

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 769 647**

51 Int. Cl.:

A61K 35/74 (2015.01)

A61K 39/085 (2006.01)

A61K 39/39 (2006.01)

C07K 14/31 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.03.2015 PCT/EP2015/056175**

87 Fecha y número de publicación internacional: **01.10.2015 WO15144653**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.03.2015 E 15711523 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.12.2019 EP 3122378**

54 Título: **Antígenos estafilocócicos mutantes**

30 Prioridad:

26.03.2014 EP 14161861
12.11.2014 EP 14192913

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
26.06.2020

73 Titular/es:

GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A. (100.0%)
Rue de l'Institut, 89
1330 Rixensart, BE

72 Inventor/es:

BAGNOLI, FABIO;
FIASCHI, LUIGI y
SCARSELLI, MARIA

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 769 647 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

Antígenos estafilocócicos mutantes

Campo técnico

La presente invención se refiere a la inmunización frente a la infección por *S. aureus*.

5 Técnica anterior

Staphylococcus aureus es una bacteria esférica grampositiva. La mortalidad anual en EE. UU. supera la de cualquier otra enfermedad infecciosa, incluyendo VIH/sida, y *S. aureus* es la causa principal de septicemia, infección respiratoria de vías bajas, infección de piel y partes blandas. También es la causa predominante de infecciones óseas en todo el mundo, y estas infecciones son dolorosas, debilitantes y difíciles de tratar.

10 El tratamiento de *S. aureus* está siendo cada vez más problemático debido al desarrollo de resistencia a antibióticos de muchas cepas de *S. aureus*. *S. aureus* resistente a la meticilina (SARM) se encuentra en más de la mitad de las infecciones hospitalarias y extrahospitalarias totales. Los últimos años han presenciado la aparición de cepas de SARM que también son resistentes a la vancomicina, el antibiótico de último recurso, y que son esencialmente intratables.

15 Actualmente no existe una vacuna autorizada. Una vacuna basada en una mezcla de polisacáridos de superficie de tipos bacterianos 5 y 8, StaphVAX™, no logró reducir las infecciones en comparación con el grupo de placebo en un ensayo clínico de fase III. Del mismo modo, la vacuna V710 [1], basada en el antígeno IsdB [2], no logró reducir la tasa de infecciones posoperatorias por *S. aureus* [3].

20 La necesidad de obtener una vacuna es particularmente acuciante debido al problema de la resistencia a antibióticos y el hecho de que la infección por *S. aureus* no proporciona inmunidad de futura infección gracias a sus bien desarrolladas capacidades de evasión inmunitaria. A su vez, las propiedades de evasión inmunitaria de *S. aureus* hacen que el desarrollo de vacunas eficaces sea más difícil. Los mecanismos de evasión inmunitaria no se entienden completamente, pero al menos se deben en parte a la proteína A estafilocócica (SpA), una molécula de superficie de *S. aureus* que se une al Fc de la inmunoglobulina (Ig) y a la porción Fab de los receptores de linfocitos B de tipo VH3.

25 La interacción de SpA con los receptores de linfocitos B da lugar a expansión clonal y posterior muerte celular de las poblaciones de linfocitos B, dando lugar a la destrucción de la respuesta inmunitaria adaptativa. La unión de SpA al Fc de Ig interfiere en el aclaramiento opsonofagocítico de estafilococos mediante leucocitos polimorfonucleares.

Se han desarrollado formas mutantes de SpA con afinidad reducida por las inmunoglobulinas. El documento WO2011/005341 describe una SpA con mutaciones puntuales en cada uno de los cinco dominios de unión a Ig que

30 reducen la capacidad de la proteína para unirse a IgG.

La referencia 4 desvela diversos enfoques para proporcionar vacunas contra *S. aureus* mejoradas, incluyendo dos combinaciones de inmunógenos preferentes denominados "Combo-1" y "Combo-2". "Combo-1" incluyó cinco antígenos EsxA, EsxB, un Hla mutante, FhuD2 y Sta011, mientras que "Combo-2" usó un fragmento de IsdA en vez del Hla mutante. Ambas de estas combinaciones se sometieron a prueba con adyuvantes de hidróxido de aluminio e incrementaron la mediana del tiempo de supervivencia en un modelo murino de infección en comparación con tampón solo o con el antígeno IsdB. También se ha sometido a prueba "Combo-1" con un adyuvante de hidróxido de aluminio y un agonista de TLR7, y la adición del agonista de TLR7 mejoró las respuestas [5].

35

A pesar de los resultados positivos con "Combo-1" y "Combo-2", sigue existiendo una necesidad de composiciones adicionales y mejoradas para inmunizar frente a *S. aureus*.

40 Divulgación de la invención

La proteína A (SpA) (SEQ ID NO: 43), una proteína de superficie anclada a la pared celular de *Staphylococcus aureus*, proporciona la evasión bacteriana de las respuestas inmunitarias innatas y adaptativas. La proteína A se une a las inmunoglobulinas en su porción Fc, interacciona con el dominio VH3 de los receptores de linfocitos B estimulando de manera inapropiada la apoptosis y proliferación de linfocitos B, se une a los dominios A1 del factor de Von Willebrand para activar la coagulación intracelular y también se une al receptor 1 del TNF para contribuir a la patogenia de la neumonía estafilocócica. Debido al hecho de que la proteína A captura inmunoglobulina y presenta cualidades tóxicas, no se ha explorado con rigor la posibilidad de que esta molécula de superficie pueda funcionar como una vacuna en seres humanos. Aquí los inventores demuestran que las variantes de la proteína A que ya no se pueden unir a inmunoglobulinas, de las que así se elimina su potencial toxínogeno, es decir, son no toxínogenas, estimulan las

45 respuestas inmunitarias humorales que protegen frente a la enfermedad estafilocócica.

50

Por lo tanto, la invención proporciona antígenos SpA mutantes como se define en las reivindicaciones. Dichos mutantes tienen preferentemente afinidad disminuida por la porción Fcγ de IgG humana con respecto a SpA no modificada. Los mutantes también pueden tener afinidad disminuida, con respecto a SpA no modificada, por la porción Fab de los receptores de linfocitos B humanos que contienen VH3.

Los inventores han comprobado que la conocida vacuna "Combo-1" se puede mejorar añadiendo una proteína A estafilocócica (SpA) mutante que se ha modificado para que disminuya su afinidad por la porción Fc γ de IgG humana y por la porción Fab de los receptores de linfocitos B que contienen V γ 3. Este antígeno adicional incrementa la eficacia protectora de la combinación y proporciona resultados sorprendentes en un modelo de absceso renal. Ninguna de las combinaciones de antígenos sometida a prueba en la referencia 4 incluyó un antígeno SpA.

Por lo tanto, la invención proporciona adicionalmente una composición inmunogénica que comprende los antígenos EsxA, EsxB, FhuD2, Sta011 y Hla, caracterizada por que la composición incluye adicionalmente un antígeno SpA mutante de la invención, en la que el mutante tiene afinidad disminuida, con respecto a SpA no modificada, por la porción Fc γ de IgG humana y por la porción Fab de receptores de linfocitos B humanos que contienen V γ 3.

La invención también proporciona una composición inmunogénica que comprende: (i) al menos un antígeno seleccionado del grupo que consiste en los antígenos EsxA, EsxB, FhuD2, Sta011 y Hla; y (ii) un antígeno SpA mutante como se define en las reivindicaciones que tiene afinidad disminuida, con respecto a SpA no modificada, por la porción Fc γ de IgG humana y por la porción Fab de receptores de linfocitos B humanos que contienen V γ 3. De esta manera, se pueden usar 1, 2, 3, 4 o los 5 de EsxA, EsxB, FhuD2, Sta011 y Hla en combinación con la SpA mutante.

A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que el entendido comúnmente por un experto en la técnica pertinente.

Por conveniencia, se proporcionan el significado de determinados términos y expresiones empleados en la memoria descriptiva, los ejemplos y las reivindicaciones.

Antígenos de *S. aureus*

La invención se refiere a un antígeno SpA mutante. La SpA natural (proteína A estafilocócica) es una proteína de superficie anclada a la pared celular que es un factor de virulencia clave para las infecciones pulmonares, septicemia y desarrollo de abscesos y se expresa por la mayoría de las cepas aisladas clínicas de *S. aureus*. La SpA natural se une a la porción Fc de la IgG humana, a receptores de linfocitos B que contienen V γ 3, al factor de Von Willebrand en su dominio A1 y al receptor 1 del TNF- α . La interacción de SpA con receptores de linfocitos B da lugar a la expansión clonal y posterior muerte celular de poblaciones de linfocitos B con efectos sobre las respuestas inmunitarias adaptativa e innata, mientras que su unión al Fc γ de IgG interfiere en el aclaramiento opsonofagocítico de estafilococos mediante leucocitos polimorfonucleares. La parte terminal del extremo N de la SpA madura comprende cuatro o cinco dominios de unión a Ig de 56–61 restos, que se pliegan en empaquetamientos helicoidales triples conectados mediante enlazadores cortos y se designan en el orden E, D, A, B y C [6]. Estos dominios presentan ~ un 80 % de identidad a nivel de aminoácidos, son de 56 a 61 restos de longitud y están organizados como repeticiones en tándem [7]. La región terminal del extremo C comprende "Xr", un octapéptido altamente repetitivo, aunque variable, y "Xc", un dominio adyacente a la estructura de anclaje de la pared celular de la SpA.

En la cepa NCTC 8325, la spa es SAOUHSC_00069 y tiene la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 43 (GI:88193885). En la cepa Newman, es nwmn_0055 (GI:151220267). Los antígenos SpA usados con la divulgación pueden inducir un anticuerpo (por ejemplo, cuando se administran a un ser humano) que reconozca la SEQ ID NO: 43 y/o pueden comprender una secuencia aminoacídica: (a) que tenga un 50% o más de identidad (por ejemplo, un 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o más) con la SEQ ID NO: 43; y/o (b) que comprenda un fragmento de al menos 'n' aminoácidos consecutivos de la SEQ ID NO: 43, en el que 'n' es 7 o más (por ejemplo, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250 o más). Estos antígenos SpA incluyen variantes de la SEQ ID NO: 43. Los fragmentos preferentes de (b) comprenden un epítipo de la SEQ ID NO: 43. Otros fragmentos preferentes carecen de uno o más aminoácidos (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25 o más) del extremo C y/o uno o más aminoácidos (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25 o más) del extremo N de la SEQ ID NO: 43, mientras que conservan al menos un epítipo de la SEQ ID NO: 43. Por utilidad, se pueden omitir los últimos 35 aminoácidos terminales del extremo C de la SEQ ID NO: 43. Por utilidad, se pueden omitir los primeros 36 aminoácidos terminales del extremo N de la SEQ ID NO: 43. La referencia 8 sugiere que los dominios de unión a IgG individuales pueden ser inmunógenos útiles, solos o en combinación.

Un fragmento útil de SEQ ID NO: 43 es los aminoácidos 37 a 325. Este fragmento contiene todos los cinco dominios de unión a Ig de la SpA (que están dispuestos de manera natural desde el extremo N al C en el orden E, D, A, B, C) e incluye el dominio más expuesto de la SpA. También reduce la similitud del antígeno con las proteínas humanas. Otros fragmentos útiles pueden omitir 1, 2, 3 o 4 de los dominios A, B, C, D y/o E naturales para prevenir la expansión excesiva de linfocitos B y entonces la apoptosis que se puede producir si la spa funciona como un superantígeno de linfocitos B. Como se señala en la referencia 18, otros fragmentos útiles pueden incluir únicamente 1, 2, 3 o 4 de los dominios A, B, C, D y/o E naturales, por ejemplo, comprender únicamente el dominio SpA(A), pero no de B a E, o comprender únicamente el dominio SpA(D), pero no A, B, C o E, etc. De esta manera, un antígeno spa útil puede incluir 1, 2, 3, 4 o 5 dominios de unión a IgG, pero idealmente tiene 4 o menos

De esta manera, otro fragmento útil de SpA comprende o consiste en la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 50, en la que el doblete de aminoácidos en las posiciones 60 y 61 no es Gln-Gln. Dicho doblete se puede mutar como se describe a continuación, por ejemplo, a Lys-Arg. De esta manera, dicho fragmento puede comprender o consistir en

la SEQ ID NO: 51 o 52.

Si un antígeno incluye únicamente un tipo de dominio de spa (por ejemplo, únicamente el dominio Spa(A), Spa(D) o Spa(E)), puede incluir más de una copia de este dominio, por ejemplo, múltiples dominios Spa(E) en una cadena polipeptídica única. También puede incluir un tipo de dominio de Spa y otra proteína o polipéptido. De esta manera, un antígeno de la divulgación puede ser una proteína de fusión que comprenda únicamente un tipo de dominio de Spa, tal como el dominio Spa(E), y otro antígeno proteico, tal como EsxA; EsxB; FhuD2; Sta011; y Hla.

Los antígenos Spa de la invención se mutan con respecto a la SEQ ID NO: 43, de tal manera que tengan afinidad disminuida por la porción Fc γ de IgG humana. Por ejemplo, se muta el dipéptido QQ en los restos 60-61 de la SEQ ID NO: 43 para reducir la afinidad por las inmunoglobulinas. A continuación, se analizan las sustituciones de dipéptidos útiles para un dipéptido QQ, y una sustitución preferente es el dipéptido KR. De esta manera, un antígeno Spa útil puede comprender la SEQ ID NO: 49, en la todos los dipéptidos 11 XX difieren de los dipéptidos correspondientes en la SEQ ID NO: 43. Por ejemplo, el antígeno Spa puede comprender la SEQ ID NO: 46 y un ejemplo preferente de la SEQ ID NO: 46 es la SEQ ID NO: 47. Cuando se expresa con una metionina terminal del extremo N, el antígeno Spa que comprende la SEQ ID NO: 47 puede consistir en la SEQ ID NO: 48.

Los antígenos Spa usados con la divulgación se pueden mutar adicionalmente con respecto a la SEQ ID NO: 43, de tal manera que tengan afinidad disminuida por la porción Fc γ de IgG humana y por la porción Fab de receptores de linfocitos B humanos que contienen V β 3. Por ejemplo, esto se puede conseguir y evaluar siguiendo la indicación en la referencia 9. De esta manera, se puede mutar al menos un dipéptido Gln-Gln en Spa natural (por ejemplo, a Lys-Lys; otras mutaciones posibles incluyen Arg-Arg, Arg-Lys, Lys-Arg, Ala-Ala, Ser-Ser, Ser-Thr, Thr-Thr, etc.) y/o se puede mutar al menos un dipéptido Asp-Asp en Spa natural (por ejemplo, a Ala-Ala; otras mutaciones posibles incluyen Lys-Lys, Arg-Arg, Lys-Arg, Arg-Lys, His-His, Val-Val, etc.). Estas secuencias diana para la mutación están subrayadas a continuación, donde los guiones separan los cinco dominios de unión a Ig:

MKKKNIYSIRKLGVGIASVTLGTLTLLISGGVTP-AANAAQHDEAQQNAFYQVLNMPNLNADQRNGF
 IQSLKDDPSQSANVLGEAQKLNDSQAPK-ADAQQNNFNKDOQSAFYEILNMPNLNEAQRNGF IQS
 LKDDPSQSTNVLGEAKKLNESQAPK-ADNNFNKEQQNAFYEILNMPNLNEEQRNGF IQSLKDDPS
 QSANLLSEAKKLNESQAPK-ADNKFNKEQQNAFYEILHLPNLNEEQRNGF IQSLKDDPSQSANLL
 AEAKKLNDQAQPK-ADNKFNKEQQNAFYEILHLPNLTEEQRNGF IQSLKDDPSVSKEILAEAKKL
 NDAQAPK-EEDNNKPGKEDNNKPGKEDNNKPGKEDNNKPGKEDNNKPGKEDGKPKGKEDNNKPGK

EDGNKPGKEDNNKPGKEDGNKPGKEDGNKPGKEDGNVHVVKPGDTVNDIAKANGTTADKIAADN
 KLADKNMIKPGQELVVDKKQPANHADANKAQAALPETGEENPFITTVFGGLSLALGAALLAGRRR
 EL
 (SEQ ID NO: 43)

Un dominio individual en el antígeno Spa desvelado en el presente documento se puede mutar en 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más aminoácidos con respecto a la SEQ ID NO: 43 (por ejemplo, véase anteriormente en relación con las secuencias Gln-Gln y Asp-Asp, pero también las mutaciones en los restos 3 y/o 24 del dominio D, en el resto 46 y/o 53 del dominio A, etc.). Dichas mutaciones no deberían eliminar la capacidad del antígeno de inducir un anticuerpo que reconozca la SEQ ID NO: 43, pero eliminarán la unión del antígeno a IgG y/u otras proteínas humanas (tales como proteínas de la sangre humana) como se advierte anteriormente. Particularmente, el antígeno Spa mutante es de la secuencia que comprende o que consiste en la SEQ ID NO: 43 mutada en al menos 1, más particularmente al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 e incluso más particularmente 20 aminoácidos en la posición 43, 44, 70, 71, 104, 105, 131, 132, 162, 163, 190, 191, 220, 221, 247, 248, 278, 279, 305 y/o 306 de la SEQ ID NO: 43. Las sustituciones útiles para estas posiciones se mencionan anteriormente.

Además, se puede eliminar el extremo N natural y, por utilidad, se pueden omitir los primeros 36 aminoácidos de la SEQ ID NO: 43. Del mismo modo, se puede eliminar el extremo C natural, y, por utilidad, se puede omitir la secuencia corriente abajo del quinto dominio de unión a Ig (es decir, corriente abajo de Lys-327 en la SEQ ID NO: 43). De esta manera, un antígeno Spa útil comprende la SEQ ID NO: 44:

AQHDEAXXNAFYQVLNMPNLNADQRNGFIQSLKXXPSQSANVLGEAQKLNDSQAPKADAQQNNFN
 KXXSAFYEILNMPNLNEAQRNGFIQSLKXXPSQSTNVLGEAKKLNESQAPKADNNFNKEXXNAF
 YEILNMPNLNEEQRNGFIQSLKXXPSQSANLLSEAKKLNESQAPKADNKFNKEXXNAFYEILHLP
 NLNEEQRNGFIQSLKXXPSQSANLLAEAKKLNDQAQPKADNKFNKEXXNAFYEILHLPNLTEEQR
 NGFIQSLKXXPSVSKEILAEAKKLNDQAQPK

en la que los 10 dipéptidos XX subrayados difieren de los dipéptidos correspondientes en la SEQ ID NO: 43. De esta manera, un QQ en estas posiciones en la SEQ ID NO: 43 no es QQ en la SEQ ID NO: 44, e idealmente no incluye ningún resto de glutamina, por ejemplo, es KK. Del mismo modo, un DD en estas posiciones en la SEQ ID NO: 43 no es DD en la SEQ ID NO: 44, e idealmente no incluye ningún resto de aspartato, por ejemplo, es AA. De esta manera,

una SpA para su uso con la divulgación comprende la SEQ ID NO: 45.

Además de las sustituciones en los dipéptidos XX en la SEQ ID NO: 44, es posible modificar la secuencia aminoacídica con hasta 5 cambios amino únicos, siempre que la secuencia modificada pueda inducir anticuerpos que todavía se unan a un polipéptido que consiste en la SEQ ID NO: 44. De esta manera, se puede modificar la SEQ ID NO: 45 mediante 1, 2 o 3 sustituciones en las posiciones fuera de los dipéptidos XX en la SEQ ID NO: 44. Por ejemplo, se puede mutar el dipéptido QQ en los restos 60-61 de la SEQ ID NO: 44 para reducir adicionalmente la afinidad por las inmunoglobulinas. Anteriormente se han analizado las sustituciones de dipéptidos útiles para un dipéptido QQ, y una sustitución preferente es el dipéptido KR. De esta manera, un antígeno SpA útil puede comprender la SEQ ID NO: 49, en la que uno o más (preferentemente todos) los dipéptidos 11 XX difieren de los dipéptidos correspondientes en la SEQ ID NO: 43. Por ejemplo, el antígeno SpA puede comprender la SEQ ID NO: 46 y un ejemplo preferente de la SEQ ID NO: 46 es la SEQ ID NO: 47. Cuando se expresa con una metionina terminal del extremo N, el antígeno SpA que comprende la SEQ ID NO: 47 puede consistir en la SEQ ID NO: 48.

Como se ha analizado anteriormente, un fragmento útil de SpA puede incluir únicamente 1, 2, 3 o 4 de los dominios A, B, C, D y/o E naturales, por ejemplo, comprender únicamente el dominio SpA(E), pero no D, A, B o C. De esta manera, un antígeno SpA puede comprender únicamente el dominio SpA(E) mutado como se describe anteriormente, es decir, la secuencia aminoacídica que comprende o que consiste en la SEQ ID NO: 54 mutada en al menos 1 aminoácido en las posiciones 60 y 61 de la SEQ ID NO: 54, aminoácidos de 1 a 67 de la SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47 o SEQ ID NO: 49, aminoácidos de 1 a 68 de la SEQ ID NO: 48. Por ejemplo, dicho antígeno puede comprender la SEQ ID NO. 50, SEQ ID NO. 51, SEQ ID NO. 52 o SEQ ID NO. 53. Dicho antígeno no incluye preferentemente otra secuencia de SpA. Puede incluir más de una copia del dominio SpA(E), y/o comprender adicionalmente otro antígeno proteico, tal como un antígeno EsxA, EsxB, FhuD2, Sta011 o Hla como se describe en el presente documento.

Las combinaciones de antígenos de la divulgación usan 1, 2, 3, 4 o todos los 5 de los siguientes antígenos: EsxA; EsxB; FhuD2; Sta011; y Hla. Estos cinco antígenos ya se conocen en la técnica (por ejemplo, véanse las referencias **¡Error! Marcador no definido.**-5 10 11 12 13 14) y, a continuación, se facilitan detalles adicionales. Una composición particularmente útil incluye todos los cinco de estos antígenos (preferentemente donde el Hla es una forma mutante no tóxica (es decir, destoxificada)).

El antígeno 'EsxA' en la cepa NCTC 8325 tiene la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 1 (GI:88194063). Los antígenos EsxA usados con la presente invención pueden inducir un anticuerpo (por ejemplo, cuando se administran a un ser humano) que reconozca la SEQ ID NO: 1 y/o pueden comprender una secuencia aminoacídica: (a) que tenga un 50% o más de identidad (por ejemplo, un 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o más) con la SEQ ID NO: 1; y/o (b) que comprenda un fragmento de al menos 'n' aminoácidos consecutivos de la SEQ ID NO: 1, en el que 'n' es 7 o más (por ejemplo, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90 o más). Estos polipéptidos EsxA incluyen variantes de la SEQ ID NO: 1. Los fragmentos preferentes de (b) comprenden un epítipo de la SEQ ID NO: 1. Otros fragmentos preferentes carecen de uno o más aminoácidos (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25 o más) del extremo C y/o uno o más aminoácidos (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25 o más) del extremo N de la SEQ ID NO: 1, mientras que conservan al menos un epítipo de la SEQ ID NO: 1.

