 45

Phe Phe Pro Gly Ala Ile Met Ile Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Val
 50 55 60

Phe Cys Tyr Ile Lys Thr Lys Asn Gln Leu His Leu Leu Leu Ile Val
 65 70 75 80

Leu Asn Ile Ile Ile Leu Leu Phe Phe Ser Leu Pro Leu Leu Leu Ser
 85 90 95

10

ES 2 642 892 T3

<210> 22
 <211> 86
 <212> PRT
 <213> Staphylococcus aureus

5

<400> 22

```

Leu Glu Tyr Asn Lys Lys Met Ile Asn Arg Ile His Arg Ile Gln Gly
1          5          10          15

Gln Leu Asn Gly Val Ile Lys Met Met Glu Glu Glu Lys Asn Cys Lys
          20          25          30

Asp Val Ile Ser Gln Leu Ser Ala Ser Lys Ser Ser Ile Gln Arg Leu
          35          40          45

Met Gly Ile Ile Ile Ser Glu Asn Leu Val Glu Cys Val Lys Met Ser
          50          55          60

Glu Glu Asn Ser Glu Asp Ser Gln Ala Leu Ile Asn Glu Ala Val Glu
65          70          75          80

Leu Leu Ile Lys Ser Lys
          85
    
```

10

<210> 23
 <211> 466
 <212> PRT
 <213> Staphylococcus aureus

15

<400> 23

```

Met Met Lys Arg Lys Pro Thr Phe Leu Glu Ser Ile Ser Thr Met Ile
1          5          10          15

Val Met Val Ile Val Val Val Thr Gly Phe Val Phe Phe Asp Ile Pro
          20          25          30

Ile Gln Val Leu Leu Ile Ile Ala Ser Ala Tyr Ala Thr Trp Ile Ala
          35          40          45

Lys Arg Val Gly Leu Thr Trp Gln Asp Leu Glu Lys Gly Ile Ala Glu
          50          55          60

Arg Leu Asn Thr Ala Met Pro Ala Ile Leu Ile Ile Leu Ala Val Gly
65          70          75          80
    
```

ES 2 642 892 T3

Ile Ile Val Gly Ser Trp Met Phe Ser Gly Thr Val Pro Ala Leu Ile
85 90 95

Tyr Tyr Gly Leu Asp Leu Leu Asn Pro Ser Tyr Phe Leu Ile Ser Ala
100 105 110

Phe Phe Ile Ser Ala Val Thr Ser Val Ala Thr Gly Thr Ala Trp Gly
115 120 125

Ser Ala Ser Thr Ala Gly Ile Ala Leu Ile Ser Ile Gly Asn Gln Leu
130 135 140

Gly Ile Pro Pro Gly Met Ala Ala Gly Ala Ile Ile Ala Gly Ala Val
145 150 155 160

Phe Gly Asp Lys Met Ser Pro Leu Ser Asp Thr Thr Asn Leu Ala Ala
165 170 175

Leu Val Thr Lys Val Asn Ile Phe Lys His Ile His Ser Met Met Trp
180 185 190

Thr Thr Ile Pro Ala Ser Ile Ile Gly Leu Leu Val Trp Phe Ile Ala
195 200 205

Gly Phe Gln Phe Lys Gly His Ser Asn Asp Lys Gln Ile Gln Thr Leu
210 215 220

Leu Ser Glu Leu Ala Gln Ile Tyr Gln Ile Asn Ile Trp Val Trp Val
225 230 235 240

Pro Leu Ile Val Ile Ile Val Cys Leu Leu Phe Lys Met Ala Thr Val
245 250 255

Pro Ala Met Leu Ile Ser Ser Phe Ser Ala Ile Ile Val Gly Thr Phe
260 265 270

Asn His His Phe Lys Met Thr Asp Gly Phe Lys Ala Thr Phe Ser Gly
275 280 285

Phe Asn Glu Ser Met Ile His Gln Ser His Ile Ser Ser Ser Val Lys
290 295 300

Ser Leu Leu Glu Gln Gly Gly Met Met Ser Met Thr Gln Ile Leu Val
305 310 315 320

Thr Ile Phe Cys Gly Tyr Ala Phe Ala Gly Ile Val Glu Lys Ala Gly
325 330 335

ES 2 642 892 T3

Cys Leu Glu Val Leu Leu Thr Thr Ile Ser Lys Gly Ile His Ser Val
 340 345 350

Gly Ser Leu Ile Cys Ile Thr Val Ile Cys Cys Ile Ala Leu Val Phe
 355 360 365

Ala Ala Gly Val Ala Ser Ile Val Ile Ile Met Val Gly Val Leu Met
 370 375 380

Lys Asp Leu Phe Glu Lys Tyr Gln Val Ser Arg Ser Val Leu Ser Arg
 385 390 395 400

Thr Leu Glu Asp Ser Ser Thr Met Val Leu Pro Leu Ile Pro Trp Gly
 405 410 415

Thr Ser Gly Ile Tyr Tyr Thr Asn Gln Leu His Val Ser Val Glu Glu
 420 425 430

Phe Phe Ile Trp Thr Val Pro Cys Tyr Leu Cys Ala Ile Ile Ala Ile
 435 440 445

Ile Tyr Gly Phe Thr Gly Ile Gly Ile Lys Lys Ser Ser Asn Ser Arg
 450 455 460

Leu Thr
 465

- <210> 24
- <211> 749
- <212> PRT
- <213> Staphylococcus aureus

5

<400> 24

Met Leu Glu Thr Asn Lys Asn His Ala Thr Ala Trp Gln Gly Phe Lys
 1 5 10 15

Asn Gly Arg Trp Asn Arg His Val Asp Val Arg Glu Phe Ile Gln Leu
 20 25 30

Asn Tyr Thr Leu Tyr Glu Gly Asn Asp Ser Phe Leu Ala Gly Pro Thr
 35 40 45

Glu Ala Thr Ser Lys Leu Trp Glu Gln Val Met Gln Leu Ser Lys Glu
 50 55 60

Glu Arg Glu Arg Gly Gly Met Trp Asp Met Asp Thr Lys Val Ala Ser
 65 70 75 80

ES 2 642 892 T3

Thr Ile Thr Ser His Asp Ala Gly Tyr Leu Asp Lys Asp Leu Glu Thr
 85 90 95
 Ile Val Gly Val Gln Thr Glu Lys Pro Phe Lys Arg Ser Met Gln Pro
 100 105 110
 Phe Gly Gly Ile Arg Met Ala Lys Ala Ala Cys Glu Ala Tyr Gly Tyr
 115 120 125
 Glu Leu Asp Glu Glu Thr Glu Lys Ile Phe Thr Asp Tyr Arg Lys Thr
 130 135 140
 His Asn Gln Gly Val Phe Asp Ala Tyr Ser Arg Glu Met Leu Asn Cys
 145 150 155 160
 Arg Lys Ala Gly Val Ile Thr Gly Leu Pro Asp Ala Tyr Gly Arg Gly
 165 170 175
 Arg Ile Ile Gly Asp Tyr Arg Arg Val Ala Leu Tyr Gly Val Asp Phe
 180 185 190
 Leu Met Glu Glu Lys Met His Asp Phe Asn Thr Met Ser Thr Glu Met
 195 200 205
 Ser Glu Asp Val Ile Arg Leu Arg Glu Glu Leu Ser Glu Gln Tyr Arg
 210 215 220
 Ala Leu Lys Glu Leu Lys Glu Leu Gly Gln Lys Tyr Gly Phe Asp Leu
 225 230 235 240
 Ser Arg Pro Ala Glu Asn Phe Lys Glu Ala Val Gln Trp Leu Tyr Leu
 245 250 255
 Ala Tyr Leu Ala Ala Ile Lys Glu Gln Asn Gly Ala Ala Met Ser Leu
 260 265 270
 Gly Arg Thr Ser Thr Phe Leu Asp Ile Tyr Ala Glu Arg Asp Leu Lys
 275 280 285
 Ala Gly Val Ile Thr Glu Ser Glu Val Gln Glu Ile Ile Asp His Phe
 290 295 300
 Ile Met Lys Leu Arg Ile Val Lys Phe Ala Arg Thr Pro Asp Tyr Asn
 305 310 315 320
 Glu Leu Phe Ser Gly Asp Pro Thr Trp Val Thr Glu Ser Ile Gly Gly
 325 330 335