El antígeno 'EsxB' en la cepa NCTC 8325 tiene la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 2 (GI:88194070). El EsxB usado con la presente invención puede inducir un anticuerpo (por ejemplo, cuando se administra a un ser humano) que reconozca la SEQ ID NO: 2 y/o puede comprender una secuencia aminoacídica: (a) que tenga un 50% o más de identidad (por ejemplo, un 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o más) con la SEQ ID NO: 2; y/o (b) que comprenda un fragmento de al menos 'n' aminoácidos consecutivos de la SEQ ID NO: 2, en el que 'n' es 7 o más (por ejemplo, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 o más). Estos polipéptidos EsxB incluyen variantes de la SEQ ID NO: 2. Los fragmentos preferentes de (b) comprenden un epítipo de la SEQ ID NO: 2. Otros fragmentos preferentes carecen de uno o más aminoácidos (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25 o más) del extremo C y/o uno o más aminoácidos (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25 o más) del extremo N de la SEQ ID NO: 2, mientras que conservan al menos un epítipo de la SEQ ID NO: 2. Un antígeno EsxB útil carece del resto de cisteína interno de la SEQ ID NO: 2, por ejemplo, comprende la SEQ ID NO: 35, en la que el resto X en la posición 30 está ausente o bien es un resto aminoacídico sin un grupo tiol libre (en condiciones reductoras), por ejemplo, es cualquier aminoácido natural excepto cisteína.

El antígeno 'FhuD2' se anota como 'proteína de unión a ferricromo' y también se ha estudiado en la literatura [15]. También se ha conocido como 'Sta006' (por ejemplo, en las referencias **¡Error! Marcador no definido.**-**¡Error! Marcador no definido.**). En la cepa NCTC 8325, FhuD2 tiene la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 3 (GI:88196199). El FhuD2 usado con la presente invención puede inducir un anticuerpo (por ejemplo, cuando se administra a un ser humano) que reconozca la SEQ ID NO: 3 y/o puede comprender una secuencia aminoacídica: (a) que tenga un 50% o más de identidad (por ejemplo, un 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o más) con la SEQ ID NO: 3; y/o (b) que comprenda un fragmento de al menos 'n' aminoácidos consecutivos de la SEQ ID NO: 3, en el que 'n' es 7 o más (por ejemplo, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250 o más). Estos polipéptidos FhuD2 incluyen variantes de la

SEQ ID NO: 3. Los fragmentos preferentes de (b) comprenden un epítipo de la SEQ ID NO: 3. Otros fragmentos preferentes carecen de uno o más aminoácidos (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25 o más) del extremo C y/o uno o más aminoácidos (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25 o más) del extremo N de la SEQ ID NO: 3, mientras que conservan al menos un epítipo de la SEQ ID NO: 3. Por utilidad, se pueden omitir los primeros 17 aminoácidos terminales del extremo N de la SEQ ID NO: 3 (para proporcionar la SEQ ID NO: 6). Las formas mutantes de FhuD2 se señalan en la referencia 16. Un antígeno FhuD2 útil carece del resto de cisteína de la SEQ ID NO: 3, por ejemplo, comprende la SEQ ID NO: 34 y no incluye ningún resto aminoacídico con un grupo tiol libre (en condiciones reductoras), por ejemplo, está libre de cisteína. Por ejemplo, se puede lipidar un antígeno FhuD2 con una cisteína del extremo N acilada. Una secuencia de FhuD2 útil es la SEQ ID NO: 7, que tiene una secuencia Met-Ala-Ser- en el extremo N; la SEQ ID NO: 37 es otra de dichas secuencias, pero carece de la cisteína presente en la SEQ ID NO: 7.

El antígeno 'Sta011' tiene la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 4 (GI:88193872) en la cepa NCTC 8325. Los antígenos Sta011 usados con la invención pueden inducir un anticuerpo (por ejemplo, cuando se administran a un ser humano) que reconozca la SEQ ID NO: 4 y/o pueden comprender una secuencia aminoacídica: (a) que tenga un 50% o más de identidad (por ejemplo, un 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o más) con la SEQ ID NO: 4; y/o (b) que comprenda un fragmento de al menos 'n' aminoácidos consecutivos de la SEQ ID NO: 4, en el que 'n' es 7 o más (por ejemplo, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250 o más). Estos polipéptidos Sta011 incluyen variantes de la SEQ ID NO: 4. Los fragmentos preferentes de (b) comprenden un epítipo de la SEQ ID NO: 4. Otros fragmentos preferentes carecen de uno o más aminoácidos (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25 o más) del extremo C y/o uno o más aminoácidos (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25 o más) del extremo N de la SEQ ID NO: 4, mientras que conservan al menos un epítipo de la SEQ ID NO: 4. Por utilidad, se pueden omitir los primeros 23 aminoácidos terminales del extremo N de la SEQ ID NO: 4 (para proporcionar la SEQ ID NO: 33). Un antígeno Sta011 útil carece del resto de cisteína de la SEQ ID NO: 4, por ejemplo, comprende la SEQ ID NO: 36 y no incluye ningún resto aminoacídico con un grupo tiol libre (en condiciones reductoras), por ejemplo, está libre de cisteína. Por ejemplo, se puede lipidar un antígeno Sta011 con una cisteína del extremo N acilada. Una secuencia de Sta011 útil es la SEQ ID NO: 8, que tiene una metionina del extremo N; la SEQ ID NO: 39 es otra de dichas secuencias, pero carece de la cisteína presente en la SEQ ID NO: 8. Las formas variantes de la SEQ ID NO: 4 que se pueden usar como o para preparar antígenos Sta011 incluyen, pero no se limitan a, las SEQ ID NO: 9, 10 y 11 con diversas sustituciones Ile/Val/Leu (y también se pueden usar variantes libres de Cys de estas secuencias con la invención). Sta011 puede existir como un monómero o un oligómero, con iones de Ca⁺⁺ que favorecen la oligomerización. Pueden utilizarse monómeros y/u oligómeros de Sta011.

El antígeno 'Hla' es el "precursor de hemolisina alfa", también conocido como 'toxina alfa' o simplemente 'hemolisina'. En la cepa NCTC 8325, Hla tiene la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 5 (GI:88194865). Hla es un importante determinante de virulencia producido por la mayoría de las cepas de *S. aureus*, que tiene actividad hemolítica y de formación de poros. Los anticuerpos anti-Hla pueden neutralizar los efectos perjudiciales de la toxina en modelos animales, y Hla es particularmente útil para proteger frente a la neumonía.

Los antígenos Hla útiles pueden inducir un anticuerpo (por ejemplo, cuando se administran a un ser humano) que reconozca la SEQ ID NO: 5 y/o pueden comprender una secuencia aminoacídica: (a) que tenga un 50% o más de identidad (por ejemplo, un 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o más) con la SEQ ID NO: 5; y/o (b) que comprenda un fragmento de al menos 'n' aminoácidos consecutivos de la SEQ ID NO: 5, en el que 'n' es 7 o más (por ejemplo, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250 o más). Estos antígenos Hla incluyen variantes de la SEQ ID NO: 5. Los fragmentos preferentes de (b) comprenden un epítipo de la SEQ ID NO: 5. Otros fragmentos preferentes carecen de uno o más aminoácidos (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25 o más) del extremo C y/o uno o más aminoácidos (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25 o más) del extremo N de la SEQ ID NO: 5, mientras que conservan al menos un epítipo de la SEQ ID NO: 5. Por utilidad, se pueden omitir los primeros 26 aminoácidos terminales del extremo N de la SEQ ID NO: 5 (por ejemplo, para dar la SEQ ID NO: 12). También se puede usar el truncamiento en el extremo C, por ejemplo, dejando únicamente 50 aminoácidos (restos 27-76 de la SEQ ID NO: 5) [17].

Particularmente, el antígeno Hla es un antígeno Hla destoxificado, es decir, una forma mutante de Hla, en la que se ha eliminado la toxicidad natural de Hla. Se puede evitar la toxicidad de Hla mediante inactivación química (por ejemplo, usando formaldehído, glutaral u otros reactivos de reticulación). En cambio, sin embargo, es preferente usar formas mutantes de Hla que eliminen su actividad tóxica mientras se conserva su inmunogenia. Más particularmente, el antígeno Hla destoxificado es una forma mutante de Hla, en la que se ha eliminado la toxicidad de Hla, mientras que se ha conservado la inmunogenia de Hla. Dichos mutantes destoxificados ya se conocen en la técnica. Un antígeno Hla preferente es una hemolisina de *S. aureus* mutante que tiene una mutación en el resto 61 de la SEQ ID NO: 5, que es el resto 35 del antígeno maduro (es decir, después de omitir los primeros 26 aminoácidos terminales del extremo N = resto 35 de la SEQ ID NO: 12). De esta manera, puede que el resto 61 no sea histidina, y, en cambio, sea, por ejemplo, Ile, Val o preferentemente Leu. También se puede usar una mutación His-Arg en esta posición. Por ejemplo, la SEQ ID NO: 13 es la secuencia de la forma mutante H35L madura de Hla (es decir, la SEQ ID NO: 12 con una mutación H35L) y un antígeno Hla destoxificado útil es de la secuencia que comprende o que consiste en la SEQ ID NO: 13. Otra mutación útil reemplaza un bucle largo por una secuencia corta, por ejemplo, para reemplazar el 39mero en los restos 136-174 de la SEQ ID NO: 5 por un tetrámero, tal como PSGS (SEQ ID NO: 14), como en la

SEQ ID NO: 15 (que también incluye la mutación H35L) y la SEQ ID NO: 16 (que no incluye la mutación H35L). Otra mutación útil reemplaza el resto Y101, por ejemplo, por una leucina (SEQ ID NO: 17). Otra mutación útil reemplaza el resto D152, por ejemplo, por una leucina (SEQ ID NO: 18). Otro mutante útil reemplaza los restos H35 e Y101, por ejemplo, por una leucina (SEQ ID NO: 19). Otro mutante útil reemplaza los restos H35 y D152, por ejemplo, por una leucina (SEQ ID NO: 20).

Se desvelan antígenos Hla útiles adicionales en las referencias 18 y 19.

Las SEQ ID NO: 21, 22 y 23 son tres fragmentos útiles de la SEQ ID NO: 5 ('Hla₂₇₋₇₆', 'Hla₂₇₋₈₉' y 'Hla₂₇₋₇₉', respectivamente). Las SEQ ID NO: 24, 25 y 26 son los fragmentos correspondientes de la SEQ ID NO: 13.

Una secuencia Hla útil es la SEQ ID NO: 27. Tiene una Met terminal del extremo N, a continuación, un dipéptido Ala-Ser del vector de expresión, a continuación, la SEQ ID NO: 13 (de la cepa NCTC8325) que incluye la mutación H35L.

Si una composición incluye ambos antígenos EsxA y EsxB, estos pueden estar presentes como un polipéptido único (es decir, como un polipéptido de fusión que comprende o que consiste tanto en EsxA como en EsxB). De esta manera, un polipéptido único puede inducir anticuerpos (por ejemplo, cuando se administra a un ser humano) que reconozcan tanto la SEQ ID NO: 1 como la SEQ ID NO: 2. El polipéptido único puede incluir: (i) una primera secuencia polipeptídica que tenga un 50 % o más de identidad (por ejemplo, un 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o más) con la SEQ ID NO: 1 y/o que comprenda un fragmento de al menos 'n' aminoácidos consecutivos de la SEQ ID NO: 1, como se ha definido anteriormente para EsxA; y (ii) una segunda secuencia polipeptídica que tenga un 50 % o más de identidad (por ejemplo, un 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o más) con la SEQ ID NO: 2 y/o que comprenda un fragmento de al menos 'n' aminoácidos consecutivos de la SEQ ID NO: 2, como se ha definido anteriormente para EsxB. Las primera y segunda secuencias polipeptídicas pueden estar en cualquier orden, del extremo N al C. Las SEQ ID NO: 28 ('EsxAB') y 29 ('EsxBA') son ejemplos de dichos polipéptidos, teniendo ambos enlazadores de hexapéptidos ASGGGS (SEQ ID NO: 30). Otro híbrido 'EsxAB' comprende la SEQ ID NO: 31, que puede estar provista de una metionina del extremo N (por ejemplo, la SEQ ID NO: 32). Una variante útil de EsxAB carece del resto de cisteína interno de EsxB, por ejemplo, comprende la SEQ ID NO: 40, en la que el resto X en la posición 132 está ausente o bien es un resto aminoacídico sin un grupo tiol libre (en condiciones reductoras), por ejemplo, es cualquier aminoácido natural excepto cisteína. De esta manera, un antígeno EsxAB preferente para uso con la invención tiene la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 38.

De esta manera, un polipéptido útil comprende una secuencia aminoacídica (a) que tiene un 80 % o más de identidad (por ejemplo, un 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o más) con la SEQ ID NO: 31; y/o (b) que comprende tanto un fragmento de al menos 'n' aminoácidos consecutivos de los aminoácidos 1-96 de la SEQ ID NO: 31 como un fragmento de al menos 'n' aminoácidos consecutivos de los aminoácidos 103-205 de la SEQ ID NO: 31, en el que 'n' es 7 o más (por ejemplo, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250 o más). Estos polipéptidos (por ejemplo, la SEQ ID NO: 32) pueden inducir anticuerpos (por ejemplo, cuando se administran a un ser humano) que reconocen tanto la proteína estafilocócica natural que comprende la SEQ ID NO: 1 como la proteína estafilocócica natural que comprende la SEQ ID NO: 2. De esta manera, la respuesta inmunitaria reconoce ambos antígenos EsxA y EsxB. Los fragmentos preferentes de (b) proporcionan un epítipo de la SEQ ID NO: 1 y un epítipo de la SEQ ID NO: 2.

La divulgación usa 1, 2, 3, 4 o todos los 5 de EsxA, EsxB, FhuD2, Sta011 y Hla (preferentemente un Hla mutante no tóxico). Como se menciona anteriormente, una composición particularmente útil incluye todos los cinco de estos antígenos, pero en algunos modos de realización la composición incluye únicamente 1, 2, 3 o 4 de estos cinco antígenos, es decir, 1, 2, 3 o 4 de EsxA, EsxB, FhuD2, Sta011 y Hla está ausente de la composición.

Una composición puede incluir todos los cuatro de: (i) un polipéptido único que incluye tanto un antígeno EsxA como un antígeno EsxB, por ejemplo, que comprende la SEQ ID NO: 31; (ii) un antígeno FhuD2, por ejemplo, que comprende la SEQ ID NO: 6; (iii) un antígeno Sta011, por ejemplo, que comprende la SEQ ID NO: 33; y (iv) una forma mutante H35L de Hla, por ejemplo, que comprende la SEQ ID NO: 13.

Aunque las SEQ ID NO: 31, 6, 33 y 13 son secuencias aminoacídicas útiles en una combinación, la divulgación no se limita a estas secuencias precisas. De esta manera, se pueden modificar independientemente 1, 2, 3 o todas las 4 de estas secuencias con hasta 5 cambios amino únicos (es decir, 1, 2, 3, 4 o 5 inserciones, deleciones y/o sustituciones de aminoácidos únicos), siempre que la secuencia modificada pueda inducir anticuerpos que todavía se unan a un polipéptido que consiste en la secuencia no modificada.

Otra composición útil incluye todos los cuatro de: (i) un primer polipéptido que tiene la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 32; (ii) un segundo polipéptido que tiene la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 7; (iii) un tercer polipéptido que tiene la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 8; y (iv) un cuarto polipéptido que tiene la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 27.

Aunque las SEQ ID NO: 32, 7, 8 y 27 son secuencias aminoacídicas útiles en una combinación, la divulgación no se limita a estas secuencias precisas. De esta manera, se pueden modificar independientemente 1, 2, 3 o todas las 4 de estas cuatro secuencias con 1, 2, 3, 4 o 5 cambios amino únicos (es decir, 1, 2, 3, 4 o 5 inserciones, deleciones y/o

sustituciones de aminoácidos únicos), siempre que la secuencia modificada pueda inducir anticuerpos que todavía se unan a un polipéptido que consiste en la secuencia no modificada. De esta manera, en un modo de realización preferente una composición incluye estos cuatro polipéptidos especificados con 1, 2, 3 o todas las 4 de la SEQ ID NO: 32, 7, 8 y 27 modificadas independientemente mediante 1 inserción, delección y/o sustitución de aminoácidos únicos.

5 Por ejemplo, cada una de las secuencias polipeptídicas de FhuD2, Sta011 y EsxAB natural (por ejemplo, las SEQ ID NO: 6, 31 y 33) incluye un resto de cisteína único que puede dar lugar a puentes disulfuro interpolipeptídicos, formando tanto homodímeros como heterodímeros. Dichos polipéptidos interconectados no son deseables y, de este modo, se pueden modificar las secuencias de Sta006, Sta011 y EsxB para eliminar sus restos de cisteína natural, de tal manera que no contengan grupos tiol libres (en condiciones reductoras). La cisteína natural se puede suprimir o se puede
10 sustituir con un aminoácido diferente.

De esta manera, un antígeno FhuD2 puede comprender la SEQ ID NO: 34; un antígeno Sta011 puede comprender la SEQ ID NO: 36; y un antígeno EsxB puede comprender la SEQ ID NO: 35 (por ejemplo, como un híbrido EsxAB que comprende la SEQ ID NO: 40). Los ejemplos de dichas secuencias incluyen, pero no se limitan a, las SEQ ID NO: 37, 39 y 38. Estas secuencias se pueden usar únicamente, como sustitutos para las secuencias naturales correspondientes, o en combinación. De esta manera, una composición particularmente útil incluye todos los cuatro
15 de: (i) un primer polipéptido que tiene la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 38; (ii) un segundo polipéptido que tiene la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 37; (iii) un tercer polipéptido que tiene la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 39; y (iv) un cuarto polipéptido que tiene la secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 27.

De esta manera, una composición de la invención puede comprender todos los cinco de: (i) un polipéptido único que incluye tanto un antígeno EsxA como un antígeno EsxB, por ejemplo, que comprende la SEQ ID NO: 31; (ii) un antígeno FhuD2, por ejemplo, que comprende la SEQ ID NO: 6; (iii) un antígeno Sta011, por ejemplo, que comprende la SEQ ID NO: 33; (iv) una forma mutante H35L de Hla, por ejemplo, que comprende la SEQ ID NO: 13; y (v) una SpA mutante, como se define en las reivindicaciones. De este modo, la composición de acuerdo con la invención puede comprender en particular:
20

(i) un polipéptido único que incluye tanto un antígeno EsxA como un antígeno EsxB, particularmente de la secuencia que comprende o que consiste en la SEQ ID NO: 31;
(ii) un antígeno FhuD2, particularmente de la secuencia que comprende o que consiste en la SEQ ID NO: 6;
(iii) un antígeno Sta011, particularmente de la secuencia que comprende o que consiste en la SEQ ID NO: 33;
(iv) una forma mutante H35L de Hla, particularmente de la secuencia que comprende o que consiste en la SEQ ID
30 NO: 13; y
(v) un antígeno SpA mutante, como se define en las reivindicaciones.

Otra composición de acuerdo con la divulgación comprende:

(i) un primer polipéptido de la secuencia que comprende o que consiste en la SEQ ID NO: 32, más particularmente que consiste en la SEQ ID NO: 32;
35 (ii) un segundo polipéptido de la secuencia que comprende o que consiste en la SEQ ID NO: 7, más particularmente que consiste en la SEQ ID NO: 7;
(iii) un tercer polipéptido de la secuencia que comprende o que consiste en la SEQ ID NO: 8, más particularmente que consiste en la SEQ ID NO: 8;
(iv) un cuarto polipéptido de la secuencia que comprende o que consiste en la SEQ ID NO: 27, más particularmente
40 que consiste en la SEQ ID NO: 27; y
(v) un quinto polipéptido de la secuencia que comprende o que consiste en la SEQ ID NO: 52, más particularmente que comprende o que consiste en la SEQ ID NO: 45 modificada con hasta 3 sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, que comprende la SEQ ID NO: 47 o que consiste en la SEQ ID NO: 48).

Otra composición preferente de acuerdo con la divulgación comprende:

(i) un primer polipéptido de la secuencia que comprende o que consiste en la SEQ ID NO: 38, más particularmente que consiste en la SEQ ID NO: 38;
45 (ii) un segundo polipéptido de la secuencia que comprende o que consiste en la SEQ ID NO: 37, más particularmente que consiste en la SEQ ID NO: 37;
(iii) un tercer polipéptido de la secuencia que comprende o que consiste en la SEQ ID NO: 39, más particularmente que consiste en la SEQ ID NO: 39;
50 (iv) un cuarto polipéptido de la secuencia que comprende o que consiste en la SEQ ID NO: 27, más particularmente que consiste en la SEQ ID NO: 27; y
(v) un quinto polipéptido de la secuencia que comprende o que consiste en la SEQ ID NO: 52, más particularmente la SEQ ID NO: 45 modificada con hasta 3 sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, que comprende la SEQ ID
55 NO: 47 o que consiste en la SEQ ID NO: 48).

Como se explica anteriormente, las proteínas (i) a (v) en estas combinaciones se pueden modificar independientemente con hasta 5 cambios de aminoácidos, siempre que la secuencia modificada pueda inducir anticuerpos que todavía se unan a un polipéptido que consiste en la secuencia no modificada. En algunos ejemplos, una composición puede incluir uno o más polipéptidos adicionales; en otros ejemplos, los únicos polipéptidos en una

composición son estos cinco polipéptidos especificados, y estos polipéptidos incluso pueden ser los únicos componentes inmunogénicos en una composición.

- 5 Cuando está presente más de un polipéptido, pueden estar presentes en masas sustancialmente iguales, es decir, la masa de cada uno de ellos está en un $\pm 5\%$ de la masa media de todos los polipéptidos. De esta manera, cuando están presentes cinco polipéptidos, pueden estar presentes en una proporción en masa de a:b:c:d:e, donde cada uno de a-e es de entre 0,95 y 1,05.

- 10 Aparte de EsxA, EsxB, Hla, FhuD2, Sta011 y SpA, existen otros antígenos de *S. aureus*, y una composición puede incluir opcionalmente uno o más antígenos de *S. aureus* adicionales. Por ejemplo, se conocen ambos antígenos polipeptídicos y sacáridos para *S. aureus*. De esta manera, una composición puede incluir un antígeno sacárido de *S. aureus*, por ejemplo, los antígenos sacáridos conocidos incluyen el exopolisacárido de *S. aureus*, que es una poli-N-acetilglucosamina (PNAG), y los sacáridos capsulares de *S. aureus*, que, por ejemplo, pueden ser de tipo 5, tipo 8 o tipo 336. Una composición también puede incluir un antígeno ClfA, un antígeno IsdA, un antígeno IsdB, un antígeno IsdC y/o un antígeno IsdH (cada uno como se define en las páginas 15-17 de la referencia **¡Error! Marcador no definido.**).

- 15 En algunos ejemplos, una composición incluye un antígeno de *S. aureus* como se ha definido anteriormente y también un antígeno de un organismo diferente (por ejemplo, de un virus o de otra bacteria).

Composiciones inmunogénicas y medicamentos

- 20 Las composiciones inmunogénicas de acuerdo con la invención pueden ser útiles como vacunas. Las vacunas de acuerdo con la invención pueden ser profilácticas (es decir, para prevenir la infección) o bien terapéuticas (es decir, para tratar la infección), pero son típicamente profilácticas.

De esta manera, las composiciones pueden ser farmacéuticamente aceptables. Habitualmente incluyen componentes además de los antígenos, por ejemplo, típicamente incluyen uno o más vehículos y/o excipientes farmacéuticos. Un análisis minucioso de dichos componentes está disponible en la referencia 121.

- 25 Las composiciones se administran generalmente a un mamífero en forma acuosa. Sin embargo, antes de la administración, la composición puede haber estado en forma no acuosa. Por ejemplo, aunque algunas vacunas se fabrican en forma acuosa, a continuación, también se cargan y distribuyen y administran en forma acuosa, otras vacunas se liofilizan durante su fabricación y se reconstituyen en forma acuosa en el momento de su uso. De esta manera, una composición se puede secar, tal como una formulación liofilizada. La referencia 6 desvela el uso de la liofilización con composiciones inmunogénicas de *S. aureus*.

- 30 Una composición puede incluir conservantes, tales como tiomersal o 2-fenoxietanol. Sin embargo, es preferente que la vacuna esté sustancialmente libre de (es decir, menos de 5 $\mu\text{g/ml}$) material mercurial, por ejemplo, tiomersal libre. Son más preferentes las vacunas que no contienen mercurio. Son particularmente preferentes las vacunas libres de conservantes.

- 35 Para mejorar la estabilidad térmica, una composición puede incluir un agente protector frente a la temperatura (véase a continuación).

Para controlar la tonicidad, es preferente incluir una sal fisiológica, tal como una sal de sodio. Es preferente cloruro de sodio (NaCl), que puede estar presente entre 1 y 20 mg/ml, por ejemplo, aproximadamente 10 ± 2 mg/ml de NaCl. Otras sales que pueden estar presentes incluyen cloruro de potasio, dihidrógeno fosfato de potasio, fosfato de disodio dihidratado, cloruro de magnesio, cloruro de calcio, etc.

- 40 Las composiciones tienen generalmente una osmolalidad de entre 200 mOsm/kg y 400 mOsm/kg, preferentemente entre 240-360 mOsm/kg, y más preferentemente se encuentran en el intervalo de 290-310 mOsm/kg.

Las composiciones pueden incluir uno o más tampones. Los tampones típicos incluyen: un tampón fosfato; un tampón Tris; un tampón borato; un tampón succinato; un tampón histidina (particularmente con un adyuvante de hidróxido de aluminio); o un tampón citrato. Los tampones típicamente se incluyen en el intervalo 5-20 mM.

- 45 Las composiciones pueden incluir un quelante de iones de metal, en particular, un quelante de iones de metal divalentes, tal como EDTA. La referencia 6 desvela que la inclusión de EDTA puede mejorar la estabilidad de las composiciones descritas en el presente documento. La concentración final de EDTA en una composición inmunogénica puede ser de aproximadamente 1-50 mM, de aproximadamente 1-10 mM o de aproximadamente 1-5 mM, preferentemente de aproximadamente 2,5 mM.

- 50 El pH de una composición está generalmente entre 5,0 y 8,1, y más típicamente entre 6,0 y 8,0, por ejemplo, 6,5 y 7,5, o entre 7,0 y 7,8.

La composición es preferentemente estéril. La composición es preferentemente no pirógena, por ejemplo, que contiene < 1 UE (unidad de endotoxina, una medida estándar) por dosis, y preferentemente $< 0,1$ UE por dosis. La composición esta preferentemente libre de gluten.

La composición puede incluir material para una inmunización única o puede incluir material para inmunizaciones múltiples (es decir, un kit 'multidosis'). Es preferente la inclusión de un conservante en las configuraciones multidosis. Como alternativa a (o además de) incluir un conservante en las composiciones multidosis, las composiciones pueden estar contenidas en un recipiente que tenga un adaptador aséptico para la eliminación de material.

- 5 Las infecciones por *S. aureus* pueden afectar a diversas zonas del cuerpo y, de este modo, se puede preparar una composición en diversas formas. Por ejemplo, se puede preparar una composición como inyectables, como suspensiones o bien soluciones líquidas. También se pueden preparar formas sólidas para su solución o suspensión en vehículos líquidos antes de la inyección (por ejemplo, una composición liofilizada o una composición criodesecada por pulverización). Se puede preparar una composición para su administración tópica, por ejemplo, como una pomada, crema o polvo. Se puede preparar una composición para su administración oral, por ejemplo, como un comprimido o cápsula, como una pulverización o como un jarabe (opcionalmente saborizado). Se puede preparar una composición para su administración pulmonar, por ejemplo, como un inhalador, usando un polvo fino o una pulverización. Se puede preparar una composición como un supositorio u óvulo vaginal. Se puede preparar una composición para su administración nasal, ótica u ocular, por ejemplo, como gotas. Una composición puede estar en forma de kit, diseñado de tal manera que se reconstituya una composición combinada justo antes de su administración a un paciente. Dichos kits pueden comprender uno o más antígenos en forma líquida y uno o más antígenos liofilizados.

Si se va a preparar una composición extemporáneamente antes de su uso (por ejemplo, si un componente se presenta en forma liofilizada) y se presenta como un kit, el kit puede comprender dos viales, o puede comprender una jeringuilla ya cargada y un vial, usándose el contenido de la jeringuilla para reactivar el contenido del vial antes de la inyección.

- 20 Las vacunas humanas se administran típicamente en un volumen de dosificación de aproximadamente 0,5 ml, aunque también puede ser útil la mitad del volumen (es decir, aproximadamente 0,25 ml), por ejemplo, para los niños.

Las composiciones inmunogénicas administradas de acuerdo con la divulgación también pueden comprender uno o más agentes inmunorreguladores. Preferentemente, uno o más de los agentes inmunorreguladores incluye uno o más adyuvantes (véase a continuación).

- 25 Las composiciones pueden inducir tanto una respuesta inmunitaria mediada por células, así como una respuesta inmunitaria humoral. Esta respuesta inmunitaria desencadena preferentemente anticuerpos (por ejemplo, neutralizantes) de larga duración y una inmunidad mediada por células que pueden responder rápidamente a la exposición a *S. aureus*.

- 30 Las composiciones inmunogénicas usadas como vacunas comprenden una cantidad inmunológicamente eficaz de antígeno(s), así como cualquier otro componente, según sea necesario. Por 'cantidad inmunológicamente eficaz', se quiere decir que la administración de esa cantidad a un sujeto, en una dosis única o bien como parte de una serie, es eficaz para el tratamiento o prevención. Esta cantidad varía dependiendo del estado físico y de salud del sujeto que se va a tratar, edad, el grupo taxonómico del sujeto que se va a tratar (por ejemplo, primate no humano, primate etc.), la capacidad del sistema inmunitario del sujeto para sintetizar anticuerpos, el grado de protección deseado, la formulación de la vacuna, la valoración del médico de la situación médica y otros factores pertinentes. Se espera que la cantidad se encuentre en un intervalo relativamente amplio que se pueda determinar mediante ensayos rutinarios. Si se incluye más de un antígeno en una composición, entonces pueden estar presentes dos antígenos en la misma dosis uno y otro o en dosis diferentes.

- 40 Como se menciona anteriormente, una composición puede incluir un agente protector frente a la temperatura, y este componente puede ser particularmente útil en composiciones adyuvadas (particularmente las que contienen un adyuvante mineral, tal como una sal de aluminio). Como se describe en la referencia 20, se puede añadir un agente protector frente a la temperatura líquido a una composición de vacuna acuosa para rebajar su punto de congelación, por ejemplo, para reducir el punto de congelación por debajo de 0 °C. De esta manera, la composición se puede almacenar por debajo de 0 °C, pero por encima de su punto de congelación, para inhibir la descomposición térmica.

- 45 El agente protector frente a la temperatura también permite congelar la composición mientras que protege a los adyuvantes de sales minerales frente a la aglomeración o sedimentación después de la congelación y descongelación, y también puede proteger a la composición a temperaturas elevadas, por ejemplo, por encima de 40 °C. Una vacuna acuosa de partida y el agente protector frente a la temperatura líquido se pueden mezclar de tal manera que el agente protector frente a la temperatura líquido forme desde un 1-80 % en volumen de la mezcla final. Los agentes protectores frente a la temperatura adecuados deberían ser seguros para su administración a seres humanos, fácilmente miscibles/solubles en agua, y no deberían dañar otros componentes (por ejemplo, antígeno y adyuvante) en la composición. Los ejemplos incluyen glicerina, propilenglicol y/o polietilenglicol (PEG). Los PEG adecuados pueden tener un peso molecular promedio que oscila desde 200-20000 Da. En un modo de realización preferente, el polietilenglicol puede tener un peso molecular promedio de aproximadamente 300 Da ('PEG-300').

55 **Procedimientos de tratamiento y administración de una composición inmunogénica**

La invención se refiere a las composiciones inmunogénicas de acuerdo con la invención para su uso como un medicamento.

La invención también se refiere a la composición inmunogénica de acuerdo con la invención para su uso como

medicamento en la prevención y/o tratamiento de una infección por *S. aureus*.

La divulgación también proporciona un procedimiento para la prevención y/o tratamiento de una infección por *S. aureus* en un mamífero que comprende la etapa de administrar a un mamífero que lo necesita una cantidad inmunológicamente eficaz de una composición inmunogénica de acuerdo con la invención como se ha definido anteriormente. Los modos de realización ventajosos son como se han definido anteriormente.

La divulgación también proporciona el uso de (i) al menos un antígeno seleccionado del grupo que consiste en los antígenos EsxA, EsxB, FhuD2, Sta011 y Hla, y (ii) un antígeno SpA mutante que tiene afinidad disminuida, con respecto a SpA no modificada, por la porción Fc γ de IgG humana y por la porción Fab de receptores de linfocitos B humanos que contienen V $_H$ 3, en la fabricación de un medicamento para prevenir o tratar una infección por *S. aureus* en un mamífero. Los modos de realización ventajosos son como se han definido anteriormente.

La divulgación también proporciona (i) al menos un antígeno seleccionado del grupo que consiste en antígenos EsxA, EsxB, FhuD2, Sta011 y Hla, y (ii) un antígeno mutante SpA que tiene una afinidad disminuida, en relación con SpA no modificado, para la porción Fc γ de IgG humana y para la porción Fab de receptores de linfocitos B humanos que contienen V $_H$ 3, para su uso en la inmunización de un mamífero para prevenir o tratar la infección por *S. aureus*. Los modos de realización ventajosos son como se han definido anteriormente.

La divulgación también proporciona (i) al menos un antígeno seleccionado del grupo que consiste en los antígenos EsxA, EsxB, FhuD2, Sta011 y Hla, y (ii) un antígeno SpA mutante que tiene afinidad disminuida, con respecto a SpA no modificada, por la porción Fc γ de IgG humana y por la porción Fab de receptores de linfocitos B humanos que contienen V $_H$ 3, para uso en un procedimiento de inmunización de un mamífero para prevenir o tratar una infección por *S. aureus* administrando una cantidad terapéuticamente eficaz de antígenos al mamífero. Los modos de realización ventajosos son como se han definido anteriormente.

Como se advierte anteriormente, se pueden usar 1, 2, 3, 4 o preferentemente todos los 5 de EsxA, EsxB, FhuD2, Sta011 y Hla en combinación con la SpA mutante. De esta manera los procedimientos, usos, composiciones y combinaciones de antígenos de la divulgación inducen una respuesta inmunitaria que es eficaz para prevenir o tratar infecciones por *S. aureus*. La respuesta inmunitaria puede implicar anticuerpos y/o inmunidad mediada por células. Al aumentar una respuesta inmunitaria en el mamífero mediante estos usos y procedimientos, se puede proteger al mamífero frente a una infección por *S. aureus*, incluyendo una infección nosocomial. Más particularmente, se puede proteger al mamífero frente a una infección de piel, neumonía, meningitis, osteomielitis, endocarditis, síndrome del choque tóxico y/o septicemia. La invención también es útil para proteger frente a una infección por *S. aureus* de los huesos y articulaciones de un mamífero (y, de esta manera, para prevenir trastornos incluyendo, pero no limitados a, osteomielitis, artritis séptica e infección articular protésica). En muchos casos, estos trastornos se pueden asociar con la formación de una biopelícula de *S. aureus*.

S. aureus infecta a diversos mamíferos (incluyendo vacas, perros, caballos y cerdos), pero el mamífero preferente para su uso con las composiciones de la invención es un ser humano. El ser humano puede ser un niño (por ejemplo, un lactante mayor o lactante menor), un adolescente o un adulto. En algunos modos de realización, el ser humano puede tener una articulación o hueso protésico, o puede ser un receptor destinatario de dichas prótesis (por ejemplo, un paciente de cirugía ortopédica preoperatoria). Una vacuna destinada a niños también se puede administrar a adultos, por ejemplo, para evaluar la seguridad, dosificación, inmunogenia, etc. Sin embargo, las vacunas no son solamente adecuadas para estos grupos y se pueden usar más generalmente en una población humana.

Una manera de comprobar la eficacia del tratamiento terapéutico implica supervisar la infección por *S. aureus* después de la administración de las composiciones o antígenos de acuerdo con la invención. Una manera de comprobar la eficacia del tratamiento profiláctico implica supervisar las respuestas inmunitarias, por vía sistémica (tal como supervisar el nivel de producción de IgG1 e IgG2a) y/o por vía mucosa (tal como supervisar el nivel de producción de IgA), frente a los antígenos en la composición administrada después de su administración. Otra manera de evaluar la inmunogenia de las composiciones es expresar los antígenos de forma recombinante para cribar sueros de pacientes o secreciones mucosas mediante inmunotransferencia y/o micromatrices. Una reacción positiva entre la proteína y la muestra del paciente indica que el paciente ha reforzado una respuesta inmunitaria respecto a la proteína en cuestión.

También se puede determinar la eficacia de las composiciones de vacuna *in vivo* exponiendo modelos animales de infección por *S. aureus*, por ejemplo, cobayas o ratones, a las composiciones de vacuna. Hay tres modelos animales generalmente útiles para el estudio de la enfermedad infecciosa por *S. aureus*, en concreto: (i) el modelo murino de abscesos [21], (ii) el modelo murino de infección letal [21] y (iii) el modelo murino de neumonía [22]. El modelo de absceso examina los abscesos en los riñones de ratones después de la exposición intravenosa. El modelo de infección letal examina el número de ratones que sobreviven después de ser infectados con una dosis normalmente letal de *S. aureus* por vía intravenosa o intraperitoneal. El modelo de neumonía también examina la tasa de supervivencia, pero usa infección intranasal. Se desvelan modelos útiles adicionales en la referencia 23 para estudiar tanto la enfermedad por *S. aureus* en relación con la infección de implante mediada por biopelículas, infección de piel y partes blandas (IPPB) como sepsis. Una vacuna útil puede ser eficaz en uno o más de estos modelos. Por ejemplo, para algunas situaciones clínicas, puede ser deseable proteger frente a la neumonía, sin necesidad de prevenir la diseminación hemática o promover la opsonización; en otras situaciones, el deseo principal puede ser prevenir la diseminación hemática o sepsis. Los antígenos diferentes y combinaciones de antígenos diferentes pueden contribuir a aspectos

diferentes de una vacuna eficaz.

Las composiciones generalmente se administran directamente a un paciente. La administración directa se puede alcanzar mediante inyección parenteral (por ejemplo, por vía subcutánea, intraperitoneal, intravenosa, intramuscular o al espacio intersticial de un tejido), o por vía mucosa, tal como mediante administración rectal, oral (por ejemplo, comprimido, pulverización), vaginal, tópica, transdérmica o transcutánea, intranasal, ocular, ótica, pulmonar u otra administración mucosa. La inyección intramuscular es la vía más típica para administrar composiciones de acuerdo con la invención.

Se puede usar la invención para inducir inmunidad sistémica y/o mucosa, preferentemente para inducir una inmunidad sistémica y/o mucosa potenciada. Preferentemente, la inmunidad sistémica y/o mucosa potenciada se refleja en una respuesta inmunitaria TH1 y/o TH2 potenciada. Preferentemente, la respuesta inmunitaria potenciada incluye un incremento en la producción de IgG1 y/o IgG2a y/o IgA.

La dosificación puede ser mediante una pauta de dosis única o una pauta de dosis múltiples. Se pueden usar dosis múltiples en un programa de vacunación primaria y/o en un programa de vacunación de refuerzo. En una pauta de dosis múltiples, las diversas dosis se pueden administrar mediante las mismas vías o diferentes, por ejemplo, una primovacuna parental y refuerzo mucosal, una primovacuna mucosa y refuerzo parental, etc. Las dosis múltiples se administran típicamente con al menos 1 semana de diferencia (por ejemplo, de aproximadamente 2 semanas, de aproximadamente 3 semanas, de aproximadamente 4 semanas, de aproximadamente 6 semanas, de aproximadamente 8 semanas, de aproximadamente 10 semanas, de aproximadamente 12 semanas, de aproximadamente 16 semanas, etc.).

Las composiciones inmunogénicas se pueden administrar a pacientes sustancialmente al mismo tiempo que (por ejemplo, durante la misma interconsulta o visita a un profesional sanitario o centro de vacunación) otras vacunas.

Las composiciones inmunogénicas se pueden administrar a pacientes en combinación con un antibiótico. Por ejemplo, se pueden administrar sustancialmente al mismo tiempo que un antibiótico. Del mismo modo, se pueden administrar a un sujeto que está recibiendo tratamiento con antibióticos. Del mismo modo, se pueden administrar como parte de un tratamiento simultáneo que implica la administración de tanto una composición como se analiza en el presente documento como de un antibiótico. El antibiótico es eficaz frente a una bacteria de *S. aureus*, por ejemplo, una beta-lactama.

Cepas y variantes

Los antígenos se han analizado anteriormente con referencia a la nomenclatura existente (por ejemplo, "EsxA") y las secuencias ejemplares se dan como números GI y también en el listado de secuencias. La divulgación no se limita a estas precisas secuencias. Las secuencias genómicas de varias cepas de *S. aureus* están disponibles, incluyendo las cepas de SARM N315 y Mu50 [24], MW2, N315, COL, MRSA252, MSSA476, RF122, USA300 (muy virulenta), JH1, JH9, NCTC 8325, y Newman. Se pueden usar técnicas de búsqueda y alineación estándar para identificar en cualquiera de estas (u otras) secuencias genómicas adicionales el homólogo de cualquier secuencia particular mencionada en el presente documento. Por otra parte, se pueden usar las secuencias específicas desveladas en el presente documento para diseñar cebadores para la amplificación de secuencias homólogas de otras cepas. De esta manera, la divulgación abarca dichas variantes y homólogos de cualquier cepa de *S. aureus*, así como variantes no naturales. En general, las variantes adecuadas de una SEQ ID NO particular incluyen sus variantes alélicas, sus formas polimórficas, sus homólogos, sus ortólogos, sus parálogos, sus mutantes, etc.

De esta manera, por ejemplo, los polipéptidos usados con la divulgación, en comparación con la SEQ ID NO en el presente documento, pueden incluir una o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, etc.) sustituciones de aminoácidos, tales como sustituciones conservadoras (es decir, sustituciones de un aminoácido con otro que tenga una cadena lateral relacionada). Los aminoácidos codificados genéticamente se dividen generalmente en cuatro familias: (1) ácido, es decir, aspartato, glutamato; (2) básico, es decir, lisina, arginina, histidina; (3) no polar, es decir, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina, triptófano y (4) polar no cargado, es decir, glicina, asparagina, glutamina, cisteína, serina, treonina, tirosina. Fenilalanina, triptófano y tirosina se clasifican a veces conjuntamente como aminoácidos aromáticos. En general, la sustitución de aminoácidos únicos en estas familias no tiene un efecto importante sobre la actividad biológica. Los polipéptidos también pueden incluir una o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, etc.) deleciones de aminoácidos únicos con respecto a las secuencias SEQ ID NO. Los polipéptidos también pueden incluir una o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, etc.) inserciones (por ejemplo, cada una de 1, 2, 3, 4 o 5 aminoácidos) con respecto a las secuencias SEQ ID NO.

Del mismo modo, un polipéptido usado con la divulgación puede comprender una secuencia aminoacídica que:

- (a) sea idéntica (es decir, un 100 % idéntica) a una secuencia desvelada en el listado de secuencias;
- (b) comparta identidad de secuencia (por ejemplo, un 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o más) con una secuencia desvelada en el listado de secuencias (idealmente sobre toda la longitud de dicha secuencia);
- (c) tenga 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 (o más) alteraciones de aminoácidos únicos (deleciones, inserciones, sustituciones), que pueden estar en ubicaciones separadas o pueden ser contiguas, en comparación con las

secuencias de (a) o (b); o

(d) cuando esté alineada con una secuencia particular del listado de secuencias usando un algoritmo de alineación por pares, cada ventana móvil de x aminoácidos desde el extremo N al extremo C (de tal manera que para una alineación que se extiende a p aminoácidos, donde $p > x$, hay $p-x+1$ de dichas ventanas) tiene al menos $x \cdot y$ aminoácidos alineados idénticos, donde: x se selecciona de 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200; y se selecciona de 0,50, 0,60, 0,70, 0,75, 0,80, 0,85, 0,90, 0,91, 0,92, 0,93, 0,94, 0,95, 0,96, 0,97, 0,98, 0,99; y si $x \cdot y$ no es un número entero, entonces se redondea al número entero más próximo. El algoritmo de alineación por pares preferente es el algoritmo de alineación global de Needleman-Wunsch [25], que usa parámetros predeterminados (por ejemplo, con penalización por abertura de hueco = 10,0 y con penalización por extensión de hueco = 0,5, que usa la matriz de puntuación EBLOSUM62). Este algoritmo está convenientemente implementado en la herramienta *needle* en el paquete EMBOSS [26].

Si se usan polipéptidos híbridos, los antígenos individuales en el híbrido (es decir, fracciones -X- individuales) pueden ser de una o más cepas. Si $n=2$, por ejemplo, X_2 puede ser de la misma cepa que X_1 o de una cepa diferente. Si $n=3$, las cepas pueden ser (i) $X_1=X_2=X_3$ (ii) $X_1=X_2/X_3$, (iii) $X_1/X_2=X_3$ (iv) $X_1/X_2/X_3$ o (v) $X_1=X_3/X_2$, etc.

En el grupo (c), las deleciones o sustituciones pueden ser en el extremo N y/o extremo C, o pueden estar entre los dos extremos. De esta manera, un truncamiento es un ejemplo de una deleción. Los truncamientos pueden implicar la deleción de hasta 40 (o más) aminoácidos en el extremo N y/o extremo C. El truncamiento en el extremo N puede eliminar péptidos líder, por ejemplo, para facilitar la expresión recombinante en un huésped heterógeno. El truncamiento en el extremo C puede eliminar las secuencias de anclaje, por ejemplo, para facilitar la expresión recombinante en un huésped heterógeno.

En general, cuando un antígeno comprende una secuencia que no es idéntica a una secuencia de *S. aureus* completa del listado de secuencias (por ejemplo, cuando comprende un listado de secuencias con < 100 % de identidad de secuencia con la misma, o cuando comprende un fragmento de la misma), es preferente en cada caso individual que el antígeno pueda inducir un anticuerpo que reconozca la secuencia de *S. aureus* completa respectiva.

25 **Polipéptidos usados con la invención**

Los polipéptidos usados con la invención pueden adoptar diversas formas (por ejemplo, natural, fusiones, glucosilada, no glucosilada, lipidada, no lipidada, fosforilada, no fosforilada, miristoilada, no miristoilada, monomérica, multimérica, etc.).

Los polipéptidos usados con la invención se pueden preparar mediante diversos medios (por ejemplo, expresión recombinante, purificación a partir de cultivo celular, síntesis química, etc.). Son preferentes las proteínas expresadas de manera recombinante, particularmente para polipéptidos híbridos.

Los polipéptidos usados con la invención se proporcionan preferentemente en forma purificada o sustancialmente purificada, es decir, sustancialmente libres de otros polipéptidos (por ejemplo, libres de polipéptidos naturales), particularmente de otros polipéptidos de células huésped o estafilocócicos, y que son generalmente al menos aproximadamente un 50 % puros (en peso), y habitualmente al menos aproximadamente un 90 % puros, es decir, menos de aproximadamente un 50 %, y más preferentemente menos de aproximadamente un 10 % (por ejemplo, un 5 %) de una composición hecha de otros polipéptidos expresados. De esta manera, los antígenos en las composiciones se separan de todo el organismo con el que se expresa la molécula.