ES 2 642 892 T3

Val Gly Ile Asp Gly Arg Pro Leu Val Thr Lys Asn Ser Phe Arg Phe
 340 345 350

Leu His Ser Leu Asp Asn Leu Gly Pro Ala Pro Glu Pro Asn Leu Thr
 355 360 365

Val Leu Trp Ser Val Arg Leu Pro Asp Asn Phe Lys Thr Tyr Cys Ala
 370 375 380

Lys Met Ser Ile Lys Thr Ser Ser Ile Gln Tyr Glu Asn Asp Asp Ile
 385 390 395 400

Met Arg Glu Ser Tyr Gly Asp Asp Tyr Gly Ile Ala Cys Cys Val Ser
 405 410 415

Ala Met Thr Ile Gly Lys Gln Met Gln Phe Phe Gly Ala Arg Ala Asn
 420 425 430

Leu Ala Lys Thr Leu Leu Tyr Ala Ile Asn Gly Gly Lys Asp Glu Lys
 435 440 445

Ser Gly Ala Gln Val Gly Pro Asn Phe Glu Gly Ile Asn Ser Glu Val
 450 455 460

Leu Glu Tyr Asp Glu Val Phe Lys Lys Phe Asp Gln Met Met Asp Trp
 465 470 475 480

Leu Ala Gly Val Tyr Ile Asn Ser Leu Asn Val Ile His Tyr Met His
 485 490 495

Asp Lys Tyr Ser Tyr Glu Arg Ile Glu Met Ala Leu His Asp Thr Glu
 500 505 510

Ile Val Arg Thr Met Ala Thr Gly Ile Ala Gly Leu Ser Val Ala Ala
 515 520 525

Asp Ser Leu Ser Ala Ile Lys Tyr Ala Gln Val Lys Pro Ile Arg Asn
 530 535 540

Glu Glu Gly Leu Val Val Asp Phe Glu Ile Glu Gly Asp Phe Pro Lys
 545 550 555 560

Tyr Gly Asn Asn Asp Asp Arg Val Asp Asp Ile Ala Val Asp Leu Val
 565 570 575

Glu Arg Phe Met Thr Lys Leu Arg Ser His Lys Thr Tyr Arg Asp Ser

ES 2 642 892 T3

```

                    580                    585                    590
Glu His Thr Met Ser Val Leu Thr Ile Thr Ser Asn Val Val Tyr Gly
    595                    600                    605
Lys Lys Thr Gly Asn Thr Pro Asp Gly Arg Lys Ala Gly Glu Pro Phe
    610                    615                    620
Ala Pro Gly Ala Asn Pro Met His Gly Arg Asp Gln Lys Gly Ala Leu
    625                    630                    635                    640
Ser Ser Leu Ser Ser Val Ala Lys Ile Pro Tyr Asp Cys Cys Lys Asp
    645                    650                    655
Gly Ile Ser Asn Thr Phe Ser Ile Val Pro Lys Ser Leu Gly Lys Glu
    660                    665                    670
Pro Glu Asp Gln Asn Arg Asn Leu Thr Ser Met Leu Asp Gly Tyr Ala
    675                    680                    685
Met Gln Cys Gly His His Leu Asn Ile Asn Val Phe Asn Arg Glu Thr
    690                    695                    700
Leu Ile Asp Ala Met Glu His Pro Glu Glu Tyr Pro Gln Leu Thr Ile
    705                    710                    715
Arg Val Ser Gly Tyr Ala Val Asn Phe Ile Lys Leu Thr Arg Glu Gln
    725                    730                    735
Gln Leu Asp Val Ile Ser Arg Thr Phe His Glu Ser Met
    740                    745

```

<210> 25

<211> 116

5 <212> PRT

<213> Staphylococcus aureus

<400> 25

ES 2 642 892 T3

```

Leu His Leu Phe Ile Leu Ser Ser His Ile Phe Lys Ser Ile Thr Phe
1          5          10          15

Asp Cys Gly Lys Glu Phe Ser Asn Trp Lys Thr Ile Cys Asn Cys His
          20          25          30

Asp Ile Ser Ile Phe Phe Ala Asp Pro Gly Thr Pro Ser Gln Arg Gly
          35          40          45

Leu Asn Glu His Ser Asn Gly Ile Ile Arg Arg Ser Gly Leu Asp Lys

          50          55          60

Glu Leu Asp Phe Asn Leu Val Thr Asp Asp His Ile Ile Ser Val Ala
65          70          75          80

Gln Lys Ile Asn His His Pro Arg Lys Ser Leu Gly Tyr Arg Thr Pro
          85          90          95

Leu Glu Val Phe Met Ser Phe Ile Glu Asp Asp Lys Leu Val Gln Leu
          100          105          110

Asn Leu Thr Ile
          115

```

- <210> 26
- <211> 230
- 5 <212> PRT
- <213> Staphylococcus aureus
- <400> 26

ES 2 642 892 T3

Met Tyr Ser Ile Lys Met Arg Ser Ser Asn Gln Asp Val His Ile Ser
 1 5 10 15

Gly Ala Glu Thr Ile Cys Glu Phe Asp Lys Ile Glu Gln Thr Val Gln
 20 25 30

Arg Phe Tyr Asn Lys Gly Phe Phe His Glu Asn Gly Gln Pro Asp Phe
 35 40 45

Leu Asn Ile Lys Ile Gln Lys Ile Met Glu Pro Ile Gln Gln Ile Lys
 50 55 60

Ala Leu Gln Ile Ile Glu Asp Asp Lys Ala Asn Leu Gln His Leu Thr
 65 70 75 80

Gln Glu Cys Gly Val Thr Glu Gln Ala Leu Asn Gln Gly Met Thr Tyr
 85 90 95

Ile Lys Asn Glu Thr Val Tyr Thr Gly Ala Ile Ile Leu Ser Ala Ile
 100 105 110

Ser Gly Lys Arg Leu Asp Ser Phe Gly Gln Arg Gly Ile Arg Ala Thr
 115 120 125

His Phe Ser Phe Glu Asp Ile Asn Asn Lys Gly Asp Leu Asn Glu Arg
 130 135 140

Val Thr Asp Ala Leu Ala Ile Ala Ser Cys Ile Asn Ala His Pro Tyr
 145 150 155 160

Val Lys Gly Glu Leu Cys Val Ser Asp Asp Leu Thr Tyr Thr Thr Gly
 165 170 175

Tyr Phe Ala Ala Ala Lys Ile Gly Tyr His Arg Leu Phe Asp Ile Lys
 180 185 190

Pro Val Asn Thr Arg Tyr Gly Gly Arg Ile Ile Phe Val Asp Asp Cys
 195 200 205

Ile Asp Leu Asn His Tyr Ile Ser Phe Leu Glu Ser Thr Pro Lys Gln
 210 215 220

Val Val Tyr Glu Thr Val
 225 230

<210> 27
 <211> 518
 <212> PRT
 <213> Staphylococcus aureus

5

ES 2 642 892 T3

<400> 27

Val Glu Asn Thr Ile Asn Glu Ser Glu Lys Lys Lys Arg Phe Lys Leu
 1 5 10 15

Lys Met Pro Gly Ala Phe Met Ile Leu Phe Ile Leu Thr Val Val Ala
 20 25 30

Val Ile Ala Thr Trp Val Ile Pro Ala Gly Ala Tyr Ser Lys Leu Ser
 35 40 45

Tyr Glu Pro Ser Ser Gln Glu Leu Lys Ile Val Asn Pro His Asn Gln
 50 55 60

Val Lys Lys Val Pro Gly Thr Gln Gln Glu Leu Asp Lys Met Gly Val
 65 70 75 80

Lys Ile Lys Ile Glu Gln Phe Lys Ser Gly Ala Ile Asn Lys Pro Val
 85 90 95

Ser Ile Pro Asn Thr Tyr Glu Arg Leu Lys Gln His Pro Ala Gly Pro
 100 105 110

Glu Gln Ile Thr Ser Ser Met Val Glu Gly Thr Ile Glu Ala Val Asp
 115 120 125

Ile Met Val Phe Ile Leu Val Leu Gly Gly Leu Ile Gly Val Val Gln

ES 2 642 892 T3

130							135								140
Ala	Ser	Gly	Ser	Phe	Glu	Ser	Gly	Leu	Leu	Ala	Leu	Thr	Lys	Lys	Thr
145					150					155					160
Lys	Gly	His	Glu	Phe	Met	Leu	Ile	Val	Phe	Val	Ser	Ile	Leu	Met	Ile
				165					170					175	
Ile	Gly	Gly	Thr	Leu	Cys	Gly	Ile	Glu	Glu	Glu	Ala	Val	Ala	Phe	Tyr
			180					185					190		
Pro	Ile	Leu	Val	Pro	Ile	Phe	Ile	Ala	Leu	Gly	Tyr	Asp	Ser	Ile	Val
		195					200					205			
Ser	Val	Gly	Ala	Ile	Phe	Leu	Ala	Ser	Ser	Val	Gly	Ser	Thr	Phe	Ser
		210				215					220				
Thr	Ile	Asn	Pro	Phe	Ser	Val	Val	Ile	Ala	Ser	Asn	Ala	Ala	Gly	Thr
225					230					235					240
Thr	Phe	Thr	Asp	Gly	Leu	Tyr	Trp	Arg	Ile	Gly	Ala	Cys	Ile	Val	Gly
				245					250					255	
Ala	Ile	Phe	Val	Ile	Ser	Tyr	Leu	Tyr	Trp	Tyr	Cys	Lys	Lys	Ile	Lys
			260					265					270		
Asn	Asp	Pro	Lys	Ala	Ser	Tyr	Ser	Tyr	Glu	Asp	Lys	Asp	Ala	Phe	Glu
		275					280					285			
Gln	Gln	Trp	Ser	Val	Leu	Lys	Asp	Asp	Asp	Ser	Ala	His	Phe	Thr	Leu
	290					295					300				
Arg	Lys	Lys	Ile	Ile	Leu	Thr	Leu	Phe	Val	Leu	Pro	Phe	Pro	Ile	Met
305					310					315					320
Val	Trp	Gly	Val	Met	Thr	Gln	Gly	Trp	Trp	Phe	Pro	Val	Met	Ala	Ser
				325					330					335	
Ala	Phe	Leu	Ile	Phe	Thr	Ile	Ile	Ile	Met	Phe	Ile	Ala	Gly	Thr	Gly
			340					345					350		
Lys	Ser	Gly	Leu	Gly	Glu	Lys	Gly	Thr	Val	Asp	Ala	Phe	Val	Asn	Gly
		355					360					365			
Ala	Ser	Ser	Leu	Val	Gly	Val	Ser	Leu	Ile	Ile	Gly	Leu	Ala	Arg	Gly
	370					375					380				