El término "polipéptido" se refiere a polímeros aminoacídicos de cualquier longitud. El polímero puede ser lineal o ramificado, puede comprender aminoácidos modificados y se puede interrumpir por no aminoácidos. Los términos también abarcan un polímero aminoacídico que se ha modificado de manera natural o mediante intervención; por ejemplo, formación de enlaces disulfuro, glucosilación, lipidación, acetilación, fosforilación o cualquier otra manipulación o modificación, como la conjugación con un componente de marcaje. Por ejemplo, también se incluyen polipéptidos que contienen uno o más análogos de un aminoácido (incluyendo, por ejemplo, aminoácidos no naturales, etc.), así como otras modificaciones conocidas en la técnica. Se pueden producir polipéptidos como cadenas únicas o cadenas asociadas.

Aunque la expresión de los polipéptidos de la invención puede tener lugar en una *Staphylococcus*, la invención usa habitualmente un huésped heterógeno para la expresión (expresión recombinante). El huésped heterógeno puede ser procarionota (por ejemplo, una bacteria) o eucarionota. Puede ser *E. coli*, pero otros huéspedes adecuados incluyen *Bacillus subtilis*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella typhi*, *Salmonella typhimurium*, *Neisseria lactamica*, *Neisseria cinerea*, *Mycobacteria* (por ejemplo, *M. tuberculosis*), levaduras, etc. En comparación con los genes de *S. aureus* natural, que codifican polipéptidos de la invención, es útil cambiar codones para optimizar la eficiencia de la expresión en dichos huéspedes sin afectar a los aminoácidos codificados.

Adyuvantes

Como se menciona anteriormente, las composiciones inmunogénicas usadas de acuerdo con la invención pueden incluir uno o más adyuvantes. Los adyuvantes que se pueden usar con la invención incluyen, pero no se limitan a:

A. Composiciones que contienen minerales

Las composiciones que contienen minerales adecuadas para uso como adyuvantes en la invención incluyen sales minerales, tales como sales de aluminio y sales de calcio (o mezclas de las mismas). Las sales de calcio incluyen fosfato de calcio (por ejemplo, las partículas de "CAP" desveladas en la ref. 27). Las sales de aluminio incluyen hidróxidos y fosfatos etc., adoptando las sales cualquier forma adecuada (por ejemplo, de gel, cristalina, amorfa, etc.). Es preferente la adsorción en estas sales (por ejemplo, se pueden adsorber todos los antígenos). Las composiciones que contienen minerales también se pueden formular como una partícula de sal de metal [28].

Se pueden usar los adyuvantes conocidos como hidróxido de aluminio y fosfato de aluminio. Estos nombres son convencionales, pero se usan únicamente por conveniencia, puesto que ninguno es una descripción precisa del compuesto químico real que está presente (por ejemplo, véase el capítulo 9 de la referencia 29). Las composiciones de la invención pueden usar cualquiera de los adyuvantes de "hidróxido" o "fosfato" que son de uso general como adyuvantes. Los adyuvantes conocidos como "hidróxido de aluminio" son típicamente sales de oxihidróxido de aluminio, que son habitualmente al menos parcialmente cristalinas. Los adyuvantes conocidos como "fosfato de aluminio" son típicamente hidroxifosfatos de aluminio, que a menudo también contienen una pequeña cantidad de sulfato (es decir, sulfato de hidroxifosfato de aluminio). Se pueden obtener mediante precipitación, y las condiciones de reacción y las concentraciones durante la precipitación influyen en el grado de sustitución de fosfato con hidroxilo en la sal.

Una morfología fibrosa (por ejemplo, como se observa en micrografías electrónicas de transmisión) es típica para los adyuvantes de hidróxido de aluminio. El pl de los adyuvantes de hidróxido de aluminio es típicamente de aproximadamente 11, es decir, el adyuvante de por sí tiene una carga superficial positiva a pH fisiológico. Se han señalado capacidades de adsorción de entre 1,8-2,6 mg de proteína por mg de Al^{+++} a pH 7,4 para adyuvantes de hidróxido de aluminio.

Los adyuvantes de fosfato de aluminio tienen generalmente una proporción molar PO_4/Al de entre 0,3 y 1,2, preferentemente de entre 0,8 y 1,2, y más preferentemente de $0,95 \pm 0,1$. El fosfato de aluminio es generalmente amorfo, particularmente para las sales de hidroxifosfato. Un adyuvante típico es hidroxifosfato de aluminio amorfo con una proporción molar PO_4/Al de entre 0,84 y 0,92, incluida a 0,6 mg de Al^{3+}/ml . El fosfato de aluminio está generalmente particulado (por ejemplo, morfología similar a placa, como como se observa en micrografías electrónicas de transmisión). Los diámetros típicos de las partículas están en el intervalo de 0,5-20 μm (por ejemplo, de aproximadamente 5-10 μm) después de cualquier adsorción de antígeno. Se han señalado capacidades de adsorción de entre 0,7-1,5 mg de proteína por mg de Al^{+++} a pH 7,4 para adyuvantes de fosfato de aluminio.

El punto de carga cero (PZC) del fosfato de aluminio está relacionado inversamente con el grado de sustitución de fosfato con hidroxilo, y este grado de sustitución puede variar dependiendo de las condiciones de reacción y concentración de los reactivos usados para preparar la sal mediante precipitación. El PZC también se altera al cambiar la concentración de iones fosfato libres en solución (más fosfato = PZC más ácido) o al añadir un tampón, tal como un tampón histidina (hace el PZC más básico). Los fosfatos de aluminio usados de acuerdo con la divulgación tienen generalmente un PZC de entre 4,0 y 7,0, más preferentemente de entre 5,0 y 6,5, por ejemplo, de aproximadamente 5,7.

Las suspensiones de sales de aluminio usadas para preparar las composiciones de la invención pueden contener un tampón (por ejemplo, un fosfato o una histidina o un tampón Tris), pero esto no siempre es necesario. Las suspensiones son preferentemente estériles y libres de pirógenos. Una suspensión puede incluir iones fosfato acuosos libres, por ejemplo, presentes en una concentración entre 1,0 y 20 mM, preferentemente entre 5 y 15 mM, y más preferentemente de aproximadamente 10 mM. Las suspensiones también pueden comprender cloruro de sodio.

Las composiciones de la invención pueden usar una mezcla tanto de un hidróxido de aluminio como de un fosfato de aluminio. En este caso, puede haber más fosfato de aluminio que hidróxido, por ejemplo, una proporción en peso de al menos 2:1, por ejemplo, $\geq 5:1$, $\geq 6:1$, $\geq 7:1$, $\geq 8:1$, $\geq 9:1$, etc.

La concentración de Al^{+++} en una composición para su administración a un paciente es preferentemente menos de 10 mg/ml, por ejemplo, ≤ 5 mg/ml, ≤ 4 mg/ml, ≤ 3 mg/ml, ≤ 2 mg/ml, ≤ 1 mg/ml, etc. Un intervalo preferente está entre 0,3 y 1 mg/ml. Es preferente un máximo de 0,85 mg/dosis.

B. Emulsiones de aceite en agua

Las composiciones de emulsiones de aceite en agua adecuadas para su uso como adyuvantes en las composiciones de la invención incluyen emulsiones de escualeno en agua, tales como MF59 (véase el capítulo 10 de la ref. 29; véase también la ref. 30) y AS03 [31].

Se conocen diversos adyuvantes de emulsiones de aceite en agua e incluyen típicamente al menos un aceite y al menos un tensioactivo, siendo el/los aceite(s) y tensioactivo(s) biodegradable(s) (metabolizable(s)) y biocompatible(s). La emulsión incluye gotitas de aceite submicrométricas, y son preferentes las emulsiones con gotitas que tienen un diámetro de menos de 220 nm, puesto que se pueden someter a esterilización por filtrado.

La emulsión comprende uno o más aceites. El/los aceite(s) adecuado(s) incluye(n), por ejemplo, los de un animal (tal como pescado) o una fuente vegetal. El aceite es idealmente biodegradable (metabolizable) y biocompatible. Las fuentes de aceites vegetales incluyen frutos secos, semillas y granos. El aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite de coco y aceite de oliva, los más comúnmente disponibles, ejemplifican los aceites de frutos secos. Se puede usar aceite de jojoba, por ejemplo, obtenido de la semilla de jojoba. Los aceites de semillas incluyen el aceite de cártamo, aceite de semilla de algodón, aceite de semilla de girasol, aceite de semilla de sésamo y similares. En el grupo de los granos, el aceite de maíz es el más fácilmente disponible, pero también se puede usar el aceite de otros granos de cereales, tales como trigo, avena, centeno, arroz, tef, triticale y similares. Los ésteres de ácidos grasos de 6-10 carbonos de glicerol y 1,2-propanodiol, aunque no se producen de manera natural en los aceites de semillas, se pueden preparar mediante hidrólisis, separación y esterificación de los materiales apropiados a partir de los aceites de frutos secos y semillas. Las grasas y aceites de la leche de mamífero son metabolizables y, de este modo, se pueden usar. Los procedimientos para la separación, purificación, saponificación y otros medios necesarios para obtener aceites puros a partir de fuentes animales se conocen bien en la técnica.

La mayoría de los peces contienen aceites metabolizables que se pueden recuperar fácilmente. Por ejemplo, el aceite de hígado de bacalao, los aceites de hígado de tiburón y el aceite de ballena, tal como esperma de ballena, ejemplifican varios de los aceites de pescado que se pueden usar en el presente documento. Una serie de aceites de cadena ramificada se sintetizan bioquímicamente en unidades de isopreno de 5 carbonos y se denominan generalmente terpenoides. Las emulsiones preferentes comprenden escualeno, un aceite de hígado de tiburón que es un terpenoide insaturado ramificado. También se puede usar escualano, el análogo saturado del escualeno. Los aceites de pescado, incluyendo escualeno y escualano, están disponibles fácilmente a partir de fuentes comerciales o se pueden obtener mediante procedimientos conocidos en la técnica.

Otros aceites útiles son los tocoferoles, particularmente en combinación con escualeno. Cuando la fase oleosa de una emulsión incluye un tocoferol, se puede usar cualquiera de los tocoferoles α , β , γ , δ , ϵ o ξ , pero son preferentes los α -tocoferoles. Se pueden usar ambos D- α -tocoferol y DL- α -tocoferol. Un α -tocoferol preferente es DL- α -tocoferol. Se puede usar una combinación oleosa que comprenda escualeno y un tocoferol (por ejemplo, DL- α -tocoferol).

El aceite en la emulsión puede comprender una combinación de aceites, por ejemplo, escualeno y al menos otro aceite.

El componente acuoso de la emulsión puede ser agua corriente (por ejemplo, a.p.i.) o puede incluir componentes adicionales, por ejemplo, solutos. Por ejemplo, puede incluir sales para formar un tampón, por ejemplo, sales de citrato o fosfato, tales como sales de sodio. Los tampones típicos incluyen: un tampón fosfato; un tampón Tris; un tampón borato; un tampón succinato; un tampón histidina; o un tampón citrato. Es preferente una fase acuosa tamponada, y los tampones se incluyen típicamente en el intervalo de 5-20 mM.

Además del aceite y lípido catiónico, una emulsión puede incluir un tensioactivo no iónico y/o un tensioactivo de ion dipolar. Dichos tensioactivos incluyen, pero no se limitan a: los tensioactivos de ésteres de sorbitán polioxietileno (comúnmente denominados los Tween), especialmente polisorbato 20 y polisorbato 80; copolímeros de óxido de etileno (OE), óxido de propileno (OP) y/o óxido de butileno (OB), en venta con el nombre comercial DOWFAX™, tales como copolímeros de bloque de OE/OP lineales; octoxinóles, que pueden variar en el número de grupos etoxi (oxi-1,2-etanodiol) de repetición, siendo octoxinol-9 (Tritón X-100 o t-octilfenoxipolietoxietanol) de interés particular; (octilfenoxi)polietoxietanol (IGEPAL CA-630/NP-40); fosfolípidos, tales como fosfatidilcolina (lecitina); ésteres grasos polioxietileno derivados de los alcoholes láurico, cetílico, estearílico y oleílico (conocidos como tensioactivos de Brij), tales como trietilenglicol monolauril éter (Brij 30); polioxietileno-9-lauril éter; y ésteres de sorbitán (comúnmente conocidos como los Spans), tales como trioleato de sorbitán (Span 85) y monolaurato de sorbitán. Los tensioactivos preferentes para incluirse en la emulsión son polisorbato 80 (Tween 80; monooleato de sorbitán polioxietileno), Span 85 (trioleato de sorbitán), lecitina y Tritón X-100.

Se pueden usar mezclas de tensioactivos, por ejemplo, mezclas de Tween 80/Span 85 o mezclas de Tween 80/Tritón-X100. También es adecuada una combinación de un éster de sorbitán polioxietileno, tal como monooleato de sorbitán polioxietileno (Tween 80), y un octoxinol, tal como t-octilfenoxi-polietoxietanol (Tritón X-100). Otra combinación útil comprende laureth 9 más un éster de sorbitán polioxietileno y/o un octoxinol. Las mezclas útiles pueden comprender un tensioactivo con un valor de EHL en el intervalo de 10-20 (por ejemplo, polisorbato 80, con un EHL de 15,0) y un tensioactivo con un valor de EHL en el intervalo de 1-10 (por ejemplo, trioleato de sorbitán, con un EHL de 1,8).

Las cantidades preferentes de aceite (% en volumen) en la emulsión final están entre un 2-20 %, por ejemplo, un 5-15 %, 6-14 %, 7-13 %, 8-12 %. Es particularmente útil un contenido en escualeno de aproximadamente un 4-6 % o de aproximadamente un 9-11 %.

Las cantidades preferentes de tensioactivos (% en peso) en la emulsión final están entre un 0,001 % y un 8 %. Por ejemplo: ésteres de sorbitán polioxietileno (tales como polisorbato 80) de un 0,2 a un 4 %, en particular entre un 0,4-0,6 %, entre un 0,45-0,55 %, de aproximadamente un 0,5 % o entre un 1,5-2 %, entre un 1,8-2,2 %, entre un 1,9-2,1 %, de aproximadamente un 2 %, o un 0,85-0,95 %, o se aproximadamente un 1 %; ésteres de sorbitán (tales como trioleato de sorbitán) de un 0,02 a un 2 %, en particular de aproximadamente un 0,5 % o de aproximadamente un 1 %;

octil- o nonilfenoxi polioxietanoles (tales como Tritón X-100) de un 0,001 a un 0,1 %, en particular un 0,005-0,02 %; éteres de polioxietileno (tales como laureth 9) de un 0,1 a un 8 %, preferentemente de un 0,1 a un 10 % y en particular de un 0,1 a un 1 % o de aproximadamente 0,5 %.

5 Las cantidades absolutas de aceite y tensioactivo, y su proporción, se pueden variar en amplios límites, mientras que todavía se forma una emulsión. Un experto en la técnica puede variar fácilmente las proporciones relativas de los componentes para obtener una emulsión deseada, pero es típica una proporción en peso de entre 4:1 y 5:1 para el aceite y el tensioactivo (exceso de aceite).

10 Un parámetro importante para garantizar la actividad inmunoestimulante de una emulsión, particularmente en animales grandes, es el tamaño de gotita de aceite (diámetro). Las emulsiones más eficaces tienen un tamaño de gotita en el intervalo submicrométrico. Adecuadamente, los tamaños de gotita están en el intervalo 50-750 nm. Con más utilidad, el tamaño de gotita promedio es menos de 250 nm, por ejemplo, menos de 200 nm, menos de 150 nm. Con utilidad, el tamaño de gotita promedio está en el intervalo de 80-180 nm. Idealmente, al menos un 80 % (en número) de las gotitas de aceite de la emulsión son de menos de 250 nm de diámetro, y preferentemente al menos un 90 %. Se pueden conseguir convenientemente estos tamaños de gotita mediante técnicas, tales como microfluidización. Los aparatos para determinar el tamaño de gotita promedio en una emulsión y la distribución de tamaños están disponibles comercialmente. Estos usan típicamente las técnicas de dispersión dinámica de la luz y/o detección óptica de partículas individuales, por ejemplo, las series de instrumentos Accusizer™ y Nicomp™ disponibles de Particle Sizing Systems (Santa Barbara, EE. UU.), o los instrumentos Zetasizer™ de Malvern Instruments (Reino Unido), o los instrumentos de analizadores de distribución de tamaños de partícula de Horiba (Kyoto, Japón).

20 Idealmente, la distribución de tamaños de gotita (en número) tiene únicamente un máximo, es decir, hay una población única de gotitas distribuidas alrededor de un promedio (moda), en lugar de tener dos máximos. Las emulsiones preferentes tienen una polidispersidad de < 0,4, por ejemplo, 0,3, 0,2, o menos.

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

- 25 • Una emulsión submicrométrica de escualeno, Tween 80 y Span 85. La composición de la emulsión en volumen puede ser de aproximadamente un 5 % de escualeno, de aproximadamente un 0,5 % de polisorbato 80 y de aproximadamente un 0,5 % de Span 85. En términos de peso, estas proporciones se convierten en un 4,3 % de escualeno, un 0,5 % de polisorbato 80 y un 0,48 % de Span 85. Este adyuvante se conoce como 'MF59' [32-33 34], como se describe en más detalle en el capítulo 10 de la ref. 35 y el capítulo 12 de la ref.36. La emulsión MF59 incluye ventajosamente iones citrato, por ejemplo, tampón citrato de sodio 10 mM.
- 30 • Una emulsión que comprende escualeno, un tocoferol y polisorbato 80. La emulsión puede incluir solución salina tamponada con fosfato. Estas emulsiones pueden tener en volumen desde un 2 a un 10 % de escualeno, desde un 2 a un 10 % de tocoferol y desde un 0,3 a un 3 % de polisorbato 80, y la proporción en peso de escualeno:tocoferol es preferentemente < 1 (por ejemplo, 0,90), puesto que esto puede proporcionar una emulsión más estable. El escualeno y el polisorbato 80 pueden estar presentes en una proporción en volumen de aproximadamente 5:2 o en una proporción en peso de aproximadamente 11:5. De esta manera, los tres componentes (escualeno, tocoferol, polisorbato 80) pueden estar presentes en una proporción en peso de 1068:1186:485 o alrededor de 55:61:25. Una de dichas emulsiones ('AS03') se puede hacer disolviendo Tween 80 en PBS para dar una solución al 2 %, a continuación, mezclando 90 ml de esta solución con una mezcla de (5 g de DL α tocoferol y 5 ml de escualeno), a continuación, microfluidizando la mezcla. La emulsión resultante puede tener gotitas de aceite submicrométricas, por ejemplo, con un diámetro promedio de entre 100 y 250 nm, preferentemente de aproximadamente 180 nm. La emulsión también puede incluir un monofosforil lípido A 3-de-O-acilado (3d MPL). Otra emulsión útil de este tipo puede comprender, por dosis en seres humanos, 0,5-10 mg de escualeno, 0,5-11 mg de tocoferol y 0,1-4 mg de polisorbato 80 [37], por ejemplo, en las proporciones analizadas anteriormente.
- 35 • Una emulsión de escualeno, un tocoferol y un detergente Tritón (por ejemplo, Tritón X-100). La emulsión también puede incluir un 3d-MPL (véase a continuación). La emulsión puede contener un tampón fosfato.
- 40 • Una emulsión que comprende un polisorbato (por ejemplo, polisorbato 80), un detergente Tritón (por ejemplo, Tritón X-100) y un tocoferol (por ejemplo, un succinato de α -tocoferol). La emulsión puede incluir estos tres componentes en una proporción en masa de aproximadamente 75:11:10 (por ejemplo, 750 μ g/ml de polisorbato 80, 110 μ g/ml de Tritón X-100 y 100 μ g/ml de succinato de α -tocoferol), y estas concentraciones deberían incluir cualquier contribución de estos componentes de los antígenos. La emulsión también puede incluir escualeno. La emulsión también puede incluir un 3d-MPL (véase a continuación). La fase acuosa puede contener un tampón fosfato.
- 45 • Una emulsión de escualeno, polisorbato 80 y poloxámero 401 ("Pluronic™ L121"). La emulsión se puede formular en solución salina tamponada con fosfato, pH 7,4. Esta emulsión es un vehículo de administración útil para dipéptidos de muramilo, y se ha usado con treonil-MDP en el adyuvante "SAF-1" [38] (un 0,05-1 % de Thr-MDP, un 5 % de escualeno, un 2,5 % de Pluronic L121 y un 0,2 % de polisorbato 80). También se puede usar sin el Thr-MDP, como en el adyuvante "AF" [39] (un 5 % de escualano, un 1,25 % de Pluronic L121 y un 0,2 % de

polisorbato 80). Es preferente la microfluidización.

- 5 • Una emulsión que comprende escualeno, un disolvente acuoso, un tensioactivo no iónico hidrófilo de polioxietileno alquil éter (por ejemplo, polioxietileno (12) cetostearyl éter) y un tensioactivo no iónico hidrófobo (por ejemplo, un éster de sorbitán o éster de manida, tal como monooleato de sorbitán o Span 80'). La emulsión es preferentemente termorreversible y/o tiene al menos un 90 % de las gotitas de aceite (en volumen) con un tamaño de menos de 200 nm [40]. La emulsión también puede incluir uno o más de: alditol; un agente crioprotector (por ejemplo, un azúcar, tal como dodecilmaltósido y/o sacarosa); y/o un alquilpoliglucósido. La emulsión puede incluir un agonista de TLR4 [41]. Dichas emulsiones se pueden liofilizar.
- 10 • Una emulsión de escualeno, poloxámero 105 y Abil-Care [42]. La concentración final (peso) de estos componentes en vacunas adyuvadas es de un 5 % de escualeno, un 4 % de poloxámero 105 (poliol de pluronic) y un 2 % de Abil-Care 85 (Bis-PEG/PPG-16/16 PEG/PPG-16/16 dimeticona; triglicérido cáprico/caprílico).
- 15 • Una emulsión que tiene desde un 0,5-50 % de un aceite, un 0,1-10 % de un fosfolípido y un 0,05-5 % de un tensioactivo no iónico. Como se describe en la referencia 43, los componentes fosfolípidos preferentes son fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina, fosfatidilinositol, fosfatidilglicerol, ácido fosfatídico, esfingomielina y cardioplipina. Son ventajosos los tamaños de gotita submicrométrica.
- 20 • Una emulsión de aceite en agua submicrométrica de un aceite no metabolizable (tal como aceite mineral ligero) y al menos un tensioactivo (tal como lecitina, Tween 80 o Span 80). Se pueden incluir aditivos, tales como saponina QuilA, colesterol, un conjugado de saponina-lipófilo (tal como GPI-0100, descrito en la referencia 44, producido mediante adición de amina alifática a desacilsaponina por medio del grupo carboxilo del ácido glucurónico), bromuro de dimetil-dioctadecil-amonio y/o N,N-dioctadecil-N,N-bis(2-hidroxietil)propanodiamina.
- Una emulsión en la que una saponina (por ejemplo, QuilA o QS21) y un esteroles (por ejemplo, un colesterol) se asocian como micelas helicoidales [45].
- 25 • Una emulsión que comprende un aceite mineral, un alcohol graso etoxilado lipófilo no iónico y un tensioactivo hidrófilo no iónico (por ejemplo, un alcohol graso etoxilado y/o copolímero de bloque de polioxietileno-polioxipropileno)[46].
- Una emulsión que comprende un aceite mineral, un alcohol graso etoxilado hidrófilo no iónico, y un tensioactivo lipófilo no iónico (por ejemplo, un alcohol graso etoxilado y/o copolímero de bloque de polioxietileno-polioxipropileno) [46].

30 En algunos modos de realización, se puede mezclar en el momento una emulsión con el/los antígeno(s), en el momento de administración, y, de esta manera, el adyuvante y el/los antígeno(s) se puede(n) mantener por separado en una vacuna distribuida o envasada, lista para la formulación final en el momento de su uso. En otros modos de realización, se mezcla una emulsión con el antígeno durante la fabricación, y, de esta manera, la composición se envasa en una forma adyuvada líquida. El antígeno está generalmente en forma acuosa, de tal manera que la vacuna se prepara finalmente mezclando dos líquidos. La proporción en volumen de los dos líquidos para mezclar puede 35 variar (por ejemplo, entre 5:1 y 1:5), pero es generalmente de aproximadamente 1:1. Cuando las concentraciones de los componentes se dan en las descripciones anteriores de emulsiones específicas, estas concentraciones son típicamente para una composición sin diluir, y la concentración después de la mezcla con una solución de antígeno, de esta manera, disminuye.

C. Formulaciones de saponina [capítulo 22 de la ref. 29]

40 También se pueden usar formulaciones de saponina como adyuvantes en las composiciones de la invención. Las saponinas son un grupo heterogéneo de glucósidos de esteroles y glucósidos de triterpenoides que se encuentran en la corteza, hojas, tallos, raíces e incluso flores de una amplia gama de especies de plantas. La saponina de la corteza del árbol de *Quillaia saponaria* Molina se ha estudiado ampliamente como adyuvante. La saponina también se puede obtener comercialmente a partir de *Smilax ornata* (sarsapilla), *Gypsophilla paniculata* (velo de novia) y *Saponaria officinalis* (hierba jabonera). Las formulaciones de adyuvante de saponina incluyen formulaciones purificadas, tales como QS21, así como formulaciones lipídicas, tales como ISCOM. La QS21 se comercializa como Stimulon™.

Las composiciones de saponina se han purificado usando HPLC y RP-HPLC. Las fracciones purificadas específicas que usan estas técnicas se han identificado, incluyendo QS7, QS17, QS18, QS21, QH-A, QH-B y QH-C. Preferentemente, la saponina es QS21. Un procedimiento de producción de QS21 se desvela en la ref. 47. Las formulaciones de saponina también pueden comprender un esteroles, tal como colesterol [48].

45 También se pueden usar combinaciones de saponinas y colesteroles para formar partículas denominadas ISCOM (capítulo 23 de la ref. 29). Los ISCOM también incluyen típicamente un fosfolípido, tal como fosfatidiletanolamina o fosfatidilcolina. Se puede usar cualquier saponina conocida en los ISCOM. Preferentemente, el ISCOM incluye una o más de QuilA, QHA y QHC. Los ISCOM se describen adicionalmente en las refs. 48-49 50. Opcionalmente, los ISCOM pueden estar desprovistos de detergentes adicionales [51].

Una revisión del desarrollo de los adyuvantes basados en saponina se puede encontrar en las refs. 52 y 53.

D. Derivados bacterianos o microbianos

Los adyuvantes adecuados para su uso en las composiciones de la invención incluyen derivados bacterianos o microbianos, tales como derivados no tóxicos de lipopolisacárido (LPS) enterobacteriano, derivados del lípido A, oligonucleótidos inmunoestimulantes y toxinas de ADP-ribosilación y derivados destoxificados de las mismas.

Los derivados no tóxicos de LPS incluyen monofosforil lípido A (MPL) y MPL 3-O-desacilado (3dMPL). El 3dMPL es una mezcla de monofosforil lípido A 3-de-O-acilado con 4, 5 o 6 cadenas aciladas. Se describe una forma de "partícula pequeña" preferente de monofosforil lípido A 3-de-O-acilado en la ref. 54. Dichas "partículas pequeñas" de 3dMPL son lo suficientemente pequeñas como para filtrarse de manera estéril a través de una membrana 0,22 µm [54]. Otros derivados de LPS no tóxicos incluyen miméticos de monofosforil lípido A, tales como derivados de fosfato de aminoalquilglucosaminida, por ejemplo, RC-529 (véase a continuación).

Los derivados de lípido A incluyen derivados de lípido A de *Escherichia coli*, tales como OM-174. Por ejemplo, se describe OM-174 en las refs. 55 y 56.

Los oligonucleótidos inmunoestimulantes adecuados para su uso como adyuvantes en las composiciones de la invención incluyen secuencias nucleotídicas que contienen un motivo CpG (una secuencia dinucleotídica que contiene una citosina no metilada enlazada mediante un enlace fosfato a una guanosina). Los ARN bicatenarios y los oligonucleótidos que contienen secuencias palindrómicas o poli(dG) también han demostrado ser inmunoestimulantes.

Los CpG pueden incluir análogos/modificaciones nucleotídicas, tales como modificaciones de fosforotioato, y pueden ser bicatenarios o monocatenarios. Las referencias 57, 58 y 59 desvelan posibles sustituciones de análogos, por ejemplo, el reemplazo de guanosina por 2'-desoxi-7-desazaguanosina. El efecto adyuvante de los oligonucleótidos con CpG se analiza adicionalmente en las refs. 60-61 62 63 64 65.

La secuencia de CpG se puede dirigir a TLR9, tal como el motivo GTCGTT o TTCGTT [28]. La secuencia de CpG puede ser específica para inducir una respuesta inmunitaria Th1, tal como un ODN con CpG-A, o puede ser más específica para inducir una respuesta de linfocitos B, tal como un ODN con CpG-B. Los ODN con CpG-A y CpG-B se analizan en las refs. 67-68 69. Preferentemente, el CpG es un ODN con CpG-A.

Preferentemente, el oligonucleótido con CpG se construye de modo que el extremo 5' sea accesible para el reconocimiento del receptor. Opcionalmente, se pueden unir dos secuencias oligonucleotídicas con CpG en sus extremos 3' para formar "inmunómeros". Por ejemplo, véanse las refs. 66 y 70-71 72.

Un adyuvante con CpG útil es CpG7909, también conocido como ProMune™ (Coley Pharmaceutical Group, Inc.). Otro es CpG1826. Como alternativa a, o además de, usar secuencias de CpG, se pueden usar secuencias de TpG [73], y estos oligonucleótidos pueden estar libres de motivos CpG no metilados. El oligonucleótido inmunoestimulante puede ser rico en pirimidina. Por ejemplo, puede comprender más de un nucleótido de timidina consecutivo (por ejemplo, TTTT, como se desvela en la ref. 73), y/o puede tener una composición nucleotídica con > 25 % de timidina (por ejemplo, > 35 %, > 40 %, > 50 %, > 60 %, > 80 %, etc.). Por ejemplo, puede comprender más de un nucleótido de citosina consecutivo (por ejemplo, CCCC, como se desvela en la ref. 73), y/o puede tener una composición nucleotídica con > 25 % de citosina (por ejemplo, > 35 %, > 40 %, > 50 %, > 60 %, > 80 %, etc.). Estos oligonucleótidos pueden estar libres de motivos CpG no metilados. Los oligonucleótidos inmunoestimulantes típicamente comprenden al menos 20 nucleótidos. Pueden comprender menos de 100 nucleótidos.

Un adyuvante particularmente útil basado en torno a los oligonucleótidos inmunoestimulantes se conoce como IC-31™ [74]. De esta manera, un adyuvante usado con la invención puede comprender una mezcla de (i) un oligonucleótido (por ejemplo, de entre 15-40 nucleótidos) que incluya al menos un (y preferentemente múltiples) motivo(s) Cpl (es decir, una citosina enlazada a una inosina para formar un dinucleótido) y (ii) un polímero policatiónico, tal como un oligopéptido (por ejemplo, de entre 5-20 aminoácidos), que incluya al menos una (y preferentemente múltiples) secuencia(s) de tripéptidos Lys-Arg-Lys. El oligonucleótido puede ser un desoxinucleótido que comprenda la secuencia 26-mérica 5'-(IC)₁₃-3' (SEQ ID NO: 41). El polímero policatiónico puede ser un péptido que comprenda la secuencia aminoacídica 11-mérica KLKLLLLLKLK (SEQ ID NO: 42). El oligonucleótido y el polímero pueden formar complejos, por ejemplo, como se desvela en las referencias 75 y 76.

Se pueden usar toxinas de ADP-ribosilación bacterianas y derivados destoxificados de las mismas como adyuvantes en las composiciones de la invención. Preferentemente, la proteína deriva de *E. coli* (enterotoxina termolábil de *E. coli* "LT"), cólera ("CT") o tosferina ("PT"). Se describe el uso de toxinas de ADP-ribosilación destoxificadas como adyuvantes mucosal en la ref. 77 y como adyuvantes parenterales en la ref. 78. La toxina o el toxoide está preferentemente en forma de una holotoxina, que comprende ambas subunidades A y B. Preferentemente, la subunidad A contiene una mutación destoxificante; preferentemente la subunidad B no está mutada. Preferentemente, el adyuvante es un mutante de LT destoxificada, tal como LT-K63, LT-R72 y LT-G192. El uso de toxinas de ADP-ribosilación y derivados destoxificados de las mismas, particularmente LT-K63 y LT-R72, como adyuvantes se puede encontrar en las refs. 79-80 81 82 83 84 85 86. Un mutante de CT útil es CT-E29H [87]. La referencia numérica para las sustituciones de aminoácidos se basa preferentemente en las alineaciones de las subunidades A y B de las toxinas

de ADP-ribosilación expuestas en la ref. 88, incorporadas específicamente en el presente documento por referencia en su totalidad.

E. Agonistas de TLR

5 Las composiciones pueden incluir un agonista de TLR, es decir, un compuesto que puede actuar como agonista de un receptor de tipo Toll. Lo más preferentemente, un agonista de TLR es un agonista de un TLR humano. El agonista de TLR puede activar cualquiera de TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9 o TLR11; preferentemente puede activar el TLR4 humano o el TLR7 humano.

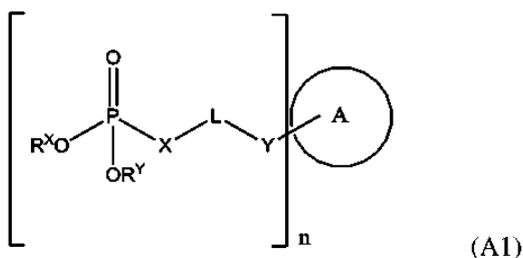
10 Se puede determinar la actividad agonista de un compuesto frente a cualquier receptor de tipo Toll particular mediante ensayos estándar. Las compañías, tales como Imgenex and Invivogen, suministran líneas celulares que están establemente cotransfectadas con NFκB y genes de TLR humanos, más genes indicadores adecuados, para medir las vías de activación de TLR. Están diseñados para la sensibilidad, la dinámica en un amplio intervalo de trabajo y se pueden usar el cribado ultrarrápido. La expresión constitutiva de uno o dos TLR específicos es típica en dichas líneas celulares. Véase también la referencia 89. Se conocen muchos agonistas de TLR en la técnica, por ejemplo, la referencia 90 describe determinadas moléculas de lipopéptidos que son agonistas de TLR2, cada una de las referencias 91 a 92 93 94 describen clases de agonistas de pequeñas moléculas de TLR7 y las referencias 95 y 96 describen agonistas de TLR7 y TLR8 para el tratamiento de enfermedades.

20 Un agonista de TLR usado con la invención incluye idealmente al menos una fracción de adsorción. La inclusión de dichas fracciones en los agonistas de TLR les permite adsorberse en sales de aluminio insolubles (por ejemplo, mediante intercambio de ligandos o cualquier otro mecanismo adecuado) y mejora su comportamiento inmunológico [97]. Las fracciones de adsorción que contienen fósforo son particularmente útiles, y, de este modo, una fracción de adsorción puede comprender un fosfato, un fosfonato, un fosfinato, un fosfonito, un fosfinito, etc. Preferentemente, el agonista de TLR incluye al menos un grupo fosfonato.

25 De esta manera, en modos de realización preferentes, una composición incluye un agonista de TLR (más preferentemente un agonista de TLR7) que incluye un grupo fosfonato. Este grupo fosfonato puede permitir la adsorción del agonista en una sal de aluminio insoluble [97].

Los agonistas de TLR útiles con la invención pueden incluir una fracción de adsorción único, o pueden incluir más de un, por ejemplo, entre 2 y 15, fracciones de adsorción. Típicamente un compuesto incluye 1, 2 o 3 fracciones de adsorción.

Los agonistas de TLR que contienen fósforo útiles se pueden representar por la fórmula (A1):



30 en la que:

R^X y R^Y se seleccionan independientemente de H y alquilo C₁-C₆;

X se selecciona de un enlace covalente, O y NH;

Y se selecciona de un enlace covalente, O, C(O), S y NH;

35 L es un enlazador seleccionado, por ejemplo, de alquilenilo C₁-C₆, alquilenilo C₁-C₆, arileno, heteroarileno, alquilenoxi C₁-C₆ y -((CH₂)_pO)_q(CH₂)_p- cada uno sustituido opcionalmente con de 1 a 4 sustituyentes seleccionados independientemente de halo, OH, alquilo C₁-C₄, -OP(O)(OH)₂ y -P(O)(OH)₂;

cada p se selecciona independientemente de 1, 2, 3, 4, 5 y 6;

q se selecciona de 1, 2, 3 y 4;

40 n se selecciona de 1, 2 y 3; y

A es una fracción de agonista de TLR.

En un modo de realización, el agonista de TLR de acuerdo con la fórmula (A1) es como sigue: R^X y R^Y son H; X es O; L se selecciona de alquileo C_1-C_6 y $-((CH_2)_pO)_q(CH_2)_p-$ cada uno sustituido opcionalmente con de 1 a 2 átomos de halógeno; p se selecciona de 1, 2 y 3; q se selecciona de 1 y 2; y n es 1. De esta manera, en estos modos de realización, la fracción de adsorción comprende un grupo fosfato.

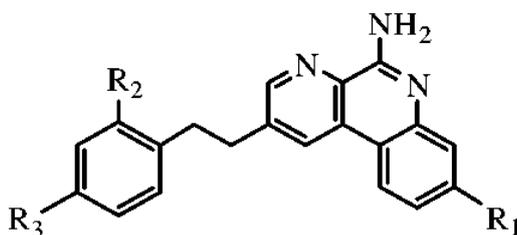
5 Se desvelan otros agonistas de TLR útiles de fórmula (A1) en las páginas 6-13 de la referencia 98.

Las composiciones pueden incluir un compuesto de imidazoquinolona, tal como imiquimod ("R-837") [99, 100], resiquimod ("R-848") [101] y sus análogos; y sales de los mismos (por ejemplo, las sales de clorhidrato). Se pueden encontrar detalles adicionales acerca de las imidazoquinolinas inmunoestimulantes en las referencias 102 a 103 104 105 106.

10 Las composiciones pueden incluir un agonista de TLR4 y lo más preferentemente un agonista de TLR4 humano. TLR4 se expresa mediante las células del sistema inmunitario innato, incluyendo los macrófagos y las células dendríticas convencionales [107]. La iniciación por medio del TLR4 desencadena una cascada de señalización que utiliza ambas vías dependientes de TRIF y MyD88, dando lugar a la activación de NF- κ B e IRF3/7, respectivamente. La activación de TLR4 desencadena típicamente una intensa producción de IL-12p70 y potencia fuertemente las respuestas inmunitarias celulares y humorales Th1.

15 Se conocen en la técnica diversos agonistas de TLR4 útiles, muchos de los cuales son análogos de endotoxina o lipopolisacárido (LPS). Por ejemplo, el agonista de TLR4 puede ser 3d-MPL (es decir, monofosforil lípido A 3-de-O-desacilado; presente en el adyuvante 'AS04' de GSK, con detalles adicionales en las referencias 108 a 109 110 111), glucopiranosil lípido A (GLA) [112] o su sal de amonio; un fosfato de aminoalquilglucosaminida, tal como RC-529 o CRX-524 [113-114 115]; E5564 [116, 117]; o un compuesto de fórmula I, II o III como se define en la referencia 118, o una sal del mismo, tal como los compuestos ER 803058', 'ER 803732', 'ER 804053', 'ER 804058', 'ER 804059', 'ER 804442', 'ER 804680', 'ER 803022', 'ER 804764' o 'ER 804057' (también conocido como E6020).

La invención es útil cuando se usan los agonistas de TLR7 humano, tal como un compuesto de fórmula (K). Estos agonistas se analizan en detalle en la referencia 119:



(K)

25 en la que:

R^1 es H, alquilo C_1-C_6 , $-C(R^5)_2OH$, $-L^1R^5$, $-L^1R^6$, $-L^2R^5$, $-L^2R^6$, $-OL^2R^5$ o $-OL^2R^6$;

L^1 es $-C(O)-$ o $-O-$;

30 L^2 es alquileo C_1-C_6 , alquenileno C_2-C_6 , arileno, heteroarileno o $-((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p-$, en la que el alquileo C_1-C_6 y alquenileno C_2-C_6 de L^2 se sustituyen opcionalmente con de 1 a 4 grupos fluoro;

cada L^3 se selecciona independientemente de alquileo C_1-C_6 y $-((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p-$, en la que el alquileo C_1-C_6 de L^3 se sustituye opcionalmente con de 1 a 4 grupos fluoro;

L^4 es arileno o heteroarileno;

R^2 es H o alquilo C_1-C_6 ;

35 R^3 se selecciona de alquilo C_1-C_4 , $-L^3R^5$, $-L^1R^5$, $-L^3R^7$, $-L^3L^4L^3R^7$, $-L^3L^4R^5$, $-L^3L^4L^3R^5$, $-OL^3R^5$, $-OL^3R^7$, $-OL^3L^4R^7$, $-OL^3L^4L^3R^7$, $-OR^8$, $-OL^3L^4R^5$, $-OL^3L^4L^3R^5$ y $-C(R^5)_2OH$;

cada R^4 se selecciona independientemente de H y fluoro;

R^5 es $-P(O)(OR^9)_2$,

R^6 es $-CF_2P(O)(OR^9)_2$ o $-C(O)OR^{10}$;

40 R^7 es $-CF_2P(O)(OR^9)_2$ o $-C(O)OR^{10}$;

R⁸ es H o alquilo C₁-C₄;

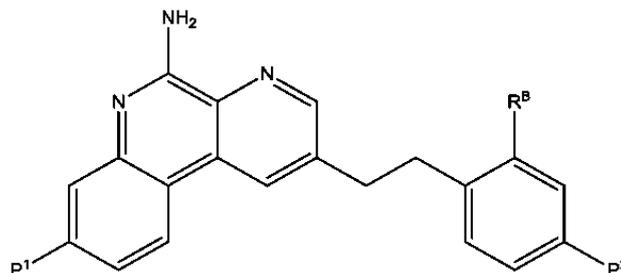
cada R⁹ se selecciona independientemente de H y alquilo C₁-C₆;

R¹⁰ es H o alquilo C₁-C₄;

cada p se selecciona independientemente de 1, 2, 3, 4, 5 y 6, y

5 q es 1, 2, 3 o 4.

El compuesto de fórmula (K) es preferentemente de fórmula (K')



(K')

en la que:

P¹ se selecciona de H, alquilo C₁-C₆ sustituido opcionalmente con COOH y -Y-L-X-P(O)(OR^X)(OR^Y);

10 P² se selecciona de H, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆ y -Y-L-X-P(O)(OR^X)(OR^Y);

con la condición de que al menos uno de P¹ y P² sea -Y-L-X-P(O)(OR^X)(OR^Y);

R^B se selecciona de H y alquilo C₁-C₆;

R^X y R^Y se seleccionan independientemente de H y alquilo C₁-C₆;

X se selecciona de un enlace covalente, O y NH;

15 Y se selecciona de un enlace covalente, O, C(O), S y NH;

L se selecciona de un enlace covalente de alquilenos C₁-C₆, alquilenos C₁-C₆, arileno, heteroarileno, alquilenoxi C₁-C₆ y -((CH₂)_pO)_q(CH₂)_p- cada uno sustituido opcionalmente con de 1 a 4 sustituyentes seleccionados independientemente de halo, OH, alquilo C₁-C₄, -OP(O)(OH)₂ y -P(O)(OH)₂;

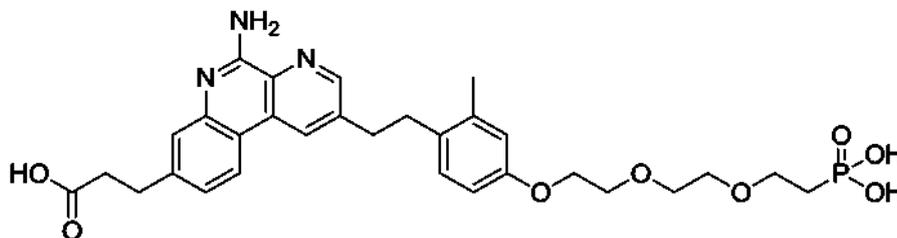
cada p se selecciona independientemente de 1, 2, 3, 4, 5 y 6; y

20 q se selecciona de 1, 2, 3 y 4.

En algunos modos de realización de fórmula (K'): P¹ se selecciona de alquilo C₁-C₆ sustituido opcionalmente con COOH y -Y-L-X-P(O)(OR^X)(OR^Y); P² se selecciona de alcoxi C₁-C₆ y -Y-L-X-P(O)(OR^X)(OR^Y); R^B es alquilo C₁-C₆; X es un enlace covalente; L se selecciona de alquilenos C₁-C₆ y -((CH₂)_pO)_q(CH₂)_p- cada uno sustituido opcionalmente con de 1 a 4 sustituyentes seleccionados independientemente de halo, OH, C₁-C₄alkyl, -OP(O)(OH)₂ and -P(O)(OH)₂; cada p se selecciona independientemente de 1, 2 y 3; q se selecciona de 1 y 2.

25

Un compuesto preferente de fórmula (K) para su uso con la invención es ácido 3-(5-amino-2-(2-metil-4-(2-(2-(2-fosfonoetoxi)etoxi)etoxi)fenil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico, o compuesto 'K1':



(K1)

Se puede usar este compuesto como base libre o en forma de una sal farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, una sal de arginina [120].

F. Micropartículas

- 5 También se pueden usar micropartículas como adyuvantes en las composiciones de la invención. Son preferentes las micropartículas (es decir, una partícula de ~ 100 nm a ~ 150 µm de diámetro, más preferentemente de ~ 200 nm a ~ 30 µm de diámetro y lo más preferentemente de ~ 500 nm a ~ 10 µm de diámetro) formadas a partir de materiales que son biodegradables y no tóxicos (por ejemplo, un poli(α-hidroxi ácido), un ácido polihidroxibutírico, un poliortoéster, un polianhídrido, una policaprolactona, etc.), con poli(láctido-co-glicólido), opcionalmente tratadas para que tengan una superficie cargada negativamente (por ejemplo, con SDS) o una superficie cargada positivamente (por ejemplo, con un detergente catiónico, tal como CTAB).

Combinaciones de adyuvantes

También se pueden incluir en las combinaciones los adyuvantes individuales enumerados anteriormente. Por ejemplo, se puede usar una combinación de un hidróxido de aluminio y un adyuvante de fosfato de aluminio. Del mismo modo, se puede usar una combinación de fosfato de aluminio y 3dMPL.

- 15 Una combinación de adyuvantes particularmente preferente es una sal de metal insoluble (por ejemplo, una sal de aluminio, tal como un hidróxido de aluminio) y un agonista de TLR (por ejemplo, un agonista de TLR7 humano, tal como el compuesto 'K1' identificado anteriormente), como se desvela en las referencias 5 y 97. De este modo, en particular, dicho adyuvante se selecciona del grupo que consiste en:
- sales de aluminio, particularmente hidróxidos de aluminio y fosfatos de aluminio;
 - 20 - agonistas de TLR humano, particularmente agonistas de TLR7; y
 - una mezcla de los mismos.

El agonista de TLR se adsorbe preferentemente en la sal de metal y el/los antígeno(s) de *S. aureus* también se pueden adsorber en la sal de metal.