ES 2 642 892 T3

Ile Asn Leu Val Leu Asn Glu Gly Met Ile Ser Asp Thr Ile Leu His
 385 390 395 400

Phe Ser Ser Ser Leu Val Gln His Met Ser Gly Pro Leu Phe Ile Ile
 405 410 415

Val Leu Leu Phe Ile Phe Phe Cys Leu Gly Phe Ile Val Pro Ser Ser
 420 425 430

Ser Gly Leu Ala Val Leu Ser Met Pro Ile Phe Ala Pro Leu Ala Asp
 435 440 445

Thr Val Gly Ile Pro Arg Phe Val Ile Val Thr Thr Tyr Gln Phe Gly
 450 455 460

Gln Tyr Ala Met Leu Phe Leu Ala Pro Thr Gly Leu Val Met Ala Thr
 465 470 475 480

Leu Gln Met Leu Asn Met Arg Tyr Ser His Trp Phe Arg Phe Val Trp
 485 490 495

Pro Val Val Ala Phe Val Leu Ile Phe Gly Gly Gly Val Leu Ile Thr
 500 505 510

Gln Val Leu Ile Tyr Ser
 515

<210> 28
 <211> 283
 5 <212> PRT
 <213> Staphylococcus aureus

<400> 28

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

Leu Val Gln Arg Leu Lys Glu Glu Gly His Glu Val Ala Gly Phe Thr
 20 25 30

Thr Ser Glu Asn Gly Gln Gln Lys Leu Ala Ala Val Asn Val Lys Ala
 35 40 45

Tyr Ile Gly Asp Ile Leu Lys Ala Asp Thr Ile Asp Gln Ala Leu Ala
 50 55 60

Asp Phe Lys Pro Glu Ile Ile Ile Asn Gln Ile Thr Asp Leu Lys Asn
 65 70 75 80

ES 2 642 892 T3

Val Asp Met Ala Ala Asn Thr Lys Val Arg Ile Glu Gly Ser Lys Asn
85 90 95

Leu Ile Asp Ala Ala Lys Lys His Asp Val Lys Lys Val Ile Ala Gln
100 105 110

Ser Ile Ala Phe Met Tyr Glu Pro Gly Glu Gly Leu Ala Asn Glu Glu
115 120 125

Thr Ser Leu Asp Phe Asn Ser Thr Gly Asp Arg Lys Val Thr Val Asp
130 135 140

Gly Val Val Gly Leu Glu Glu Glu Thr Ala Arg Met Asp Glu Tyr Val
145 150 155 160

Val Leu Arg Phe Gly Trp Leu Tyr Gly Pro Gly Thr Trp Tyr Gly Lys
165 170 175

Asp Gly Met Ile Tyr Asn Gln Phe Met Asp Gly Gln Val Thr Leu Ser
180 185 190

Asp Gly Val Thr Ser Phe Val His Leu Asp Asp Ala Val Glu Thr Ser
195 200 205

Ile Gln Ala Ile His Phe Glu Asn Gly Ile Tyr Asn Val Ala Asp Asp
210 215 220

Ala Pro Val Lys Gly Ser Glu Phe Ala Glu Trp Tyr Lys Glu Gln Leu
225 230 235 240

Gly Val Glu Pro Asn Ile Asp Ile Gln Pro Ala Gln Pro Phe Glu Arg
245 250 255

Gly Val Ser Asn Glu Lys Phe Lys Ala Gln Gly Gly Thr Leu Ile Tyr
260 265 270

Gln Thr Trp Lys Asp Gly Met Asn Pro Ile Lys
275 280

<210> 29

<211> 54

5 <212> PRT

<213> Staphylococcus aureus

<400> 29

Met Pro Lys Leu Ile Ser Pro Thr Phe Glu Asp Ile Lys Thr Trp Tyr
1 5 10 15

10

ES 2 642 892 T3

Gln Leu Lys Glu Tyr Ser Lys Glu Asp Ile Ala Trp Tyr Val Asp Met
 20 25 30

Glu Val Ile Asp Lys Glu Glu Tyr Ala Ile Ile Thr Gly Glu Lys Tyr
 35 40 45

Pro Glu Asn Leu Glu Ser
 50

<210> 30
 <211> 250
 <212> PRT
 <213> Staphylococcus aureus

<400> 30

Met Ser Gln Ala Ala Glu Thr Leu Asp Gly Trp Tyr Ser Leu His Leu
 1 5 10 15

Phe Tyr Ala Val Asp Trp Ala Ser Leu Arg Ile Val Pro Lys Asp Glu
 20 25 30

Arg Asp Ala Leu Val Thr Glu Phe Gln Ser Phe Leu Glu Asn Thr Ala
 35 40 45

Thr Val Arg Ser Ser Lys Ser Gly Asp Gln Ala Ile Tyr Asn Ile Thr
 50 55 60

Gly Gln Lys Ala Asp Leu Leu Leu Trp Phe Leu Arg Pro Glu Met Lys
 65 70 75 80

Ser Leu Asn His Ile Glu Asn Glu Phe Asn Lys Leu Arg Ile Ala Asp
 85 90 95

Phe Leu Ile Pro Thr Tyr Ser Tyr Val Ser Val Ile Glu Leu Ser Asn
 100 105 110

Tyr Leu Ala Gly Lys Ser Asp Glu Asp Pro Tyr Glu Asn Pro His Ile
 115 120 125

Lys Ala Arg Leu Tyr Pro Glu Leu Pro His Ser Asp Tyr Ile Cys Phe
 130 135 140

Tyr Pro Met Asn Lys Arg Arg Asn Glu Thr Tyr Asn Trp Tyr Met Leu
 145 150 155 160

Thr Met Glu Glu Arg Gln Lys Leu Met Tyr Asp His Gly Met Ile Gly
 165 170 175

ES 2 642 892 T3

Arg Lys Tyr Ala Gly Lys Ile Lys Gln Phe Ile Thr Gly Ser Val Gly
 180 185 190

Phe Asp Asp Phe Glu Trp Gly Val Thr Leu Phe Ser Asp Asp Val Leu
 195 200 205

Gln Phe Lys Lys Ile Val Tyr Glu Met Arg Phe Asp Glu Thr Thr Ala
 210 215 220

Arg Tyr Gly Glu Phe Gly Ser Phe Phe Val Gly His Leu Ile Asn Thr
 225 230 235 240

Asn Glu Phe Asp Gln Phe Phe Ala Ile Ser
 245 250

<210> 31

<211> 244

5 <212> PRT

<213> Staphylococcus aureus

<400> 31

Val Asp Val Arg Phe Ile Asn Glu Gln Thr Ile Met Ile Tyr Phe Glu
 1 5 10 15

Asn Lys Ile Ser Glu Glu Thr Tyr Arg Asn Val Thr Ala Met Val Arg
 20 25 30

Trp Ile Arg Glu Lys Glu Ile Leu Glu Ile Gln Asp Ile Val Pro Ser