- 25 Una composición que incluye un agonista de TLR de la divulgación adsorbido en una sal de metal también puede incluir un tampón (por ejemplo, un fosfato o una histidina o un tampón Tris). Sin embargo, cuando dicha composición incluye un tampón fosfato es preferente que la concentración de iones fosfato en el tampón sea de menos de 50 mM, por ejemplo, < 40 mM, < 30 mM, < 20 mM, < 10 mM o < 5 mM o entre 1-15 mM. Es preferente un tampón histidina, por ejemplo, de entre 1-50 mM, de entre 5-25 mM o de aproximadamente 10 mM.

- 30 Una composición puede incluir una mezcla de tanto un oxihidróxido de aluminio como un hidroxifosfato de aluminio, y un agonista de TLR se puede adsorber en una o ambas de estas sales.

- Como se menciona anteriormente, es preferente un máximo de 0,85 mg/dosis de Al⁺⁺⁺. A causa de que la inclusión de un agonista de TLR puede mejorar el efecto adyuvante de las sales de aluminio, esto permite ventajosamente cantidades más bajas de Al⁺⁺⁺ por dosis, y, de este modo, una composición puede incluir con utilidad entre 10 y 250 µg de Al⁺⁺⁺ por dosis unitaria. Las vacunas pediátricas actuales incluyen típicamente al menos 300 µg de Al⁺⁺⁺. En términos de concentración, una composición puede tener una concentración de Al⁺⁺⁺ de entre 10 y 500 µg/ml, por ejemplo, de entre 10-300 µg/ml, de entre 10-200 µg/ml, o de entre 10-100 µg/ml.

- 40 En general, cuando una composición incluye tanto un agonista de TLR como una sal de aluminio, la proporción en peso de agonista con respecto a Al⁺⁺⁺ es de menos de 5:1, por ejemplo, de menos de 4:1, de menos de 3:1, de menos de 2:1 o de menos de 1:1. De esta manera, por ejemplo, con una concentración de Al⁺⁺⁺ de 0,5 mg/ml, la concentración máxima de agonista de TLR es 1,5 mg/ml. Pero se pueden usar niveles más altos o más bajos.

Si una composición incluye un agonista de TLR y una sal de metal insoluble, es preferente que al menos un 50 % (en masa) del agonista en la composición sea adsorbido en la sal de metal, por ejemplo, ≥ 60 %, ≥ 70 %, ≥ 80 %, ≥ 85 %, ≥ 90 %, ≥ 92 %, ≥ 94 %, ≥ 95 %, ≥ 96 %, ≥ 97 %, ≥ 98 %, ≥ 99 % o incluso un 100 %.

De esta manera, en un modo de realización, la divulgación usa una composición inmunogénica que comprende:

- 45 un adyuvante de hidróxido de aluminio;
 un agonista de TLR7 de fórmula (K), tal como el compuesto K1;
 un primer polipéptido que comprende la SEQ ID NO: 6 o una secuencia aminoacídica modificada que difiere de la SEQ ID NO: 6 en hasta 5 cambios amino únicos, siempre que la secuencia modificada pueda inducir anticuerpos que se unan a un polipéptido que consiste en la SEQ ID NO: 6;
- 50 un segundo polipéptido que comprende la SEQ ID NO: 13 o una secuencia aminoacídica modificada que difiere de la SEQ ID NO: 13 en hasta 5 cambios amino únicos, siempre que la secuencia modificada pueda inducir anticuerpos que se unan a un polipéptido que consiste en la SEQ ID NO: 13;
- un tercer polipéptido que comprende la SEQ ID NO: 31 o una secuencia aminoacídica modificada que difiere de la

SEQ ID NO: 31 en hasta 5 cambios amino únicos, siempre que la secuencia modificada pueda inducir anticuerpos que se unan a un polipéptido que consiste en la SEQ ID NO: 31;

un cuarto polipéptido que comprende la SEQ ID NO: 33 o una secuencia aminoacídica modificada que difiere de la SEQ ID NO: 33 en hasta 5 cambios amino únicos, siempre que la secuencia modificada pueda inducir anticuerpos que se unan a un polipéptido que consiste en la SEQ ID NO: 33; y

un quinto polipéptido que comprende la SEQ ID NO: 45 o una secuencia aminoacídica modificada que difiere de la SEQ ID NO: 45 en hasta 5 cambios amino únicos, siempre que la secuencia modificada pueda inducir anticuerpos que se unan a un polipéptido que consiste en la SEQ ID NO: 43; y,

en la que el agonista de TLR7 y/o al menos uno de los polipéptidos se adsorbe(n) en el adyuvante de hidróxido de aluminio.

Por ejemplo, como se explica en más detalle en otra parte en el presente documento: el primer polipéptido puede comprender la SEQ ID NO: 34; el segundo polipéptido puede comprender la SEQ ID NO: 13; el tercer polipéptido puede comprender la SEQ ID NO: 40; el cuarto polipéptido puede comprender la SEQ ID NO: 36; y el quinto polipéptido puede comprender la SEQ ID NO: 45, modificada opcionalmente con hasta 3 sustituciones de aminoácidos (distintas de aquellas en las posiciones que son X en la SEQ ID NO: 44). De esta manera, la composición puede usar una mezcla de cinco polipéptidos que tienen las SEQ ID NO: 37, 27, 38, 39 y 45 (excepto porque la SEQ ID NO: 45 se puede modificar con hasta 3 sustituciones de aminoácidos, como se ha analizado anteriormente).

Grupos químicos

A menos que se defina específicamente en otra parte, los grupos químicos analizados en el presente documento tienen el siguiente significado cuando se usan en la presente memoria descriptiva:

El término "alquilo" incluye restos de hidrocarburos saturados que incluyen:

- grupos lineales de hasta 10 átomos (C₁-C₁₀) o de hasta 6 átomos (C₁-C₆) o de hasta 4 átomos (C₁-C₄). Los ejemplos de dichos grupos alquilo incluyen, pero no se limitan a C₁ - metilo, C₂ - etilo, C₃ - propilo y C₄ - n-butilo.
- grupos ramificados de entre 3 y 10 átomos (C₃-C₁₀) o de hasta 7 átomos (C₃-C₇) o de hasta 4 átomos (C₃-C₄). Los ejemplos de dichos grupos alquilo incluyen, pero no se limitan a C₃ - iso-propilo, C₄ - sec-butilo, C₄ - iso-butilo, C₄ - terc-butilo y C₅ - neo-pentilo.

El término "alquileo" se refiere al radical hidrocarburo divalente derivado de un grupo alquilo y se debe interpretar de conformidad con la definición anterior.

El término "alqueno" incluye restos de hidrocarburos monoinsaturados que incluyen:

- grupos lineales de entre 2 y 6 átomos (C₂-C₆). Los ejemplos de dichos grupos alqueno incluyen, pero no se limitan a C₂ - vinilo, C₃ - 1-propenilo, C₃ - alilo, C₄ - 2-butenilo.
- grupos ramificados de entre 3 y 8 átomos (C₃-C₈). Los ejemplos de dichos grupos alqueno incluyen, pero no se limitan a C₄ - 2-metil-2-propenilo y C₆ - 2,3-dimetil-2-butenilo.

El término alquenoileno se refiere al radical hidrocarburo divalente derivado de un grupo alqueno y se debe interpretar de conformidad con la definición anterior.

El término "alcoxi" incluye restos de hidrocarburos enlazados a O que incluyen:

- grupos lineales de entre 1 y 6 átomos (C₁-C₆) o de entre 1 y 4 átomos (C₁-C₄). Los ejemplos de dichos grupos alcoxi incluyen, pero no se limitan a C₁ - metoxi, C₂ - etoxi, C₃ - n-propoxi y C₄ - n-butoxi.
- grupos ramificados de entre 3 y 6 átomos (C₃-C₆) o de entre 3 y 4 átomos (C₃-C₄). Los ejemplos de dichos grupos alcoxi incluyen, pero no se limitan a C₃ - iso-propoxi y C₄ - sec-butoxi y terc-butoxi.

Halo se selecciona de Cl, F, Br y I. Halo es preferentemente F.

El término "arilo" incluye un sistema de anillo aromático simple o condensado que contiene 6 o 10 átomos de carbono; en el que, a menos que se indique de otro modo, cada aparición de arilo se puede sustituir opcionalmente con hasta 5 sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo (C₁-C₆), alcoxi (C₁-C₆), OH, halo, CN, COOR¹⁴, CF₃ y NR¹⁴R¹⁵ como se ha definido anteriormente. Típicamente, arilo se sustituye opcionalmente con 1, 2 o 3 sustituyentes. Los sustituyentes opcionales se seleccionan de los indicados anteriormente. Los ejemplos de grupos arilo adecuados incluyen fenilo y naftilo (cada uno sustituido opcionalmente como se indica anteriormente). Arileno se refiere al radical divalente derivado de un grupo arilo y se debe interpretar de conformidad con la definición anterior.

El término "heteroarilo" incluye un anillo aromático mono o bicíclico de 5, 6, 9 o 10 miembros, que contiene 1 o 2 átomos de N y, opcionalmente, un átomo de NR¹⁴, o un átomo de NR¹⁴ y un átomo de S o un O, o un átomo de S, o un átomo de O; en el que, a menos que se indique de otro modo, dicho heteroarilo se puede sustituir opcionalmente con 1, 2 o 3 sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo (C₁-C₆), alcoxi (C₁-C₆), OH, halo, CN, COOR¹⁴, CF₃ y NR¹⁴R¹⁵ como se define a continuación. Los ejemplos de grupos heteroarilo adecuados incluyen tienilo, furanilo, pirrolilo, pirazolilo, imidazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, triazolilo, oxadiazolilo, tiadiazolilo, tetrazolilo,

piridinilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, indolilo, bencimidazolilo, benzotriazolilo, quinolinilo e isoquinolinilo (sustituidos opcionalmente como se indica anteriormente). Heteroarileno se refiere al radical divalente derivado de heteroarilo y se debe interpretar de conformidad con la definición anterior.

5 El término "heterociclilo" es un anillo mono o bicíclico no aromático de 3 a 10 miembros enlazado a C o enlazado a N, en el que dicho anillo heterocicloalquilo contiene, cuando sea posible, 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados independientemente de N, NR¹⁴, S(O)_q y O; y dicho anillo heterocicloalquilo contiene opcionalmente, cuando sea posible, 1 o 2 dobles enlaces, y se sustituye opcionalmente en el carbono con 1 o 2 sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo (C₁-C₆), alcoxi (C₁-C₆), OH, CN, CF₃, halo, COOR¹⁴, NR¹⁴R¹⁵ y arilo.

En las definiciones anteriores, R¹⁴ y R¹⁵ se seleccionan independientemente de H y alquilo (C₁-C₆).

10 Cuando una fórmula estructural se define con un sustituyente unido al núcleo de la molécula mediante un enlace no especificado o "flotante", por ejemplo, como el grupo P³ en el caso de la fórmula (C), esta definición abarca los casos donde el sustituyente no especificado se une a cualquiera de los átomos en el anillo en el que se ubica el enlace flotante, mientras se cumpla con la valencia permitida para ese átomo.

15 En el caso de compuestos de la divulgación, que pueden existir en formas tautómeras (es decir, en las formas ceto o enol), por ejemplo, los compuestos de fórmula (C) o (H), la referencia a un compuesto particular incluye opcionalmente todas de dichas formas tautómeras.

General

20 La práctica de la presente invención emplea, a menos que se indique de otro modo, procedimientos convencionales de química, bioquímica, biología molecular, inmunología y farmacología, en la experiencia de la técnica. Dichas técnicas se explican completamente en la literatura. Véanse, por ejemplo, las referencias 121-122 123 124 125 126 127 128, etc.

25 Anteriormente se usa la numeración "GI". Un número GI, o "identificador GenInfo", es una serie de dígitos asignados consecutivamente a cada registro de secuencia procesada por el NCBI cuando se añaden secuencias a sus bases de datos. El número GI no guarda semejanza con el número de referencia del registro de secuencia. Cuando se actualiza una secuencia (por ejemplo, para corregir o para añadir más información o anotación), entonces recibe un número GI nuevo. De esta manera, la secuencia asociada con un número GI dado nunca se cambia.

30 Si la divulgación se refiere a un "epítopo", este epítopo puede ser un epítopo de linfocitos B y/o un epítopo de linfocitos T. Dichos epítopos se pueden identificar empíricamente (por ejemplo, usando PEPSCAN [129, 130] o procedimientos similares) o se pueden predecir (por ejemplo, usando el índice antigénico de Jameson-Wolf [131], los enfoques basados en matrices [132], MAPITOPE [133], TEPITOPE [134, 135], redes neuronales [136], OptiMer y EpiMer [138, 137], ADEPT [139], Tsites [140], hidrofilia [141], índice antigénico [142] o los procedimientos divulgados en las referencias 143-144 145 146 147, etc.). Los epítopos son las partes de un antígeno que se reconocen por y se unen a los sitios de unión a antígeno de los anticuerpos o receptores de linfocitos T, y también se pueden denominar "determinantes antigénicos".

35 Si un "dominio" antigénico se omite, esto puede implicar la omisión de un péptido señal, de un dominio citoplásmico, de un dominio transmembranario, de un dominio extracelular, etc.

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

40 El término "aproximadamente" en relación con un valor numérico x es opcional y quiere decir, por ejemplo, x ± un 10 %.

45 Las referencias a una identidad de secuencia en porcentaje entre dos secuencias aminoacídicas quiere decir que, cuando se alinean, el porcentaje de aminoácidos es el mismo al comparar las dos secuencias. Se pueden determinar esta alineación y la homología o identidad de secuencia en porcentaje usando programas de software conocidos en la técnica, por ejemplo, los descritos en la sección 7.7.18 de la ref.148. Una alineación preferente se determina mediante el algoritmo de búsqueda de homología de Smith-Waterman usando una búsqueda de huecos afines con una penalización por abertura de hueco de 12 y una penalización por extensión de hueco de 2, matriz BLOSUM de 62. Se desvela el algoritmo de búsqueda de homología de Smith-Waterman en la ref. 149. La identidad en porcentaje con respecto a cualquier secuencia particular (por ejemplo, con respecto a una SEQ ID particular) se calcula idealmente sobre toda la longitud de esa secuencia.

50 Se puede determinar la afinidad de unión mediante cualquier procedimiento conocido en la técnica, incluyendo resistencia de plasmón superficial, calorimetría isotérmica de titulación, ensayos de unión competitiva, ensayo de desplazamiento térmico, etc. Aunque las cifras absolutas obtenidas usando procedimientos diferentes pueden variar, se concibe que la determinación de la afinidad de unión relativa de una proteína en comparación con otra no debería depender del procedimiento usado.

Los adyuvantes que contienen fósforo usados con la invención pueden existir en un número de formas protonadas y desprotonadas dependiendo del pH del ambiente circundante, por ejemplo, el pH del disolvente en el que se disuelven. Por lo tanto, aunque se puede ilustrar una forma particular, se pretende que estas ilustraciones sean meramente representativas y no limitantes de una forma protonada o desprotonada específica. Por ejemplo, en el caso de un grupo fosfato, este se ha ilustrado como $-OP(O)(OH)_2$, pero la definición incluye las formas protonadas $[OP(O)(OH_2)(OH)]^+$ y $-[OP(O)(OH)_2]^{2+}$ que pueden existir en condiciones ácidas y las formas desprotonadas $-[OP(O)(OH)(O)]^-$ que pueden existir en condiciones básicas.

Los compuestos pueden existir como sales farmacéuticamente aceptables. De esta manera, se pueden usar los compuestos (por ejemplo, adyuvantes) en forma de sus sales farmacéuticamente aceptables, es decir, sal fisiológicamente o toxicológicamente tolerable (que incluye, si procede, sales de adición de bases farmacéuticamente aceptables y sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables).

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

15 **Modos para llevar a cabo la invención**

Mutante SpAkR

SpA es un factor de virulencia clave en *S. aureus* y actúa interfiriendo en el aclaramiento opsonofagocítico de la bacteria y destruyendo las respuestas inmunitarias adaptativas. La secuencia SEQ ID NO: 43 natural incluye cinco dominios de unión a Ig (IgBD), como se muestra anteriormente, y se sabe que muta los restos aminoacídicos en estos dominios para anular la actividad de unión a Fc/Fab mientras se conserva la inmunogenia, por ejemplo, véase el reemplazo de dipéptidos Gln-Gln por Lys-Lys y/o el reemplazó de dipéptidos Asp-Asp por Ala-Ala.

Se ha producido una nueva SpA mutante en la que un dipéptido Gln-Gln adicional se muta a Lys-Arg. Se identificó este dipéptido basándose en las predicciones y análisis de bioinformática de un sitio adicional implicado en la unión a Ig. En particular, se planteaba la hipótesis de que los restos 96 y 97 de la SEQ ID NO: 43 estuvieran implicados en la unión a Ig. Este sitio se pasó por alto en el trabajo anterior a causa de que está fuera del IgBD conservado y no es parte de las estructuras resueltas. El nuevo mutante se denomina 'SpAkR' y tiene la siguiente secuencia aminoacídica, donde se encuadra la sustitución QQ/KR adicional con respecto al mutante 'SpAkkAA' previo:

```

MAQHDEAKKNAFYQVLNMPNLNADQRNGFIQSLKAAPSQSANVLGEAQKLNDSQAPKADA[KR]NNF
NKDKKSAFYEILNMPNLNEAQRNGFIQSLKAAPSQSTNVLGAEAKKLNESQAPKADNNFNKEKKNA
FYEILNMPNLNEEQRNGFIQSLKAAPSQSANLLSEAKKLNESQAPKADNKFNKEKKNAFYEILHL
PNLNEEQRNGFIQSLKAAPSQSANLLAEAKKLNDQAQPKADNKFNKEKKNAFYEILHLPNLTEEQ
RNGFIQSLKAAPSVSKEILAEAKKLNDQAQPK (SEQ ID NO: 48)

```

Se ha confirmado que el mutante SpAkR tiene afinidad reducida por las inmunoglobulinas con respecto a los mutantes conocidos, mientras se conserva la inmunogenia.

El análisis de CDB y DC mostraron que la introducción del mutante KR no afectó materialmente a la estructura de SpA. Los espectros de DC de SpAkkAA y SpAKR fueron idénticos. T_m1 y T_m2 del análisis de CDB fueron como sigue. T_m1 : SpAkkAA 48,9 °C; SpAKR 51,1 °C. T_m2 : SpAkkAA 68,1 °C; SpAKR 68,0 °C.

Se sometió a prueba la afinidad de SpA natural y de los mutantes SpAkkAA y SpAkR, para IgG, IgA e IgM humanas usando resonancia de plasmón superficial. Se inmovilizaron las proteínas en un chip de sensor y se usaron IgG, IgA e IgM humanas como analitos. Ambos mutantes presentaron una capacidad de unión enormemente reducida en comparación con la natural, pero mientras que SpAkkAA mostró unión residual a IgG e IgM, no se observaron interacciones detectables con cualquier inmunoglobulina con SpAkR. Las actividades de unión residual de SpAkkAA hacia IgG e IgM fueron muy bajas (11-12 veces más bajas que la natural), pero reproducibles y dependientes de la concentración.

Se evaluó la supervivencia de *S. aureus* en presencia de SpA (natural, SpAkkAA y SpAkR) a través del ensayo de supervivencia de sangre entera (WBA). Se incubó 1 ml de sangre entera de donantes sanos, complementada con 50 mg/l de anticoagulante lepirudina (10 µl/ml de sangre), con 0,15 µM de SpA o con PBS, durante 15 min a 37 °C, antes de añadir aproximadamente $2,5 \times 10^5$ de UFC de LAC USA300 de *S. aureus* (DO₆₀₀, 0,4) diluida en BHI. Se sembraron en una placa alícuotas de este cultivo sobre BHI-agar para determinar las UFC de entrada. Después de la incubación a 37 °C durante 2 h con agitación (180 rpm), se lisaron los neutrófilos en PBS-saponina al 0,5 % durante 3 min en hielo. Se determinó el número de bacterias viables mediante diez diluciones en serie en BHI y se sembraron en una placa sobre placas de agar nutritivo. Se contaron las colonias después de la incubación de las placas a 37 °C durante 18 h. El control fue la muestra de sangre preincubada con PBS. Se calculó la supervivencia relativa basada en las UFC de entrada en comparación con las UFC posincubación. Se realizaron por triplicado los experimentos; hubo poca variación entre los experimentos.

En el WBA, la supervivencia relativa de *S aureus* en sangre entera humana fue considerablemente más baja cuando se incubó con SpAKR que con la SpA natural ($p < 0,001$, Mann-Whitney) o con SpAkkAA ($p < 0,05$). La incubación con SpA-natural dio como resultado una supervivencia de *S aureus* incrementada en comparación con el control ($p < 0,001$), mientras que la supervivencia en el WBA incubado con SpAkkAA fue comparable al control. La incubación con SpAkR redujo la supervivencia a aproximadamente la mitad de la del control.

Se descubrió que SpAkkAA o SpAkR formulados con adyuvante de hidróxido de aluminio fueron débilmente inmunogénicos por sí solos en ratones, pero la inclusión del agonista de TLR7 adsorbido 'K1' incrementó significativamente los títulos de anticuerpos. A causa de que el mecanismo de acción asociado con la inmunización frente a SpA parece estar motivado principalmente por anticuerpos, esto es una mejora importante.

10 **Vacunas de *S. aureus***

Se sometieron a prueba el dominio E de SpAkR, SpAkkAA, SpAkR solo y el dominio E de SpAkR unido a HlaH35L en el modelo de absceso renal, adyuvados con hidróxido de aluminio (Al-H) a 2 mg/ml (sal total). Cada antígeno estuvo presente en 10 µg en una dosis de 100 µl para inyección intramuscular.

15 Se inmunizaron por vía intramuscular (IM) ratones de cuatro o cinco semanas de edad (DC1) con inyecciones de primovacunación-refuerzo con un intervalo de 14 días. Los ratones de control recibieron cantidades iguales de adyuvantes solos. Se recogió suero de los ratones tanto durante la pre- como la posvacunación para documentar los títulos de anticuerpos en suero con respecto a cada componente de proteína en la vacuna de combinación. Se midieron estos títulos mediante tecnología Luminex usando los antígenos de vacuna recombinantes conjugados con microesferas.

20 *Modelo de absceso renal:* Se expusieron los animales inmunizados en el día 24 mediante inyección intravenosa de una dosis subletal de la cepa Newman de *S. aureus* (~ 2-6 x10⁷ UFC). En el día 28, se sacrificaron los ratones y los riñones se extrajeron y homogeneizaron en 2 ml de PBS y se sembraron en una placa por duplicado en medio de agar para la determinación de las unidades formadoras de colonias (UFC).

25 Se obtuvo una reducción comparable en log₁₀ de UFC/ml (alrededor de una reducción de 1 en escala logarítmica) en la vacunación con el dominio E de SpAKR, SpAkkAA, SpAkR solo y el dominio E de SpAkR unido a HlaH35L, en comparación con el adyuvante solo.

Vacunas de *S. aureus* de combinación

30 Se prepararon una vacuna 5-valente y 6-valente. La vacuna 5-valente incluyó antígenos que consistían en las SEQ ID NO: 7, 8, 27 y 32 (FhuD2, Sta011, Hla-H35L y EsxAB); la vacuna 6-valente también incluyó el mutante SpAkR. Las vacunas se adyuvaron con: (i) hidróxido de aluminio, Al-H; (ii) Al-H + agonista de TLR7 adsorbido K1; o (iii) la emulsión de aceite en agua MF59. Se usó Al-H en 2 mg/ml (sal total), K1 estuvo presente en 50 µg por dosis, y se mezcló MF59 con los antígenos en una proporción en volumen de 1:1. Cada antígeno estuvo presente en 10 µg en una dosis de 100 µl para inyección intramuscular.