 35 40 45

Tyr Arg Ala Val Leu Ile Tyr Phe Asp Glu Gln Ala Ile Thr Ser Ser
 50 55 60

Lys Leu Ile Glu Asn Leu Glu Leu Asn Lys Phe Asn Glu Lys Asn Val
 65 70 75 80

His Ala Val Asn Gln Thr Asn Arg Ile Ile Lys Ile Pro Val Gln Tyr
 85 90 95

Gly Gly Thr Tyr Gly Pro Asp Ile Glu Glu Val Ala Lys His Asn Arg
 100 105 110

Ile Thr Val Glu Gln Val Ile Glu Lys His Thr Ser Lys Pro Tyr Leu
 115 120 125

Ile Tyr Met Leu Gly Phe Met Pro Gly Phe Pro Tyr Leu Gly Gly Leu
 130 135 140

10

ES 2 642 892 T3

Asp Glu Gln Leu His Thr Pro Arg Arg Asn Gln Pro Arg Leu Lys Ile
145 150 155 160

His Ala Gly Ser Val Gly Ile Ala Asn Asn Gln Thr Gly Leu Tyr Pro
165 170 175

Ser Asp Ser Pro Gly Gly Trp Gln Ile Ile Gly Arg Thr Pro Leu Lys
180 185 190

Val Phe Ser Ser Glu Arg Glu Pro Met Ser Met Tyr Glu Ala Gly Glu
195 200 205

Trp Ile Gln Phe Tyr Ala Ile Asp Glu Gln Lys Phe Ile Gln Ile Glu
210 215 220

Arg Asp Ile Ser Asp Gly Asn Phe Asn Val Asp Asp Trp Val Val Ile
225 230 235 240

Glu Asn Val Asn

- <210> 32
- <211> 108
- 5 <212> PRT
- <213> Staphylococcus aureus
- <400> 32

Ile Tyr Tyr Arg Gly Ala His Tyr Met Lys Val Thr Asp Val Arg Leu
1 5 10 15

Arg Lys Ile Gln Thr Asp Gly Arg Met Lys Ala Leu Val Ser Ile Thr
20 25 30

Leu Asp Glu Ala Phe Val Ile His Asp Leu Arg Val Ile Glu Gly Asn
35 40 45

Ser Gly Leu Phe Val Ala Met Pro Ser Lys Arg Thr Pro Asp Gly Glu
50 55 60

Phe Arg Asp Ile Ala His Pro Ile Asn Ser Asp Met Arg Gln Glu Ile
65 70 75 80

Gln Asp Ala Val Met Lys Val Tyr Asp Glu Thr Asp Glu Val Val Pro
85 90 95

Asp Lys Asn Ala Thr Ser Glu Asp Ser Glu Glu Ala
100 105

- 10 <210> 33
- <211> 645
- <212> PRT
- 15 <213> Staphylococcus aureus

ES 2 642 892 T3

<400> 33

Met Asn Lys Gln Gln Lys Glu Phe Lys Ser Phe Tyr Ser Ile Arg Lys
 1 5 10 15

Ser Ser Leu Gly Val Ala Ser Val Ala Ile Ser Thr Leu Leu Leu Leu
 20 25 30

Met Ser Asn Gly Glu Ala Gln Ala Ala Ala Glu Glu Thr Gly Gly Thr
 35 40 45

Asn Thr Glu Ala Gln Pro Lys Thr Glu Ala Val Ala Ser Pro Thr Thr
 50 55 60

Thr Ser Glu Lys Ala Pro Glu Thr Lys Pro Val Ala Asn Ala Val Ser
 65 70 75 80

Val Ser Asn Lys Glu Val Glu Ala Pro Thr Ser Glu Thr Lys Glu Ala
 85 90 95

Lys Glu Val Lys Glu Val Lys Ala Pro Lys Glu Thr Lys Ala Val Lys
 100 105 110

Pro Ala Ala Lys Ala Thr Asn Asn Thr Tyr Pro Ile Leu Asn Gln Glu
 115 120 125

Leu Arg Glu Ala Ile Lys Asn Pro Ala Ile Lys Asp Lys Asp His Ser
 130 135 140

Ala Pro Asn Ser Arg Pro Ile Asp Phe Glu Met Lys Lys Glu Asn Gly
 145 150 155 160

Glu Gln Gln Phe Tyr His Tyr Ala Ser Ser Val Lys Pro Ala Arg Val
 165 170 175

Ile Phe Thr Asp Ser Lys Pro Glu Ile Glu Leu Gly Leu Gln Ser Gly
 180 185 190

Gln Phe Trp Arg Lys Phe Glu Val Tyr Glu Gly Asp Lys Lys Leu Pro
 195 200 205

Ile Lys Leu Val Ser Tyr Asp Thr Val Lys Asp Tyr Ala Tyr Ile Arg
 210 215 220

ES 2 642 892 T3

Phe Ser Val Ser Asn Gly Thr Lys Ala Val Lys Ile Val Ser Ser Thr
 225 230 235 240
 His Phe Asn Asn Lys Glu Glu Lys Tyr Asp Tyr Thr Leu Met Glu Phe
 245 250 255
 Ala Gln Pro Ile Tyr Asn Ser Ala Asp Lys Phe Lys Thr Glu Glu Asp
 260 265 270
 Tyr Lys Ala Glu Lys Leu Leu Ala Pro Tyr Lys Lys Ala Lys Thr Leu
 275 280 285
 Glu Arg Gln Val Tyr Glu Leu Asn Lys Ile Gln Asp Lys Leu Pro Glu
 290 295 300
 Lys Leu Lys Ala Glu Tyr Lys Lys Lys Leu Glu Asp Thr Lys Lys Ala
 305 310 315 320
 Leu Asp Glu Gln Val Lys Ser Ala Ile Thr Glu Phe Gln Asn Val Gln
 325 330 335
 Pro Thr Asn Glu Lys Met Thr Asp Leu Gln Asp Thr Lys Tyr Val Val
 340 345 350
 Tyr Glu Ser Val Glu Asn Asn Glu Ser Met Met Asp Thr Phe Val Lys
 355 360 365
 His Pro Ile Lys Thr Gly Met Leu Asn Gly Lys Lys Tyr Met Val Met
 370 375 380
 Glu Thr Thr Asn Asp Asp Tyr Trp Lys Asp Phe Met Val Glu Gly Gln
 385 390 395 400
 Arg Val Arg Thr Ile Ser Lys Asp Ala Lys Asn Asn Thr Arg Thr Ile
 405 410 415
 Ile Phe Pro Tyr Val Glu Gly Lys Thr Leu Tyr Asp Ala Ile Val Lys
 420 425 430
 Val His Val Lys Thr Ile Asp Tyr Asp Gly Gln Tyr His Val Arg Ile
 435 440 445
 Val Asp Lys Glu Ala Phe Thr Lys Ala Asn Thr Asp Lys Ser Asn Lys
 450 455 460
 Lys Glu Gln Gln Asp Asn Ser Ala Lys Lys Glu Ala Thr Pro Ala Thr
 465 470 475 480

ES 2 642 892 T3

Pro Ser Lys Pro Thr Pro Ser Pro Val Glu Lys Glu Ser Gln Lys Gln
 485 490 495

Asp Ser Gln Lys Asp Asp Asn Lys Gln Leu Pro Ser Val Glu Lys Glu
 500 505 510

Asn Asp Ala Ser Ser Glu Ser Gly Lys Asp Lys Thr Pro Ala Thr Lys
 515 520 525

Pro Thr Lys Gly Glu Val Glu Ser Ser Ser Thr Thr Pro Thr Lys Val
 530 535 540

Val Ser Thr Thr Gln Asn Val Ala Lys Pro Thr Thr Ala Ser Ser Lys
 545 550 555 560

Thr Thr Lys Asp Val Val Gln Thr Ser Ala Gly Ser Ser Glu Ala Lys
 565 570 575

Asp Ser Ala Pro Leu Gln Lys Ala Asn Ile Lys Asn Thr Asn Asp Gly
 580 585 590

His Thr Gln Ser Gln Asn Asn Lys Asn Thr Gln Glu Asn Lys Ala Lys
 595 600 605

Ser Leu Pro Gln Thr Gly Glu Glu Ser Asn Lys Asp Met Thr Leu Pro
 610 615 620

Leu Met Ala Leu Leu Ala Leu Ser Ser Ile Val Ala Phe Val Leu Pro
 625 630 635 640

Arg Lys Arg Lys Asn
 645

<210> 34
 <211> 476
 5 <212> PRT
 <213> Staphylococcus aureus
 <400> 34

Met Lys Ser Asp Ser Leu Lys Glu Asn Ile Ile Tyr Gln Gly Leu Tyr
 1 5 10 15

Gln Leu Ile Arg Thr Met Thr Pro Leu Ile Thr Ile Pro Ile Ile Ser
 20 25 30

Arg Ala Phe Gly Pro Ser Gly Val Gly Ile Val Ser Phe Ser Phe Asn
 35 40 45

10

ES 2 642 892 T3

Ile Val Gln Tyr Phe Leu Met Ile Ala Ser Val Gly Val Gln Leu Tyr
50 55 60

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

Gln Gln Phe Trp Asp Ile Phe Val Ser Lys Leu Phe Leu Ala Leu Thr
85 90 95

Val Phe Ala Met Tyr Met Val Val Ile Thr Ile Phe Ile Asp Asp Tyr
100 105 110

Tyr Leu Ile Phe Leu Leu Gln Gly Ile Tyr Ile Ile Gly Ala Ala Leu
115 120 125

Asp Ile Ser Trp Phe Tyr Ala Gly Thr Glu Lys Phe Lys Ile Pro Ser
130 135 140

Leu Ser Asn Ile Val Ala Ser Gly Ile Val Leu Ser Val Val Val Ile
145 150 155 160

Phe Val Lys Asp Gln Ser Asp Leu Ser Leu Tyr Val Phe Thr Ile Ala
165 170 175

Ile Val Thr Val Leu Asn Gln Leu Pro Leu Phe Ile Tyr Leu Lys Arg
180 185 190

Tyr Ile Ser Phe Val Ser Val Asn Trp Ile His Val Trp Gln Leu Phe
195 200 205

Arg Ser Ser Leu Ala Tyr Leu Leu Pro Asn Gly Gln Leu Asn Leu Tyr
210 215 220

Thr Ser Ile Ser Cys Val Val Leu Gly Leu Val Gly Thr Tyr Gln Gln
225 230 235 240

Val Gly Ile Phe Ser Asn Ala Phe Asn Ile Leu Thr Val Ala Ile Ile
245 250 255

Met Ile Asn Thr Phe Asp Leu Val Met Ile Pro Arg Ile Thr Lys Met
260 265 270

Ser Ile Gln Gln Ser His Ser Leu Thr Lys Thr Leu Ala Asn Asn Met
275 280 285

Asn Ile Gln Leu Ile Leu Thr Ile Pro Met Val Phe Gly Leu Ile Ala
290 295 300

ES 2 642 892 T3

Ile Met Pro Ser Phe Tyr Leu Trp Phe Phe Gly Glu Glu Phe Ala Ser
 305 310 315 320

Thr Val Pro Leu Met Thr Ile Leu Ala Ile Leu Val Leu Ile Ile Pro
 325 330 335

Leu Asn Met Leu Ile Ser Arg Gln Tyr Leu Leu Ile Val Asn Lys Ile
 340 345 350

Arg Leu Tyr Asn Ala Ser Ile Thr Ile Gly Ala Val Met Asn Leu Val
 355 360 365

Leu Cys Leu Val Leu Ile Tyr Phe Tyr Gly Ile Tyr Gly Ala Ala Ile
 370 375 380

Ala Arg Leu Ile Thr Glu Phe Ile Leu Leu Ile Trp Arg Phe Val Asp
 385 390 395 400

Ile Thr Lys Ile Asn Val Lys Leu Asn Ile Val Ser Thr Ile Gln Cys
 405 410 415

Val Ile Ala Ala Val Met Met Phe Ile Val Leu Gly Val Val Asn His
 420 425 430

Tyr Leu Pro Pro Thr Met Tyr Ala Thr Leu Leu Leu Ile Ala Ile Gly
 435 440 445

Ile Val Val Tyr Leu Leu Leu Met Met Thr Met Lys Asn Gln Tyr Val
 450 455 460

Trp Gln Ile Leu Arg His Leu Arg His Lys Thr Ile
 465 470 475

<210> 35
 <211> 409
 5 <212> PRT
 <213> Staphylococcus aureus

<400> 35

Met Gly Arg Asn Leu Lys Leu Lys Lys Glu Ser Asp Phe Glu Phe Thr
 1 5 10 15

Lys Asn His Lys Arg Leu Leu Leu Gly Ser Val Phe Leu Met Ala Thr
 20 25 30

Ser Ala Ile Gly Pro Ala Phe Leu Thr Gln Thr Ala Val Phe Thr Ser
 35 40 45

10

ES 2 642 892 T3

Gln Phe Phe Ala Ser Phe Ala Phe Ala Ile Leu Leu Ser Ile Ile Ile
50 55 60

Asp Ile Gly Ala Gln Ile Asn Ile Trp Arg Ile Leu Val Val Thr Gly
65 70 75 80

Leu Arg Gly Gln Glu Ile Ser Asn Lys Val Val Pro Gly Leu Gly Thr
85 90 95

Val Ile Ser Ile Leu Ile Ala Phe Gly Gly Leu Ala Phe Asn Ile Gly
100 105 110

Asn Ile Ala Gly Ala Gly Leu Gly Leu Asn Ala Ile Phe Gly Leu Asp
115 120 125

Val Lys Trp Gly Ala Ala Ile Thr Ala Ile Phe Ala Ile Leu Ile Phe
130 135 140

Val Ser Lys Ser Gly Gln Lys Ile Met Asp Val Val Ser Met Ile Leu
145 150 155 160

Gly Ile Val Met Ile Leu Val Val Ala Tyr Val Met Phe Val Ser Asn
165 170 175

Pro Pro Tyr Gly Asp Ala Phe Val His Thr Phe Ala Pro Glu His Pro
180 185 190

Met Lys Leu Val Leu Pro Ile Ile Thr Leu Val Gly Gly Thr Val Gly
195 200 205

Gly Tyr Ile Thr Phe Ala Gly Ala His Arg Ile Leu Asp Ser Gly Ile
210 215 220

Lys Gly Lys Gln Tyr Leu Pro Phe Val Asn Gln Ser Ala Ile Ala Gly
225 230 235 240

Ile Leu Thr Thr Gly Ile Met Arg Thr Leu Leu Phe Leu Ala Val Leu
245 250 255

Gly Val Val Val Thr Gly Val Thr Leu Ser Ser Glu Asn Pro Pro Ala
260 265 270

Ser Val Phe Glu His Ala Ile Gly Pro Ile Gly Lys Asn Ile Phe Gly
275 280 285

Ile Val Leu Phe Ala Ala Ala Met Ser Ser Val Ile Gly Ser Ala Tyr

ES 2 642 892 T3

```

                290                      295                      300

Thr Ser Ala Thr Phe Leu Lys Thr Leu His Lys Ser Leu Asn Glu Arg
305                      310                      315                      320

Ser Asn Leu Ile Val Ile Val Phe Ile Val Ile Ser Thr Met Ile Phe
                      325                      330                      335

Leu Phe Ile Gly Lys Pro Ile Ser Leu Leu Ile Ile Ala Gly Ala Ile
                      340                      345                      350

Asn Gly Trp Ile Leu Pro Ile Thr Leu Gly Ala Ile Leu Ile Ala Ser
                      355                      360                      365

Lys Lys Lys Ser Ile Val Gly Asp Tyr Lys His Pro Asn Trp Met Phe
                      370                      375                      380

Ile Phe Gly Ile Val Ala Val Leu Val Thr Ile Leu Thr Gly Ile Phe
385                      390                      395                      400

Ser Phe Lys Glu Val Leu Gln Leu Phe
                      405

```

- <210> 36
- <211> 2481
- 5 <212> PRT
- <213> Staphylococcus aureus
- <400> 36

```

Met Asn Leu Phe Arg Gln Gln Lys Phe Ser Ile Arg Lys Phe Asn Val
1                      5                      10                      15

Gly Ile Phe Ser Ala Leu Ile Ala Thr Val Thr Phe Ile Ser Thr Asn
                      20                      25                      30

Pro Thr Thr Ala Ser Ala Ala Glu Gln Asn Gln Pro Ala Gln Asn Gln
                      35                      40                      45

Pro Ala Gln Pro Ala Asp Ala Asn Thr Gln Pro Asn Ala Asn Ala Gly
                      50                      55                      60

Ala Gln Ala Asn Pro Ala Ala Gln Pro Ala Asn Gln Gly Gly Gln Ala
65                      70                      75                      80

Asn Pro Ala Gly Gly Ala Ala Gln Pro Ala Gly Gln Gly Asn Gln Ala
                      85                      90                      95

Asp Pro Asn Asn Ala Ala Gln Ala Gln Pro Gly Asn Gln Ala Ala Pro

```

10

ES 2 642 892 T3

				100						105						110			
Ala	Asn	Gln	Ala	Gly	Gln	Gly	Asn	Asn	Gln	Ala	Thr	Pro	Asn	Asn	Asn				
		115					120					125							
Ala	Thr	Pro	Ala	Asn	Gln	Thr	Gln	Pro	Ala	Asn	Ala	Pro	Ala	Ala	Ala				
	130					135					140								
Gln	Pro	Ala	Ala	Pro	Val	Ala	Ala	Asn	Ala	Gln	Thr	Gln	Asp	Pro	Asn				
145					150					155					160				
Ala	Ser	Asn	Thr	Gly	Glu	Gly	Ser	Ile	Asn	Thr	Thr	Leu	Thr	Phe	Asp				
				165					170					175					
Asp	Pro	Ala	Ile	Ser	Thr	Asp	Glu	Asn	Arg	Gln	Asp	Pro	Thr	Val	Thr				
			180					185					190						
Val	Thr	Asp	Lys	Val	Asn	Gly	Tyr	Ser	Leu	Ile	Asn	Asn	Gly	Lys	Ile				
		195					200					205							
Gly	Phe	Val	Asn	Ser	Glu	Leu	Arg	Arg	Ser	Asp	Met	Phe	Asp	Lys	Asn				
	210					215					220								
Asn	Pro	Gln	Asn	Tyr	Gln	Ala	Lys	Gly	Asn	Val	Ala	Ala	Leu	Gly	Arg				
225					230					235					240				
Val	Asn	Ala	Asn	Asp	Ser	Thr	Asp	His	Gly	Asn	Phe	Asn	Gly	Ile	Thr				
				245					250					255					
Lys	Thr	Val	Asn	Val	Lys	Pro	Asp	Ser	Glu	Leu	Ile	Ile	Asn	Phe	Thr				
			260					265					270						
Thr	Met	Gln	Thr	Asn	Ser	Lys	Gln	Gly	Ala	Thr	Asn	Leu	Val	Ile	Lys				
		275					280					285							
Asp	Ala	Lys	Lys	Asn	Thr	Glu	Leu	Ala	Thr	Val	Asn	Val	Ala	Lys	Thr				
	290					295					300								
Gly	Thr	Ala	His	Leu	Phe	Lys	Val	Pro	Thr	Asp	Ala	Asp	Arg	Leu	Asp				
305					310					315					320				
Leu	Gln	Phe	Ile	Pro	Asp	Asn	Thr	Ala	Val	Ala	Asp	Ala	Ser	Arg	Ile				
				325					330					335					
Thr	Thr	Asn	Lys	Asp	Gly	Tyr	Lys	Tyr	Tyr	Ser	Phe	Ile	Asp	Asn	Val				
			340					345					350						