35 Se inmunizaron ratones de cuatro o cinco semanas de edad (DC1) con inyecciones de primovacunación-refuerzo con un intervalo de 14 días. Los ratones de control recibieron cantidades iguales de adyuvantes solos. Se recogió suero de los ratones tanto durante la pre- como posvacunación para documentar los títulos de anticuerpos en suero con respecto a cada componente de proteína en la vacuna de combinación. Se midieron estos títulos mediante tecnología Luminex usando los antígenos de vacuna recombinantes conjugados con microesferas.

40 *Modelo de absceso renal:* Se expusieron los animales inmunizados en el día 24 mediante inyección intravenosa de una dosis subletal de *S. aureus* (~ 2-6 x10⁷ UFC, donde el inóculo específico varió dependiendo de la cepa de exposición). En el día 28, se sacrificaron los ratones y los riñones se extrajeron y homogeneizaron en 2 ml de PBS y se sembraron en una placa por duplicado en medio de agar para la determinación de las unidades formadoras de colonias (UFC). También se procesaron los riñones para la histopatología.

45 *Modelo de peritonitis:* Por separado, se expusieron los animales inmunizados en día 24 mediante inyección intraperitoneal de una dosis letal de *S. aureus*. (~ 2-5x10⁸ UFC) y entonces se supervisaron diariamente durante 14 días.

50 *Modelo de infección de piel:* Se inocularon los ratones inmunizados mediante inyección subcutánea en el flanco derecho afeitado con 2x10⁷ UFC de cepa LAC de *S. aureus* (clon USA300, que es uno de los clones más importantes en todo el mundo y está altamente asociado con las infecciones cutáneas extrahospitalarias). Se supervisaron la formación de masas y abscesos (tamaño y dermonecrosis) en intervalos de 24 horas durante el transcurso de 7 días. Se determinó el tamaño de un absceso y lesión dermonecrotica suprayacente asociada usando software de análisis de imágenes. Se recogieron la piel de ratón y los abscesos en el día 7 posinoculación para la enumeración de UFC. Se usó este modelo únicamente con el adyuvante Al-H/K1.

Los resultados fueron como sigue:

	Adyuvante solo			5-valente			6-valente		
	AI-H	AI-H/K1	MF59	AI-H	AI-H/K1	MF59	AI-H	AI-H/K1	MF59
<i>Absceso renal</i> — reducción en escala logarítmica en la mediana de ufc/ml									
A	-	-	-	1,5**	1,3**	0,93**	1,57**	2,31**	1,07**
<i>Peritonitis</i> — % de supervivencia									
B	29	42	33	67*	88**	67*	83**	92**	71**
<i>Infección de piel</i> — reducción en escala logarítmica en la mediana de ufc/ml									
C	N/A	-	-	-	3,35	-	-	4,39	-
* p ≤ 0,05 en comparación con el control; ** p < 0,01 en comparación con el control. Estos resultados demuestran que SpAkR mutante mejora el producto de Combo-1 5-valente en ambos modelos. Además, se observaron los mejores resultados con el adyuvante AI-H/K1. Sorprendentemente, en los resultados en el modelo de absceso renal, la vacuna 6-valente con AI-H/K1 se aproximó a la esterilidad.									

- 5 En el modelo de peritonitis, la vacuna 6-valente con AI-H/K1 fue estadísticamente superior en comparación con el control negativo (véase la tabla anterior) y también en comparación con la vacuna con AI-H 5-valente. En el modelo de absceso, la vacuna 6-valente con AI-H/K1 fue estadísticamente superior en comparación con el control negativo (véase la tabla anterior), con respecto a la vacuna con AI-H/K1 5-valente, y con respecto a la vacuna con AI-H/K1 5-valente, mostrando, de esta manera, que la contribución de la SpA mutante va más allá de la potenciación que se debía solamente al agonista K1.
- 10 En el modelo de infección de piel, ambas vacunas 5-valente y 6-valente reducen significativamente la formación de abscesos y recuentos de UFC (véase la tabla anterior). La dermonecrosis estuvo ausente en los ratones vacunados, mientras que se observó en todos los ratones que recibieron adyuvante solo ('N/A' en la tabla). Además, se mejoró significativamente la reducción de UFC por la inclusión de SpAkR en la vacuna, y se observaron menos ratones con abscesos distinguibles a un nivel macroscópico (un 71 % frente a un 88 %).
- 15 Los títulos de anti-SpA también se compararon para los tres adyuvantes. La mediana de títulos que usaron AI-H o MF59 no fue significativamente diferente, pero el título que usó AI-H/K1 fue significativamente más alto que con AI-H solo ($p = 0,0047$, prueba de Mann-Whitney) y que con MF59 ($p = 0,01$). De esta manera, la formulación que dio mejores resultados en los ensayos funcionales fue la que indujo los títulos de anticuerpos anti-SpA más altos, en línea con la hipótesis de que la actividad de la SpA como un antígeno de vacuna dependa de anticuerpos, que se pueden unir a ella e inhibir su actividad de evasión inmunitaria.

20 Referencias

- [1] Sheridan (2009) *Nature Biotechnology* 27:499-501.
- [2] Kuklin y col. (2006) *Infect Immun*. 74(4):2215-23.
- [3] Fowler y col. (2013) *JAMA* 309(13):1368-78.
- [4] Documento WO2010/119343.
- 25 [5] Documento WO2013/030378.
- [6] Sjodahl (1977) *J. Biochem.* 73:343-351.
- [7] Uhlen y col. (1984) *J. Biol. Chem.* 259:1695-1702 y 13628 (Corr.).
- [8] Documento WO2007/071692.
- [9] Kim y col. (2010) *J Exp Med* 207(9):1863-70.
- 30 [10] Documento WO2013/092985.
- [11] Documento WO2014/033190.
- [12] Documento WO2014/033191.
- [13] Documento WO2014/033192.
- [14] Documento WO2014/033193.
- 35 [15] Sebulsy y Heinrichs (2001) *J Bacteriol* 183:4994-5000.
- [16] Sebulsy y col. (2003) *J Biol Chem* 278:49890-900.
- [17] Rable y Wardenburg (2009) *Infect Immun* 77:2712-8.
- [18] Documento WO2007/145689.

- [19] Documento WO2009/029831.
 [20] Documento WO2006/110603.
 [21] Stranger-Jones y col. (2006) *PNAS USA* 103:16942-7.
 [22] Wardenburg y col. (2007) *Infect Immun* 75:1040-4.
 5 [23] Prabhakara y col. (2011) *J Immunol* 186:155-29
 [24] Kuroda y col. (2001) *Lancet* 357:1225-1240.
 [25] Needleman y Wunsch (1970) *J. Mol. Biol.* 48, 443-453.
 [26] Rice y col. (2000) *Trends Genet* 16:276-277.
 [27] Patente de EE. UU. 6355271.
 10 [28] Documento WO00/23105.
 [29] *Vaccine Design...* (1995) eds. Powell & Newman. ISBN: 030644867X. Plenum.
 [30] Documento WO90/14837.
 [31] Garçon y col. (2012) *Expert Rev Vaccines* 11:349-66.
 [32] Documento WO90/14837.
 15 [33] Podda y Del Giudice (2003) *Expert Rev Vaccines* 2:197-203.
 [34] Podda (2001) *Vaccine* 19: 2673-2680.
 [35] *Vaccine Design: The Subunit and Adjuvant Approach* (eds. Powell & Newman) Plenum Press 1995 (ISBN 0-306-44867-X).
 [36] *Vaccine Adjuvants: Preparation Methods and Research Protocols* (volumen 42 de *Methods in Molecular Medicine* series). ISBN: 1-59259-083-7. Ed. O'Hagan.
 20 [37] Documento WO2008/043774.
 [38] Allison y Byars (1992) *Res Immunol* 143:519-25.
 [39] Hariharan y col. (1995) *Cancer Res* 55:3486-9.
 [40] Documento US-2007/014805.
 25 [41] Documento US-2007/0191314.
 [42] Suli y col. (2004) *Vaccine* 22(25-26):3464-9.
 [43] Documento WO95/11700.
 [44] Patente de EE. UU. 6,080,725.
 [45] Documento WO2005/097181.
 30 [46] Documento WO2006/113373.
 [47] Documento US 5,057,540.
 [48] Documento WO96/33739.
 [49] Documento EP-A-0109942.
 [50] Documento WO96/11711.
 35 [51] Documento WO00/07621.
 [52] Barr y col. (1998) *Advanced Drug Delivery Reviews* 32:247-271.
 [53] Sjolanderet y col. (1998) *Advanced Drug Delivery Reviews* 32:321-338.
 [54] Documento EP-A-0689454.
 [55] Meraldi y col. (2003) *Vaccine* 21:2485-2491.
 40 [56] Pajak y col. (2003) *Vaccine* 21:836-842.
 [57] Kandimalla y col. (2003) *Nucleic Acids Research* 31:2393-2400.
 [58] Documento WO02/26757.
 [59] Documento WO99/62923.
 [60] Krieg (2003) *Nature Medicine* 9:831-835.
 45 [61] McCluskie y col. (2002) *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 32:179-185.
 [62] Documento WO98/40100.
 [63] Documento US 6,207,646.
 [64] Documento US 6,239,116.
 [65] Documento US 6,429,199.
 50 [66] Kandimalla y col. (2003) *Biochemical Society Transactions* 31 (part 3):654-658.
 [67] Blackwell y col. (2003) *J Immunol* 170:4061-4068.
 [68] Krieg (2002) *Trends Immunol* 23:64-65.
 [69] Documento WO01/95935.
 [70] Kandimalla y col. (2003) *BBRC* 306:948-953.
 55 [71] Bhagat y col. (2003) *BBRC* 300:853-861.
 [72] Documento WO03/035836.
 [73] Documento WO01/22972.
 [74] Schellack y col. (2006) *Vaccine* 24:5461-72.
 [75] Kamath y col. (2008) *Eur J Immunol* 38:1247-56.
 60 [76] [Riedl y col. (2008) *Vaccine* 26:3461-8.

- [77] Documento WO95/17211.
 [78] Documento WO98/42375.
 [79] Beignon y col. (2002) *Infect Immun* 70:3012-3019.
 [80] Pizza y col. (2001) *Vaccine* 19:2534-2541.
 5 [81] Pizza y col. (2000) *Int J Med Microbiol* 290:455-461.
 [82] Scharton-Kersten y col. (2000) *Infect Immun* 68:5306-5313.
 [83] Ryan y col. (1999) *Infect Immun* 67:6270-6280.
 [84] Partidos y col. (1999) *Immunol Lett* 67:209-216.
 [85] Peppoloni y col. (2003) *Expert Rev Vaccines* 2:285-293.
 10 [86] Pine y col. (2002) *J Control Release* 85:263-270.
 [87] Tebbey y col. (2000) *Vaccine* 18:2723-34.
 [88] Domenighini y col. (1995) *Mol Microbiol* 15:1165-1167.
 [89] Rosenberg y col. (2010) *J Immunol* 184:136.20.
 [90] Documento US-4,666,886.
 15 [91] Documento WO2009/118296.
 [92] Documento WO2008/005555.
 [93] Documento WO2009/111337.
 [94] Documento WO2009/067081.
 [95] Documento WO2007/040840.
 20 [96] Documento WO2010/014913.
 [97] Documento WO2012/031140.
 [98] Documento WO2013/132041.
 [99] Documento US 4,680,338.
 [100] Documento US 4,988,815.
 25 [101] Documento WO92/15582.
 [102] Stanley (2002) *Clin Exp Dermatol* 27:571-577.
 [103] Wu y col. (2004) *Antiviral Res.* 64(2):79-83.
 [104] Vasilakos y col. (2000) *Cell Immunol.* 204(1):64-74.
 30 [105] Patentes de EE. UU. 4689338, 4929624, 5238944, 5266575, 5268376, 5346905, 5352784, 5389640, 5395937, 5482936, 5494916, 5525612, 6083505, 6440992, 6627640, 6656938, 6660735, 6660747, 6664260, 6664264, 6664265, 6667312, 6670372, 6677347, 6677348, 6677349, 6683088, 6703402, 6743920, 6800624, 6809203, 6888000 y 6924293.
 [106] Jones (2003) *Curr Opin Investig Drugs* 4:214-218.
 [107] Steinhagen y col. (2011) *Vaccine* 29:3341-55.
 35 [108] Myers y col. (1990) páginas 145-156 de *Cellular and molecular aspects of endotoxin reactions*.
 [109] Ulrich (2000), capítulo 16 (páginas 273-282) de la referencia **¡Error! Marcador no definido..**
 [110] Johnson y col. (1999) *J Med Chem* 42:4640-9.
 [111] Baldrick y col. (2002) *Regulatory Toxicol Pharmacol* 35:398-413.
 [112] Coler y col. (2011) *PLoS ONE* 6(1):e16333.
 40 [113] Johnson y col. (1999) *Bioorg Med Chem Lett* 9:2273-2278.
 [114] Evans y col. (2003) *Expert Rev Vaccines* 2:219-229.
 [115] Bazin y col. (2006) *Tetrahedron Lett* 47:2087-92.
 [116] Wong y col. (2003) *J Clin Pharmacol* 43(7):735-42.
 [117] Documento US2005/0215517.
 45 [118] Documento WO03/011223.
 [119] Documento WO2011/027222.
 [120] Documento WO2013/131985
 [121] Gennaro (2000) *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*. 20th edition, ISBN: 0683306472.
 [122] *Methods In Enzymology* (S. Colowick and N. Kaplan, eds., Academic Press, Inc.)
 50 [123] *Handbook of Experimental Immunology*, vols. I-IV (D.M. Weir and C.C. Blackwell, eds, 1986, Blackwell Scientific Publications)
 [124] Sambrook y col. (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3.ª edición (Cold Spring Harbor Laboratory Press).
 [125] *Handbook of Surface and Colloidal Chemistry* (Birdi, K.S. ed., CRC Press, 1997)
 55 [126] Ausubel y col. (eds) (2002) *Short protocols in molecular biology*, 5.º edición (protocolos actuales).
 [127] *Molecular Biology Techniques: An Intensive Laboratory Course*, (Ream y col., eds., 1998, Academic Press)
 [128] *PCR (Introduction to Biotechniques Series)*, 2.ª ed. (Newton & Graham eds., 1997, Springer Verlag)
 [129] Geysen y col. (1984) *PNAS USA* 81:3998-4002.
 [130] Carter (1994) *Methods Mol Biol* 36:207-23.
 60 [131] Jameson, BA y col. 1988, *CABIOS* 4(1):181-186.

- [132] Raddrizzani y Hammer (2000) *Brief Bioinform* 1(2):179-89.
 [133] Bublil y col. (2007) *Proteins* 68(1):294-304.
 [134] De Lalla y col. (1999) *J. Immunol.* 163:1725-29.
 [135] Kwok y col. (2001) *Trends Immunol* 22:583-88.
 5 [136] Brusic y col. (1998) *Bioinformatics* 14(2):121-30
 [137] Meister y col. (1995) *Vaccine* 13(6):581-91.
 [138] Roberts y col. (1996) *AIDS Res Hum Retroviruses* 12(7):593-610.
 [139] Maksyutov y Zagrebelnaya (1993) *Comput Appl Biosci* 9(3):291-7.
 10 [140] Feller y de la Cruz (1991) *Nature* 349(6311):720-1.
 [141] Hopp (1993) *Peptide Research* 6:183-190.
 [142] Welling y col. (1985) *FEBS Lett.* 188:215-218.
 [143] Davenport y col. (1995) *Immunogenetics* 42:392-297.
 [144] Tsurui y Takahashi (2007) *J Pharmacol Sci.* 105(4):299-316.
 [145] Tong y col. (2007) *Brief Bioinform.* 8(2):96-108.
 15 [146] Schirle y col. (2001) *J Immunol Methods.* 257(1-2):1-16.
 [147] Chen y col. (2007) *Amino Acids* 33(3):423-8.
 [148] *Current Protocols in Molecular Biology* (F.M. Ausubel y col., eds., 1987) Suplemento 30
 [149] Smith y Waterman (1981) *Adv. Appl. Math.* 2: 482-489.

20 **Listado de secuencias**

SEQ ID NO: 1 (EsxA)

MAMIKMSPEEIRAKSQSYGQGSDDQIRQIILSDLTRAQGEIAANWEGQAFSRFEEQFQQLSPKVEKFAQLLE
 EIKQQLNSTADAVQEQQDQQLSNNFGLQ

SEQ ID NO: 2 (EsxB)

MGGYKGIKADGGKVDQAKQLAAKTAKDIEACQKQQTQQLAEYIEGSDWEGQFANKVKDVLILIMAKFQEELV
 QPMADHQKAIDNLSQNLAKYDTLSIKQGLDRVNP

25 **SEQ ID NO: 3 (FhuD2)**

MKKLLPLIIMLLVLAACGNQGEKNNKAETKSYKMDDGKTVDI PKDPKRIAVVAPTYAGGLKLLGANIVA
 VNQQVDQSKVLKDKFKGVTKIGDGDVEKVAKEKPDLIIVYSTDKDIKKYQKVAPT VVVVDYNKHKYLEQQE
 MLGKIVGKEDKVKAWKKDWEETAKDGKEIKKAI GQDATVSLFDEFDCKLYTYGDNWGRGGEVLYQAFGL
 KMQPEQQKLTAKAGWAEVKQEEIEKYAGDYIVSTSEGKPTPGYESTNMWKNL KATKEGHI VKVDAGTYWY
 NDPYTLDFMRKDLKEKLIKAAK

SEQ ID NO: 4 (Sta011)

MMKRLNKLVLGIIFLFLVISITAGCGIGKEAEVKKSFEKTLSPYPIKNLEDLYDKEGYRDDQFDKNDKGT
 WIINSEMVIQPNNE DMVAKGMVLYMNRNTKT TNGYYVVDVTKDEDEGKPHDNEKRYPVKMVDNKIIP TKE
 IKDEKIKKEIENFKFFVQYGD FKNLKNYKDGDISYNPEVPSYSAKYQLTND DYNVKQLRKRYDIPTSKAP
 KLLLKGSGLKGSVGYKDIEFTFVEKKEENIYFSDSLDYKKS GDV

SEQ ID NO: 5 (Hla)

MKTRIVSSVTTTLLLSIILMNPVANAADSDINIKTGTTD IGSNTTVKTDGLVTDKENGMHKKVFYSFID
 DKNHNKLLVIRTKGTIAGQYRVYSEEGANKSGLAWPSAFKVQLQLPDNEVAQI SDYYPRNSIDTKEYMS
 TLTYGFNGNVTGDDTGKIGGLIGANVSIGHTLKYVQPDFKTI LESPTDKKVGWKVIFNNMVNQNWGPYDR
 DSWNPVYGNQLFMKTRNGSMKAADNFDPNKASSLLSSGFSPDFATVITMDRKASKQQTNI DVIYERVRD
 30 DYQLHWTSTNWKGTNTKDKWIDRSSERYKIDWEKEEMTN

SEQ ID NO: 6 (FhuD2 truncado de manera terminal en el extremo N de la SEQ ID NO: 3)

CGNQGEKNNKAETKSYKMDDGKTVDI PKDPKRIAVVAPTYAGGLKLLGANIVAVNQQVDQSKVLKDKFKG
 VTKIGDGDVEKVAKEKPDLIIVYSTDKDIKKYQKVAPT VVVVDYNKHKYLEQQEMLGKIVGKEDKVKAWKK
 DWEETAKDGKEIKKAI GQDATVSLFDEFDCKLYTYGDNWGRGGEVLYQAFGLKMQPEQQKLTAKAGWAE
 VKQEEIEKYAGDYIVSTSEGKPTPGYESTNMWKNL KATKEGHI VKVDAGTYWYNDPYTLDFMRKDLKEKL
 IKAAK

SEQ ID NO: 7 (Secuencia de FhuD2 de ejemplo)

MASCGNQGEKNNKAETKSYKMDDGKTVDIPKDPKRIAVVAPTYAGGLKKLGANIVAVNQVDQSKVLKDK
 FKGVTKIGDGDVEKVAKEKPDIIIVYSTDKDIKKYQKVAPTVVVDYNKHKYLEQQEMLGKIVGKEDKVK
 WKKDWEETTAKDGKEIKKAIGQDATVSLFDEFDKKLYTYGDNWGRGGEVLYQAFGLKMQPEQQKLTAKAG
 WAEVKQEEIEKYAGDYIVSTSEGKPTPGYESTNMWKNLKATKEGHIKVDAGTYWYNDPYTLDFMRKDLK
 EKLIKAAK

SEQ ID NO: 8 (Secuencia de Sta011 de ejemplo)

MGCGIGKEAEVKKSFEKTLSPYPIKNLEDLYDKEGYRDDQFDKNDKGTWIINSEMVIQPNNEDMVAKGMV
 LYMNRNTKTTNGYYYVDVTKDEDEGKPHDNEKRYPVKMVDNKIIPKEIKDEKIKKEIENFKFFVQYGF
 KNLKNYKGDGDISYNPEVPSYSAKYQLTNDYDYNVKQLRKRYDIPTSKAPKLLKSGSNLKGSSVGYKDIEF
 TFVEKKEENIYFSDSLDYKKSVD

SEQ ID NO: 9 (Secuencia de Sta011 de ejemplo)

MMKRLNKLVLGIIIFLFLVISITAGCGIGKEAEVKKSFEKTLSPYPIKNLEDLYDKEGYRDDQFDKNDKGT
 WIINSEMVIQPNNEDMVAKGMVLYMNRNTKTTNGYYYVDVTKDEDEGKPHDNEKRYPVKMVDNKIIPKEI
 KDEKLLKKEIENFKFFVQYGFKNIKNYKGDGDISYNPEVPSYSAKYQLTNDYDYNVKQLRKRYDIPTSKAP
 KLLKSGSNLKGSSVGYKDIEFTFVEKKEENIYFSDSLDYKKSVD

5

SEQ ID NO: 10 (Secuencia de Sta011 de ejemplo)

MMKRLNKLVLGIIIFLFLVISITAGCGIGKEAEVKKSFEKTLSPYPIKNLEDLYDKEGYRDDQFDKNDKGT
 WIINSEMVIQPNNEDMVAKGMVLYMNRNTKTTNGYYYVDVTKDEDEGKPHDNEKRYPVKMVDNKIIPKEI
 KDEKVKKEIENFKFFVQYGFKNIKNYKGDGDISYNPEVPSYSAKYQLTNDYDYNVKQLRKRYDIPTSKAP
 KLLKSGSNLKGSSVGYKDIEFTFVEKKEENIYFSDSLDYKKSVD

SEQ ID NO: 11 (Secuencia de Sta011 de ejemplo)

MMKRLNKLVLGIIIFLFLVISITAGCGIGKEAEVKKSFEKTLSPYPIKNLEDLYDKEGYRDDQFDKNDKGT
 WIINSEMVIQPNNEDMVAKGMVLYMNRNTKTTNGYYYVDVTKDEDEGKPHDNEKRYPVKMVDNKIIPKEI
 KDEKLLKKEIENFKFFVQYGFKNVKNYKGDGDISYNPEVPSYSAKYQLTNDYDYNVKQLRKRYDIPTSKAP
 KLLKSGSNLKGSSVGYKDIEFTFVEKKEENIYFSDSLDYKKSVD

10

SEQ ID NO: 12 (Hla truncado de manera terminal en el extremo N de SEQ ID NO: 5)

ADSDINIKTGTTDIGSNTTVKTDGLVTDYDKENGMHKKVFYSFIDDKNHNKLLVIRTKGTIAGQYRVYSE
 EGANKSGLAWPSAFKVQLQLPDNEVAQISDYYPNRSIDTKEYMSTLTYGFGNVTGDDTGKIGGLIGANV
 SIGHTLKYVQPDFKTILESPTDKKVGWVKVIFNNMVNQNWGPYDRDSWNPVYGNQLFMKTRNGSMKAADNF
 LDPNKASSLLSSGFSPDFATVITMDRKASKQQTNIIDVIYERVRDDYQLHWTSTNWKGTNTKDKWIDRSSE
 RYKIDWEKEEMTN