ES 2 642 892 T3

Gly Leu Phe Ser Gly Ser His Leu Tyr Val Lys Asn Arg Asp Leu Ala
 355 360 365

Pro Lys Ala Thr Asn Asn Lys Glu Tyr Thr Ile Asn Thr Glu Ile Gly
 370 375 380

Asn Asn Gly Asn Phe Gly Ala Ser Leu Lys Ala Asp Gln Phe Lys Tyr
 385 390 395 400

Glu Val Thr Leu Pro Gln Gly Val Thr Tyr Val Asn Asp Ser Leu Thr
 405 410 415

Thr Thr Phe Pro Asn Gly Asn Glu Asp Ser Thr Val Leu Lys Asn Met
 420 425 430

Thr Val Asn Tyr Asp Gln Thr Ala Asn Lys Val Thr Phe Thr Ser Gln
 435 440 445

Gly Val Thr Thr Ala Arg Gly Thr His Thr Lys Glu Val Leu Phe Pro
 450 455 460

Asp Lys Ser Leu Lys Leu Ser Tyr Lys Val Asn Val Ala Asn Ile Asp
 465 470 475 480

Thr Pro Lys Asn Ile Asp Phe Asn Glu Lys Leu Thr Tyr Arg Thr Ala
 485 490 495

Ser Asp Val Val Ile Asn Asn Ala Gln Pro Glu Val Thr Leu Thr Ala
 500 505 510

Asp Pro Phe Ser Val Ala Val Glu Met Asn Lys Asp Ala Leu Gln Gln
 515 520 525

Gln Val Asn Ser Gln Val Asp Asn Ser His Tyr Thr Thr Ala Ser Ile
 530 535 540

Ala Glu Tyr Asn Lys Leu Lys Gln Gln Ala Asp Thr Ile Leu Asn Glu
 545 550 555 560

Asp Ala Asn His Val Glu Thr Ala Asn Arg Ala Ser Gln Ala Asp Ile
 565 570 575

Asp Gly Leu Val Thr Lys Leu Gln Ala Ala Leu Ile Asp Asn Gln Ala
 580 585 590

Ala Ile Ala Glu Leu Asp Thr Lys Ala Gln Glu Lys Val Thr Ala Ala
 595 600 605

ES 2 642 892 T3

Gln Gln Ser Lys Lys Val Thr Gln Asp Glu Val Ala Ala Leu Val Thr
610 615 620

Lys Ile Asn Asn Asp Lys Asn Asn Ala Ile Ala Glu Ile Asn Lys Gln
625 630 635 640

Thr Thr Ser Gln Gly Val Thr Thr Glu Lys Asp Asn Gly Ile Ala Val
645 650 655

Leu Glu Gln Asp Val Ile Thr Pro Thr Val Lys Pro Gln Ala Lys Gln
660 665 670

Asp Ile Ile Gln Ala Val Thr Thr Arg Lys Gln Gln Ile Lys Lys Ser
675 680 685

Asn Ala Ser Leu Gln Asp Glu Lys Asp Val Ala Asn Asp Lys Ile Gly
690 695 700

Lys Ile Glu Thr Lys Ala Ile Lys Asp Ile Asp Ala Ala Thr Thr Asn
705 710 715 720

Ala Gln Val Glu Ala Ile Lys Thr Lys Ala Ile Asn Asp Ile Asn Gln
725 730 735

Thr Thr Pro Ala Thr Thr Ala Lys Ala Ala Ala Leu Glu Glu Phe Asp
740 745 750

Glu Val Val Gln Ala Gln Ile Asp Gln Ala Pro Leu Asn Pro Asp Thr
755 760 765

Thr Asn Glu Glu Val Ala Glu Ala Ile Glu Arg Ile Asn Ala Ala Lys
770 775 780

Val Ser Gly Val Lys Ala Ile Glu Ala Thr Thr Thr Ala Gln Asp Leu
785 790 795 800

Glu Arg Val Lys Asn Glu Glu Ile Phe Lys Ile Glu Asn Ile Thr Asp
805 810 815

Ser Thr Gln Thr Lys Met Asp Ala Tyr Lys Glu Val Arg Gln Ala Ala
820 825 830

Thr Ala Arg Lys Ala Gln Asn Ala Thr Val Ser Asn Ala Thr Asp Glu
835 840 845

Glu Val Ala Glu Ala Asn Ala Ala Val Asp Ala Ala Gln Thr Glu Gly
850 855 860

ES 2 642 892 T3

Leu His Asp Ile Gln Val Val Lys Ser Gln Gln Glu Val Ala Asp Thr
 865 870 875 880

 Lys Ala Lys Val Leu Asp Lys Ile Asn Ala Ile Gln Thr Gln Ala Lys
 885 890 895

 Val Lys Pro Ala Ala Asp Thr Glu Val Glu Asn Ala Tyr Asn Thr Arg
 900 905 910

 Lys Gln Glu Ile Gln Asn Ser Asn Ala Ser Thr Thr Glu Glu Lys Glu
 915 920 925

 Ala Ala Tyr Thr Glu Leu Asp Ala Lys Lys Gln Glu Ala Arg Thr Asn
 930 935 940

 Leu Asp Ala Ala Asn Thr Asn Ser Asp Val Thr Thr Ala Lys Asp Asn
 945 950 955 960

 Gly Ile Ala Ala Ile Asn Gln Val Gln Ala Ala Thr Thr Lys Lys Ser
 965 970 975

 Asp Ala Lys Ala Glu Ile Ala Gln Lys Ala Ser Glu Arg Lys Thr Ala
 980 985 990

 Ile Glu Ala Met Asn Asp Ser Thr Thr Glu Glu Gln Gln Ala Ala Ly:
 995 1000 1005

 Asp Lys Val Asp Gln Ala Val Val Thr Ala Asn Ala Asp Ile Asp
 1010 1015 1020

 Asn Ala Thr Ala Asn Thr Asp Val Asp Asn Ala Lys Thr Thr Asn
 1025 1030 1035

 Glu Ala Thr Ile Ala Ala Ile Thr Pro Asp Ala Asn Val Lys Pro
 1040 1045 1050

 Ala Ala Lys Gln Ala Ile Ala Asp Lys Val Gln Ala Gln Glu Thr
 1055 1060 1065

 Ala Ile Asp Ala Asn Asn Gly Ser Thr Thr Glu Glu Lys Glu Ala
 1070 1075 1080

 Ala Lys Gln Gln Val Gln Thr Glu Lys Thr Ala Ala Asp Ala Ala
 1085 1090 1095

 Ile Asp Ala Ala His Ser Asn Val Glu Val Glu Ala Ala Lys Asn

ES 2 642 892 T3

1100						1105										1110
Ala	Glu	Ile	Ala	Lys	Ile	Glu	Ala	Ile	Gln	Pro	Ala	Thr	Thr	Thr		
1115						1120					1125					
Lys	Asp	Asn	Ala	Lys	Gln	Ala	Ile	Ala	Thr	Lys	Ala	Asn	Glu	Arg		
1130						1135					1140					
Lys	Thr	Ala	Ile	Ala	Gln	Thr	Gln	Asp	Ile	Thr	Ala	Glu	Glu	Ile		
1145						1150					1155					
Ala	Ala	Ala	Asn	Ala	Asp	Val	Asp	Asn	Ala	Val	Thr	Gln	Ala	Asn		
1160						1165					1170					
Ser	Asn	Ile	Glu	Ala	Ala	Asn	Ser	Gln	Asn	Asp	Val	Asp	Gln	Ala		
1175						1180					1185					
Lys	Thr	Thr	Gly	Glu	Thr	Ser	Ile	Asp	Gln	Val	Thr	Pro	Thr	Val		
1190						1195					1200					
Asn	Lys	Lys	Ala	Thr	Ala	Arg	Asn	Glu	Ile	Thr	Ala	Ile	Leu	Asn		
1205						1210					1215					
Asn	Lys	Leu	Gln	Glu	Ile	Gln	Ala	Thr	Pro	Asp	Ala	Thr	Asp	Glu		
1220						1225					1230					
Glu	Lys	Gln	Ala	Ala	Asp	Ala	Glu	Ala	Asn	Thr	Glu	Asn	Gly	Lys		
1235						1240					1245					
Ala	Asn	Gln	Ala	Ile	Ser	Ala	Ala	Thr	Thr	Asn	Ala	Gln	Val	Asp		
1250						1255					1260					
Glu	Ala	Lys	Ala	Asn	Ala	Glu	Ala	Ala	Ile	Asn	Ala	Val	Thr	Pro		
1265						1270					1275					
Lys	Val	Val	Lys	Lys	Gln	Ala	Ala	Lys	Asp	Glu	Ile	Asp	Gln	Leu		
1280						1285					1290					
Gln	Ala	Thr	Gln	Thr	Asn	Val	Ile	Asn	Asn	Asp	Gln	Asn	Ala	Thr		
1295						1300					1305					
Asn	Glu	Glu	Lys	Glu	Ala	Ala	Ile	Gln	Gln	Leu	Ala	Thr	Ala	Val		
1310						1315					1320					
Thr	Asp	Ala	Lys	Asn	Asn	Ile	Thr	Ala	Ala	Thr	Asp	Asp	Asn	Gly		
1325						1330					1335					

ES 2 642 892 T3

Val Asp Thr Ala Lys Asp Ala Gly Lys Asn Ser Ile Gln Ser Thr
1340 1345 1350

Gln Pro Ala Thr Ala Val Lys Ser Asn Ala Lys Asn Glu Val Asp
1355 1360 1365

Gln Ala Val Thr Thr Gln Asn Gln Ala Ile Asp Asn Thr Thr Gly
1370 1375 1380

Ala Thr Thr Glu Glu Lys Asn Ala Ala Lys Asp Leu Val Leu Lys
1385 1390 1395

Ala Lys Glu Lys Ala Tyr Gln Asp Ile Leu Asn Ala Gln Thr Thr
1400 1405 1410

Asn Asp Val Thr Gln Ile Lys Asp Gln Ala Val Ala Asp Ile Gln
1415 1420 1425

Gly Ile Thr Ala Asp Thr Thr Ile Lys Asp Val Ala Lys Asp Glu
1430 1435 1440

Leu Ala Thr Lys Ala Asn Glu Gln Lys Ala Leu Ile Ala Gln Thr
1445 1450 1455

Ala Asp Ala Thr Thr Glu Glu Lys Glu Gln Ala Asn Gln Gln Val
1460 1465 1470

Asp Ala Gln Leu Thr Gln Gly Asn Gln Asn Ile Glu Asn Ala Gln
1475 1480 1485

Ser Ile Asp Asp Val Asn Thr Ala Lys Asp Asn Ala Ile Gln Ala
1490 1495 1500

Ile Asp Pro Ile Gln Ala Ser Thr Asp Val Lys Thr Asn Ala Arg
1505 1510 1515

Ala Glu Leu Leu Thr Glu Met Gln Asn Lys Ile Thr Glu Ile Leu
1520 1525 1530

Asn Asn Asn Glu Thr Thr Asn Glu Glu Lys Gly Asn Asp Ile Gly
1535 1540 1545

Pro Val Arg Ala Ala Tyr Glu Glu Gly Leu Asn Asn Ile Asn Ala
1550 1555 1560

Ala Thr Thr Thr Gly Asp Val Thr Thr Ala Lys Asp Thr Ala Val
1565 1570 1575

ES 2 642 892 T3

Gln Lys Val Gln Gln Leu His Ala Asn Pro Val Lys Lys Pro Ala
 1580 1585 1590

Gly Lys Lys Glu Leu Asp Gln Ala Ala Ala Asp Lys Lys Thr Gln
 1595 1600 1605

Ile Glu Gln Thr Pro Asn Ala Ser Gln Gln Glu Ile Asn Asp Ala
 1610 1615 1620

Lys Gln Glu Val Asp Thr Glu Leu Asn Gln Ala Lys Thr Asn Val
 1625 1630 1635

Asp Gln Ser Ser Thr Asn Glu Tyr Val Asp Asn Ala Val Lys Glu
 1640 1645 1650

Gly Lys Ala Lys Ile Asn Ala Val Lys Thr Phe Ser Glu Tyr Lys
 1655 1660 1665

Lys Asp Ala Leu Ala Lys Ile Glu Asp Ala Tyr Asn Ala Lys Val
 1670 1675 1680

Asn Glu Ala Asp Asn Ser Asn Ala Ser Thr Ser Ser Glu Ile Ala
 1685 1690 1695

Glu Ala Lys Gln Lys Leu Ala Glu Leu Lys Gln Thr Ala Asp Gln
 1700 1705 1710

Asn Val Asn Gln Ala Thr Ser Lys Asp Asp Ile Glu Val Gln Ile
 1715 1720 1725

His Asn Asp Leu Asp Asn Ile Asn Asp Tyr Thr Ile Pro Thr Gly
 1730 1735 1740

Lys Lys Glu Ser Ala Thr Thr Asp Leu Tyr Ala Tyr Ala Asp Gln
 1745 1750 1755

Lys Lys Asn Asn Ile Ser Ala Asp Thr Asn Ala Thr Gln Asp Glu
 1760 1765 1770

Lys Gln Gln Ala Ile Lys Gln Val Asp Gln Asn Val Gln Thr Ala
 1775 1780 1785

Leu Glu Asn Ile Asn Asn Gly Val Asp Asn Gly Asp Val Asp Asp
 1790 1795 1800

Ala Leu Thr Gln Gly Lys Ala Ala Ile Asp Thr Ile Gln Val Asp
 1805 1810 1815

ES 2 642 892 T3

Ala Thr Val Lys Pro Lys Ala Asn Gln Ala Ile Glu Ala Lys Ala
1820 1825 1830

Glu Asp Thr Lys Glu Ser Ile Asp His Ser Asp Gln Leu Thr Ala
1835 1840 1845

Glu Glu Lys Thr Glu Ala Leu Ala Met Ile Lys Gln Ile Thr Asp
1850 1855 1860

Gln Ala Lys Gln Gly Ile Thr Asp Ala Thr Thr Thr Ala Glu Val
1865 1870 1875

Glu Lys Ala Lys Ala Gln Gly Leu Glu Ala Phe Asp Asn Ile Gln
1880 1885 1890

Ile Asp Ser Thr Glu Lys Gln Lys Ala Ile Glu Glu Leu Glu Thr
1895 1900 1905

Ala Leu Asp Gln Ile Glu Ala Gly Val Asn Val Asp Ala Asp Ala
1910 1915 1920

Thr Thr Glu Glu Lys Glu Ala Phe Thr Asn Ala Leu Glu Asp Ile
1925 1930 1935

Leu Ser Lys Ala Thr Glu Asp Ile Ser Asp Gln Thr Thr Asn Ala
1940 1945 1950

Glu Ile Ala Thr Val Lys Asn Ser Ala Leu Glu Gln Leu Lys Ala
1955 1960 1965

Gln Arg Ile Asn Pro Val Val Lys Lys Asn Ala Leu Glu Ala Ile
1970 1975 1980

Arg Glu Val Val Asn Lys Gln Ile Glu Ile Ile Lys Asn Ala Asp
1985 1990 1995

Ala Asp Ala Ser Ala Lys Glu Ile Ala Arg Thr Asp Leu Gly Arg
2000 2005 2010

Tyr Phe Asp Arg Phe Ala Asp Lys Leu Asp Lys Thr Gln Thr Asn
2015 2020 2025

Thr Glu Val Ala Glu Leu Gln Asn Val Thr Ile Pro Ala Ile Glu
2030 2035 2040

Ala Ile Val Pro Gln Asn Asp Pro Asp Ala Asn Asp Thr Asn Asn

ES 2 642 892 T3

2045						2050						2055			
Gly	Thr	Asp	Asn	Asn	Asp	Ala	Thr	Ala	Asn	Ser	Asn	Ala	Asn	Ala	
2060						2065					2070				
Thr	Pro	Glu	Asn	Thr	Gly	Gln	Pro	Asn	Val	Ser	Glu	Thr	Thr	Asp	
2075						2080					2085				
Asn	Gly	Lys	Ala	Asp	Ala	Ser	Pro	Thr	Thr	Pro	Asn	Asn	Ser	Asp	
2090						2095					2100				
Ala	Ala	Thr	Gly	Glu	Thr	Thr	Val	Thr	Ser	Ala	Thr	Asp	Asp	Ala	
2105						2110					2115				
Lys	Asp	Lys	Pro	Gln	Ala	Asn	Asn	Asn	Ser	Ser	Ala	Asp	Ala	Ser	
2120						2125					2130				
Thr	Asn	Ser	Pro	Thr	Met	Asp	Asn	Asp	Val	Thr	Ser	Lys	Pro	Glu	
2135						2140					2145				
Val	Glu	Ser	Thr	Asn	Asn	Gly	Thr	Thr	Asp	Lys	Pro	Val	Thr	Glu	
2150						2155					2160				
Thr	Asp	Asn	Ala	Thr	Pro	Ala	Glu	Ser	Thr	Thr	Asn	Asn	Asn	Ser	
2165						2170					2175				
Thr	Thr	Thr	Ala	Thr	Asn	Glu	Asn	Ala	Pro	Thr	Gly	Ser	Thr	Ala	
2180						2185					2190				
Thr	Ala	Pro	Thr	Thr	Ala	Ser	Thr	Glu	Ala	Ala	Ser	Ser	Ala	Asp	
2195						2200					2205				
Ser	Lys	Asp	Asn	Ala	Ser	Val	Asn	Asp	Ser	Lys	Gln	Asn	Ala	Glu	
2210						2215					2220				
Val	Asn	Asn	Ser	Ala	Glu	Ser	Gln	Ser	Thr	Asn	Gly	Lys	Val	Ala	
2225						2230					2235				
Gln	Pro	Lys	Ser	Glu	Asn	Lys	Ala	Lys	Ala	Glu	Lys	Asp	Gly	Arg	
2240						2245					2250				
Asp	Ser	Thr	Asn	Gln	Ser	Met	Val	Glu	Ser	Thr	Thr	Glu	Thr	Leu	
2255						2260					2265				
Pro	Ser	Ala	Asp	Ile	Thr	Glu	Pro	Asn	Val	Pro	Ser	Asn	Thr	Ser	
2270						2275					2280				

ES 2 642 892 T3

Lys Asp Lys Glu Glu Ser Thr Thr Asn Gln Thr Asp Ala Gly Gln
 2285 2290 2295

Leu Lys Ser Glu Thr Asn Val Ala Ser Asn Glu Ala Asp Lys Ser
 2300 2305 2310

Pro Ser Lys Ala Asp Thr Glu Val Ser Asn Lys Pro Ser Thr Ser
 2315 2320 2325

Ala Ser Ser Glu Ala Lys Asp Lys Met Thr Ser Thr Asn Val Ser
 2330 2335 2340

Gln Lys Asp Asp Thr Ala Thr Ala Asp Thr Asn Asp Thr Gln Lys
 2345 2350 2355

Ser Val Gly Pro Val Ala Asn Asn Lys Ala Lys Asp Met Gln Thr
 2360 2365 2370

Asn Asp Thr Gln Lys Ser Val Gly Ser Ala Ala Asn Asn Lys Ala
 2375 2380 2385

Thr Gln Asn Asp Gly Ala Asn Ala Ser Pro Ala Thr Val Ser Asn
 2390 2395 2400

Gly Ser His Ser Met His Gln Asp Met Leu Asn Val Thr Lys Pro
 2405 2410 2415

Glu Glu Asn Lys Ala Asn Ala Lys Ser Asp Gln Gln Gly Lys Val
 2420 2425 2430

Asn Lys Pro Lys Gln Gln Ala Lys Thr Leu Pro Asp Thr Gly Met
 2435 2440 2445

Ser His Asn Asp Asp Leu Pro Tyr Ala Glu Leu Ala Leu Gly Ala
 2450 2455 2460

Gly Met Ala Phe Leu Ile Arg Arg Phe Thr Lys Lys Asp Gln Gln
 2465 2470 2475

Thr Glu Glu
 2480

REIVINDICACIONES

1. Una formulación de vacuna que comprende:

5 (a) cinco polipéptidos de *Staphylococcus aureus*, o partes de los mismos, o variantes de los mismos, o combinaciones de los mismos, en los que los polipéptidos de *S. aureus* son (i) el polipéptido de *S. aureus* SA0037 expuesto en SEQ ID NO: 13, (ii) polipéptido *S. aureus* SA0119 expuesto en SEQ ID NO: 14, (iii) el polipéptido de *S. aureus* SA0486 expuesto en SEQ ID NO: 15, (iv) polipéptido de *S. aureus* SA0688 expuesto en SEQ ID NO: 16, y (v) el conjunto de glucosaminidasa de *S. aureus* en SEQ ID NO: 17, y