SEQ ID NO: 13 (Hla-H35L maduro)

ADSDINIKTGTTDIGSNTTVKTDGLVTDYDKENGM~~L~~KKVFYSFIDDKNHNKLLVIRTKGTIAGQYRVYSE
 EGANKSGLAWPSAFKVQLQLPDNEVAQISDYYPNRSIDTKEYMSTLTYGFGNVTGDDTGKIGGLIGANV
 SIGHTLKYVQPDFKTILESPTDKKVGWVKVIFNNMVNQNWGPYDRDSWNPVYGNQLFMKTRNGSMKAADNF
 LDPNKASSLLSSGFSPDFATVITMDRKASKQQTNIIDVIYERVRDDYQLHWTSTNWKGTNTKDKWIDRSSE
 RYKIDWEKEEMTN

SEQ ID NO: 14 (tetrámero)

PSGS

15

SEQ ID NO: 15 (Hla-H35L con sustitución PSGS)

ADSDINIKTGTTDIGSNTTVKTDGLVTDYDKENGM~~L~~KKVFYSFIDDKNHNKLLVIRTKGTIAGQYRVYSE
 EGANKSGLAWPSAFKVQLQLPDNEVAQISDYYPNRSIDT~~P~~SGSVQPDFKTILESPTDKKVGWVKVIFNNMV
 NQNWGPYDRDSWNPVYGNQLFMKTRNGSMKAADNF~~L~~DPNKASSLLSSGFSPDFATVITMDRKASKQQTNI
 DVIYERVRDDYQLHWTSTNWKGTNTKDKWIDRSSE~~R~~YKIDWEKEEMTN

SEQ ID NO: 16 (Hla con sustitución PSGS)

ADSDINIKTGTTDIGSNTTVKTDGLVITYDKENGMHKKVFYSFIDDKNHNKLLVIRTKGTIAGQYRVYSE
EGANKSGLAWPSAFKVQLQLPDNEVAQISDYYPNRSIDTPSGSVQPDFKTILESPDCKVGVKVI FNNMV
NQNWGPYDRDSWNPVYGNQLFMKTRNGSMKAADNFDPNKASSLLSSGFSPDFATVITMDRKASKQQTNI
DVIYERVRDDYQLHWTSTNWKGTNTKDKWIDRSSERYKIDWEKEEMTN

SEQ ID NO: 17 (Hla con mutación Y101)

ADSDINIKTGTTDIGSNTTVKTDGLVITYDKENGMHKKVFYSFIDDKNHNKLLVIRTKGTIAGQYRVYSE
EGANKSGLAWPSAFKVQLQLPDNEVAQISDLYPRNSIDTKEYMSTLTYGFNGNVTGDDTGKIGGLIGANV
SIGHTLKIVYVQPDFKTILESPDCKVGVKVI FNNMVNQNWGPYDRDSWNPVYGNQLFMKTRNGSMKAADNF
LDPNKASSLLSSGFSPDFATVITMDRKASKQQTNI DVIYERVRDDYQLHWTSTNWKGTNTKDKWIDRSSE
RYKIDWEKEEMTN

SEQ ID NO: 18 (Hla con mutación D152)

ADSDINIKTGTTDIGSNTTVKTDGLVITYDKENGMHKKVFYSFIDDKNHNKLLVIRTKGTIAGQYRVYSE
EGANKSGLAWPSAFKVQLQLPDNEVAQISDYYPNRSIDTKEYMSTLTYGFNGNVTGDDTGKIGGLIGANV
SIGHTLKIVYVQPLFKTILESPDCKVGVKVI FNNMVNQNWGPYDRDSWNPVYGNQLFMKTRNGSMKAADNF
LDPNKASSLLSSGFSPDFATVITMDRKASKQQTNI DVIYERVRDDYQLHWTSTNWKGTNTKDKWIDRSSE
RYKIDWEKEEMTN

5

SEQ ID NO: 19 (Hla con mutaciones H35 y Y101)

ADSDINIKTGTTDIGSNTTVKTDGLVITYDKENGMHKKVFYSFIDDKNHNKLLVIRTKGTIAGQYRVYSE
EGANKSGLAWPSAFKVQLQLPDNEVAQISDLYPRNSIDTKEYMSTLTYGFNGNVTGDDTGKIGGLIGANV
SIGHTLKIVYVQPDFKTILESPDCKVGVKVI FNNMVNQNWGPYDRDSWNPVYGNQLFMKTRNGSMKAADNF
LDPNKASSLLSSGFSPDFATVITMDRKASKQQTNI DVIYERVRDDYQLHWTSTNWKGTNTKDKWIDRSSE
RYKIDWEKEEMTN

SEQ ID NO: 20 (Hla con mutaciones H53 y D152)

ADSDINIKTGTTDIGSNTTVKTDGLVITYDKENGMHKKVFYSFIDDKNHNKLLVIRTKGTIAGQYRVYSE
EGANKSGLAWPSAFKVQLQLPDNEVAQISDYYPNRSIDTKEYMSTLTYGFNGNVTGDDTGKIGGLIGANV
SIGHTLKIVYVQPLFKTILESPDCKVGVKVI FNNMVNQNWGPYDRDSWNPVYGNQLFMKTRNGSMKAADNF
LDPNKASSLLSSGFSPDFATVITMDRKASKQQTNI DVIYERVRDDYQLHWTSTNWKGTNTKDKWIDRSSE
RYKIDWEKEEMTN

10

SEQ ID NO: 21 (Fragmento de Hla)

ADSDINIKTGTTDIGSNTTVKTDGLVITYDKENGMHKKVFYSFIDDKNHNK

SEQ ID NO: 22 (Fragmento de Hla)

ADSDINIKTGTTDIGSNTTVKTDGLVITYDKENGMHKKVFYSFIDDKNHNKLLVIRTKGTIAG

SEQ ID NO: 23 (Fragmento de Hla)

15

ADSDINIKTGTTDIGSNTTVKTDGLVITYDKENGMHKKVFYSFIDDKNHNKLL

SEQ ID NO: 24 (Fragmento de Hla-H35L)

ADSDINIKTGTTDIGSNTTVKTDGLVITYDKENGMHKKVFYSFIDDKNHNK

SEQ ID NO: 25 (Fragmento de Hla-H35L)

ADSDINIKTGTTDIGSNTTVKTDGLVITYDKENGMHKKVFYSFIDDKNHNKLLVIRTKGTIAG

20

SEQ ID NO: 26 (Fragmento de Hla-H35L)

ADSDINIKTGTTDIGSNTTVKTDGLVITYDKENGMHKKVFYSFIDDKNHNKLL

SEQ ID NO: 27 (Secuencia de HLA útil con mutación H35L)

MASADSDINIKTGTTDIGSNTTVKTGDLVITYDKENGMLKKVFYSFIDDKNHNKLLVIRTGKTIAGQYRV
YSEEGANKSGLAWPSAFKVQLQLPDNEVAQISDYYPN¹SIDTKEYMSTLTYGFNGNVTGDDTGKIGGLIG
ANVSIGHTLK²YVQPDFKTILESPTDKKVGW³KVIFNNMVNQN⁴WGPYDRDSWNPVYGNQLFMKTRNGSMKAA
DNFLDPNKASSLLSSGFSPDFATVITMDRKASKQ⁵TNIDVIYERVRDDYQLHWTSTNWKGTNTKDKWIDR
SSERYKIDWEKEEMTN

SEQ ID NO: 28 (Ejemplo de EsxAB)

MAMIKMSPEEIRAKS⁶QSYGQGS⁷DQIRQILSD⁸LTRAQGEIAANWEGQAFSRFEEQFQQLSPKVEKFAQLLE
EIKQQLNSTADAVQE⁹QDQQLSNNFGLQASGGGSMGGYKGIKADGGKVDQAKQLAAKTAKDIEACQKQTQQ
LAEYIEGSDWEGQFANKVKDVLLIMAKFQEELVQPMADHQKAI¹⁰DNLSQNLAKYDTLSIKQGLDRVNP

SEQ ID NO: 29 (Ejemplo de EsxBA)

MGGYKGIKADGGKVDQAKQLAAKTAKDIEACQKQTQQ¹¹LAEYIEGSDWEGQFANKVKDVLLIMAKFQEELV
QPMADHQKAI¹²DNLSQNLAKYDTLSIKQGLDRVNPASGGGSMAMIKMSPEEIRAKS¹³QSYGQGS¹⁴DQIRQILS
DLTRAQGEIAANWEGQAFSRFEEQFQQLSPKVEKFAQLLEEIKQQLNSTADAVQE¹⁵QDQQLSNNFGLQ

5

SEQ ID NO: 30 (engarce)

ASGGGS

SEQ ID NO: 31 (Ejemplo de EsxAB)

AMIKMSPEEIRAKS¹⁶QSYGQGS¹⁷DQIRQILSD¹⁸LTRAQGEIAANWEGQAFSRFEEQFQQLSPKVEKFAQLLEE
IKQQLNSTADAVQE¹⁹QDQQLSNNFGLQASGGGSGGYKGIKADGGKVDQAKQLAAKTAKDIEACQKQTQQ²⁰LA
EYIEGSDWEGQFANKVKDVLLIMAKFQEELVQPMADHQKAI²¹DNLSQNLAKYDTLSIKQGLDRVNP

10

SEQ ID NO: 32 (Ejemplo de EsxAB)

MAMIKMSPEEIRAKS²²QSYGQGS²³DQIRQILSD²⁴LTRAQGEIAANWEGQAFSRFEEQFQQLSPKVEKFAQLLE
EIKQQLNSTADAVQE²⁵QDQQLSNNFGLQASGGGSGGYKGIKADGGKVDQAKQLAAKTAKDIEACQKQTQQ²⁶L
AEYIEGSDWEGQFANKVKDVLLIMAKFQEELVQPMADHQKAI²⁷DNLSQNLAKYDTLSIKQGLDRVNP

SEQ ID NO: 33 (SEQ ID NO: 4 truncada de manera terminal en el extremo N)

GCGIGKEAEVKK²⁸SFEKTL²⁹SMYPIKNLEDLYDKEGYRDDQFDKNDKGTWIIINSEMVIQPN³⁰NEDMVAKGMVL
YMN³¹RNTKTTNG³²Y³³YVDVTKDEDEGKPHDNEKRY³⁴PVKMVDNKIIP³⁵TKEIKDEKIKKEIENFKFFVQY³⁶GDFK
NLKNYK³⁷GD³⁸ISYNPEVPSYSAKYQLT³⁹NDDYNVQ⁴⁰LRKRYDIPTSKAPKLLLK⁴¹GSGNLK⁴²SSVGYKDIEFT
FVEKKEENIYFSDSLDYK⁴³SGDV

SEQ ID NO: 34 (FhuD2)

GNQGEKNNKAET⁴⁴KS⁴⁵YK⁴⁶MDDGKTVDIPKDPKRI⁴⁷AVVAPT⁴⁸YAGGLK⁴⁹KLGANIVAVNQ⁵⁰VDQSKVLKDKFKGV
TKIGDGDVEKVAKEK⁵¹PDLII⁵²VYSTDKDIK⁵³YQKVAPT⁵⁴VVDYNKHKYLEQ⁵⁵QEMLGKIVGKEDKVKAWK⁵⁶DD
WEETTAKDGKEIKKAI⁵⁷GQDATVSLFDEF⁵⁸DKLYTYGDNWGRGGEVLYQAFGLKM⁵⁹QPEQQ⁶⁰KLTA⁶¹KAGWAEV
KQEEIEKYAGDYIV⁶²STSEGKPTPGYESTNMWKNL⁶³KATKEGHI⁶⁴VKVDAGTYWYNDPY⁶⁵TLD⁶⁶FM⁶⁷RKDLKEKLI
KAAK

15

SEQ ID NO: 35 (Secuencia de EsxB libre de Cys)

GGYKGIKADGGKVDQAKQLAAKTAKDIEA⁶⁸XQKQTQQ⁶⁹LAEYIEGSDWEGQFANKVKDVLLIMAKFQEELVQ
PMADHQKAI⁷⁰DNLSQNLAKYDTLSIKQGLDRVNP

SEQ ID NO: 36 (Versión libre de Cys de SEQ ID NO: 4 de Sta011)

GIGKEAEVKK⁷¹SFEKTL⁷²SMYPIKNLEDLYDKEGYRDDQFDKNDKGTWIIINSEMVIQPN⁷³NEDMVAKGMVLYM
NRNTKTTNG⁷⁴Y⁷⁵YVDVTKDEDEGKPHDNEKRY⁷⁶PVKMVDNKIIP⁷⁷TKEIKDEKIKKEIENFKFFVQY⁷⁸GDFKNL
KNYK⁷⁹GD⁸⁰ISYNPEVPSYSAKYQLT⁸¹NDDYNVQ⁸²LRKRYDIPTSKAPKLLLK⁸³GSGNLK⁸⁴SSVGYKDIEFT⁸⁵FV
EKKEENIYFSDSLDYK⁸⁶SGDV

20

SEQ ID NO: 37 (Versión libre de Cys de SEQ ID NO: 7 de FhuD2)

MASGNQGEKNNKAETKSYKMDDGKTVDI PKDPKRIAVVAPTYAGGLKKLGANIVAVNQVDQSKVLKDKF
KGVTKIGDGDVEKVAKEKPDLI IVYSTDKD IKKYQKVAPT VVVDYNKHKYLEQQEMLGKIVGKEDKVKAW
KKDWEETAKDGKEIKKAIGQDATVSLFDEFDKKLYTYGDNWGRGGEVLYQAFGLKMQPEQQKLTAKAGW
AEVKQEEIEKYAGDYIVSTSEGKPTPGYESTNMWKNL KATKEGHIVKVDAGTYWYNDPYTLDFMRKDLKE
KLIKAAK

SEQ ID NO: 38 (Mutante Cys-Ala de EsxAB)

MAMIKMSPEEIRAKSQSYGQGSQIRQILSDLTRAQGEIAANWEGQAFSRFEEQFQQLSPKVEKFAQLLE
EIKQQLNSTADAVQEQDQQLSNNFGLQASGGGSGGYKGIKADGGKVDQAKQLAAKTAKDIEAAQKQTQQL
AEYIEGSDWEGQFANKVKDVL LIMAKFQEELVQPMADHQKAI DNLSQNLAKYDTLSIKQGLDRVNP

SEQ ID NO: 39 (secuencia de Sta011 útil)

MGSIGIKEAEVKKSFEKTLSPYPIKNLEDLYDKEGYRDDQFDKNDKGTWI INSEMVIQPNNE DMVAKGMV
LYMNRNTKTTNGYYYYVDVTKDEDEGKPHDNEKRYPVKMVDNKI IPTKEIKDEKIKKEIENFKFFVQYGF
KNLKNYKDGDISYNPEVPSYSAKYQLTND DYNVKQLRKRYDIPTSKAPKLLLKSGSNLKGSSVGYKDIEF
TFVEKKEENIYFSDSLDYKKS GDV

5

SEQ ID NO: 40 (Ejemplo de EsxAB libre de Cys)

AMIKMSPEEIRAKSQSYGQGSQIRQILSDLTRAQGEIAANWEGQAFSRFEEQFQQLSPKVEKFAQLLEE
IKQQLNSTADAVQEQDQQLSNNFGLQASGGGSGGYKGIKADGGKVDQAKQLAAKTAKDIEAXQKQTQQLA
EYIEGSDWEGQFANKVKDVL LIMAKFQEELVQPMADHQKAI DNLSQNLAKYDTLSIKQGLDRVNP

SEQ ID NO: 41

icicicicicicicicicic

10

SEQ ID NO: 42

KLKLLLLLKLK

SEQ ID NO: 43 (SpA)

MKKKNIYSIRKLGVIASVTLG TLLISGGVTPAANAAQHDEAQQNAFYQVLNMPNLNADQRNGFIQSLKD
DPSQSANVLGEAQKLNDSQAPKADAQQNNFNK DQQSAFYEILNMPNLNEAQRNGFIQSLKDDPSQSTNVL
GEAKKLNESQAPKADN FNKEQQNAFYEILNMPNLNEEQRNGFIQSLKDDPSQSANLLSEAKKLNESQAP
KADNKFNKEQQNAFYEILHLPNLNEEQRNGFIQSLKDDPSQSANLLAEAKKL NDAQAPKADNKFNKEQQN
AFYEILHLPNLTEEQRNGFIQSLKDDPSVSKEILAEAKKL NDAQAPKEEDNNKPGKEDNNKPGKEDNNK
GKEDNNKPGKEDNNKPGKEDGNKPGKEDNKKPGKEDGNKPGKEDNNKPGKEDGNKPGKEDGNKPGKEDGN
GVHVVKPGD TVNDIAKANGTTADKIAADNKLADKNMIKPGQELVVDKQ PANHADANKA QALPETGEENP
FIGTTVFGLSLALGAALLAGRRREL

SEQ ID NO: 44 (SpAkkAA)

AQHDEAXXNAFYQVLNMPNLNADQRNGFIQSLKXXPSQSANVLGEAQKLNDSQAPKADAQQNNFNKDXXS
AFYEILNMPNLNEAQRNGFIQSLKXXPSQSTNVLGEAKKLNESQAPKADN FNKEXXNAFYEILNMPNLN
EEQRNGFIQSLKXXPSQSANLLSEAKKLNESQAPKADNKFNKEXXNAFYEILHLPNLNEEQRNGFIQSLK
XXPSQSANLLAEAKKL NDAQAPKADNKFNKEXXNAFYEILHLPNLTEEQRNGFIQSLKXXPSVSKEILAE
AKKL NDAQAPK

15

SEQ ID NO: 45 (SpAkkAA)

AQHDEAKKNAFYQVLNMPNLNADQRNGFIQSLKAAPSQSANVLGEAQKLNDSQAPKADAQQNNFNKDKKS
AFYEILNMPNLNEAQRNGFIQSLKAAPSQSTNVLGEAKKLNESQAPKADN FNKEKKNAFYEILNMPNLN
EEQRNGFIQSLKAAPSQSANLLSEAKKLNESQAPKADNKFNKEKKNAFYEILHLPNLNEEQRNGFIQSLK
AAPSQSANLLAEAKKL NDAQAPKADNKFNKEKKNAFYEILHLPNLTEEQRNGFIQSLKAAPSVSKEILAE
AKKL NDAQAPK

SEQ ID NO: 46 (SpAkR)

AQHDEAKKNAFYQVLNMPNLNADQRNGFIQSLKAAPSQSANVLGEAQKLNDSQAPKADAXNNFNKDKKS
AFYEILNMPNLNEAQRNGFIQSLKAAPSQSTNVLGEAKKLNESQAPKADN FNKEKKNAFYEILNMPNLN
EEQRNGFIQSLKAAPSQSANLLSEAKKLNESQAPKADNKFNKEKKNAFYEILHLPNLNEEQRNGFIQSLK
AAPSQSANLLAEAKKL NDAQAPKADNKFNKEKKNAFYEILHLPNLTEEQRNGFIQSLKAAPSVSKEILAE
AKKL NDAQAPK

SEQ ID NO: 47 (SpAkR)

AQHDEAKKNAFYQVLNMPNLNADQRNGFIQSLKAAPSQSANVLGEAQKLNDSQAPKADAKRNNFNKDKKS
AFYEILNMPNLNEAQRNGFIQSLKAAPSQSTNVLGEAKKLNESQAPKADNNFNKEKKNAFYEILNMPNLN
EEQRNGFIQSLKAAPSQSANLLSEAKKLNESQAPKADNKFNKEKKNAFYEILHLPNLNEEQRNGFIQSLK
AAPSQSANLLAEAKKLNDQAQPKADNKFNKEKKNAFYEILHLPNLTEEQRNGFIQSLKAAPSVSKEILAE
AKKLNDQAQPK

SEQ ID NO: 48 (SpAkR usado en el ejemplo)

MAQHDEAKKNAFYQVLNMPNLNADQRNGFIQSLKAAPSQSANVLGEAQKLNDSQAPKADAKRNNFNKDKK
SAFYEILNMPNLNEAQRNGFIQSLKAAPSQSTNVLGEAKKLNESQAPKADNNFNKEKKNAFYEILNMPNLN
NEEQRNGFIQSLKAAPSQSANLLSEAKKLNESQAPKADNKFNKEKKNAFYEILHLPNLNEEQRNGFIQSL
KAAPSQSANLLAEAKKLNDQAQPKADNKFNKEKKNAFYEILHLPNLTEEQRNGFIQSLKAAPSVSKEILAE
EAKKLNDQAQPK

5 **SEQ ID NO: 49 (SpAkR)**

AQHDEAAXNAFYQVLNMPNLNADQRNGFIQSLKXXPSQSANVLGEAQKLNDSQAPKADAXNNFNKDXXS
AFYEILNMPNLNEAQRNGFIQSLKXXPSQSTNVLGEAKKLNESQAPKADNNFNKEXXNAFYEILNMPNLN
EEQRNGFIQSLKXXPSQSANLLSEAKKLNESQAPKADNKFNKEKKNAFYEILHLPNLNEEQRNGFIQSLK
XXPSQSANLLAEAKKLNDQAQPKADNKFNKEKKNAFYEILHLPNLTEEQRNGFIQSLKXXPSVSKEILAE
AKKLNDQAQPK

SEQ ID NO: 50 (Dominio E de SpAkR)

AQHDEAAXNAFYQVLNMPNLNADQRNGFIQSLKXXPSQSANVLGEAQKLNDSQAPKADAXNNFNKND

SEQ ID NO: 51 (Dominio E de SpAkR)

10 AQHDEAAXNAFYQVLNMPNLNADQRNGFIQSLKXXPSQSANVLGEAQKLNDSQAPKADAKRNNFNKND

SEQ ID NO: 52 (Dominio E de SpAkR)

AQHDEAKKNAFYQVLNMPNLNADQRNGFIQSLKAAPSQSANVLGEAQKLNDSQAPKADAKRNNFNKND

SEQ ID NO: 53 (Dominio E de SpAkR usado en el ejemplo)

MAQHDEAKKNAFYQVLNMPNLNADQRNGFIQSLKAAPSQSANVLGEAQKLNDSQAPKADAKRNNFNKND

15 **SEQ ID NO: 54 (Dominio E de SpA)**

AQHDEAQQNAFYQVLNMPNLNADQRNGFIQSLKDDPSQSANVLGEAQKLNDSQAPKADAQQNNFNKND

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS SA

<120> ANTÍGENOS ESTAFILOCÓCICOS MUTANTES

20 <130> VN56501-WO-PCT

<140>

<141>

<150> EP 14192913.3

<151> 12-11-2014

25 <150> EP 14161861.1

<151> 2014-03-26

<160> 54

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

30 <211> 97

<212> PRT

ES 2 769 647 T3

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 1

Met Ala Met Ile Lys Met Ser Pro Glu Glu Ile Arg Ala Lys Ser Gln
1 5 10 15

Ser Tyr Gly Gln Gly Ser Asp Gln Ile Arg Gln Ile Leu Ser Asp Leu
20 25 30

Thr Arg Ala Gln Gly Glu Ile Ala Ala Asn Trp Glu Gly Gln Ala Phe
35 40 45

Ser Arg Phe Glu Glu Gln Phe Gln Gln Leu Ser Pro Lys Val Glu Lys
50 55 60

Phe Ala Gln Leu Leu Glu Glu Ile Lys Gln Gln Leu Asn Ser Thr Ala
65 70 75 80

Asp Ala Val Gln Glu Gln Asp Gln Gln