10 (b) un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable;

en el que la variante tiene al menos 95% de identidad de secuencia a lo largo de toda la longitud de los polipéptidos o partes de los mismos,

15 en el que la parte es al menos 95% del tamaño del polipéptido de longitud completa, y

en el que la formulación de vacuna es apropiada para tratar o inhibir una infección por *S. aureus* planctónica y de biopelícula.

20 2. La formulación de vacuna de la reivindicación 1, en la que la formulación comprende una variante de al menos uno de los polipéptidos de *S. aureus* y en la que la variante tiene al menos un 98% de identidad de secuencia a lo largo de toda la longitud de los polipéptidos o partes de los mismos.

25 3. La formulación de vacuna de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en la que la formulación comprende versiones de longitud completa de los cinco polipéptidos de *S. aureus*.

4. La formulación de vacuna de la reivindicación 1 o la reivindicación 3, en la que la formulación de vacuna consta de:

30 (a) polipéptido de *S. aureus* SA0037 expuesto en SEQ ID NO: 13, (ii) polipéptido de *S. aureus*. SA0119 expuesto en SEQ ID NO: 14, (iii) polipéptido de *S. aureus* SA0486 expuesto en SEQ ID NO: 15, (iv) polipéptido de *S. aureus* SA0688 expuesta en SEQ ID NO: 16, y (v) glucosaminidasa de *S. aureus* expuesta en SEQ ID NO: 17, y

35 (b) un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

5. La formulación de vacuna de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 para su uso en un método para generar una respuesta inmune en un sujeto.

40 6. La formulación de vacuna para uso según la reivindicación 5, en la que dicha respuesta inmune es una respuesta inmune protectora.

7. La formulación de vacuna de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 para su uso en un método para inhibir una infección por *S. aureus* en un sujeto en riesgo de desarrollar una infección por *S. aureus*.

45 8. La formulación de vacuna de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 para uso en un método de tratamiento de una infección por *S. aureus* en un sujeto con una infección por *S. aureus*.

50 9. La formulación de vacuna para uso según la reivindicación 7 o la reivindicación 8, que comprende además administrar un agente antimicrobiano al sujeto, en el que el agente antimicrobiano se administra simultáneamente con, antes o después de la formulación de vacuna.

55 10. La formulación de vacuna para uso según la reivindicación 9, en la que el agente antimicrobiano se selecciona del grupo consistente en un aminoglucósido, un carbacefem, un carbapenem, una cefalosporina, un glicopéptido, un macrólido, un monobactam, una penicilina, un polipéptido, una quinolona, una sulfonamida, una tetraciclina, cloranfenicol, clindamicina, lincomicina, ácido fusídico, furazolidona, linezolid, metronidazol, mupirocina, nitrofurantoína, macrobid, platensimicina, quinupristina/dalfopristina, rifampina y rifampicina.

60 11. La formulación de vacuna para uso según la reivindicación 7 o la reivindicación 8, en la que la infección por *S. aureus* es una infección por *S. aureus* de biopelícula.

Figura 1

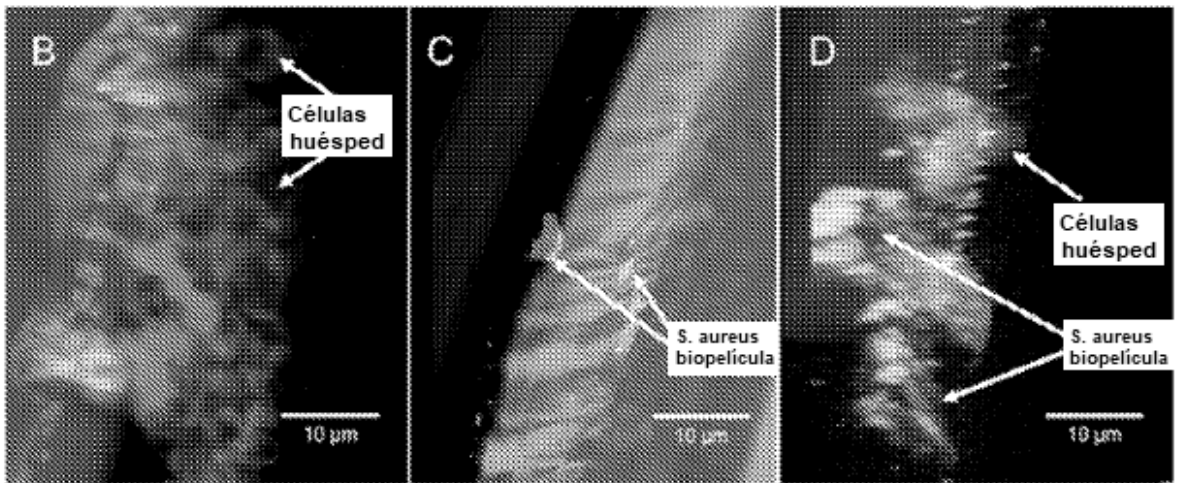
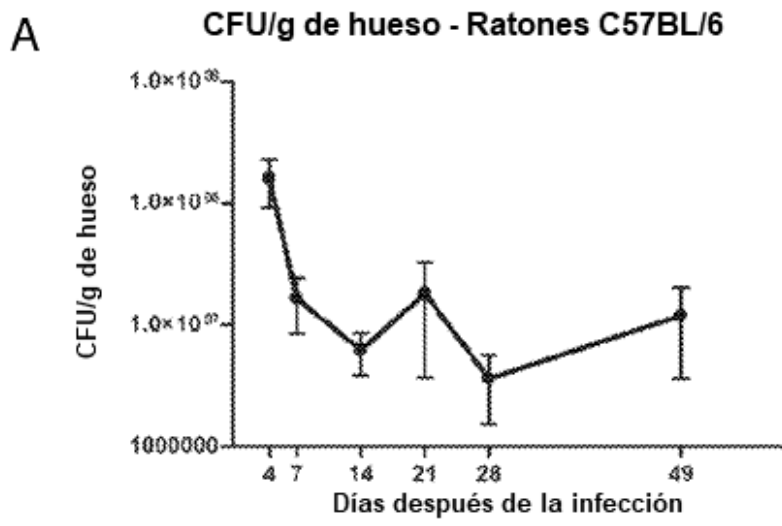


Figura 2

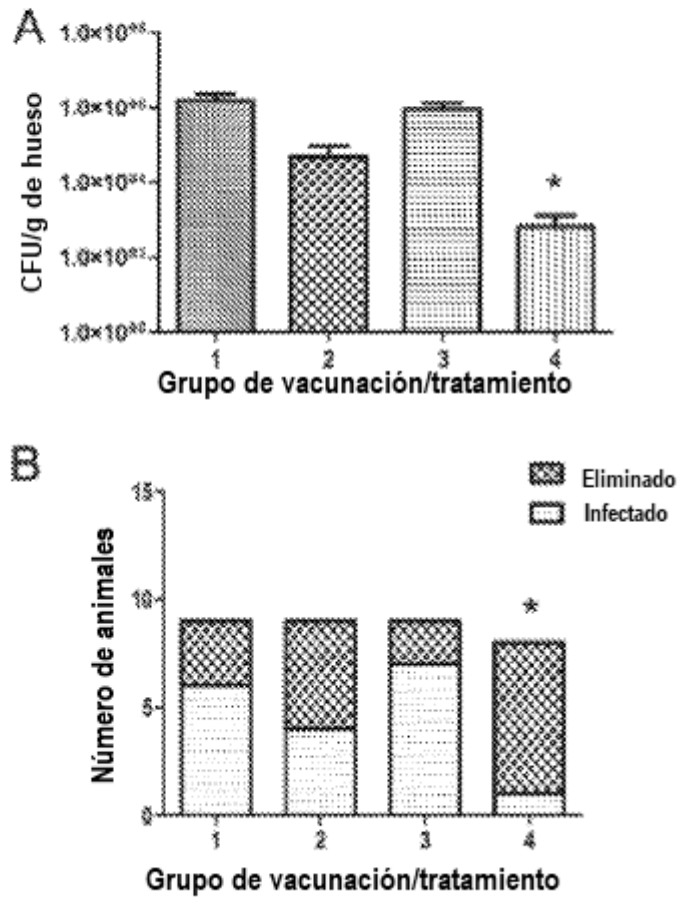


Figura 3

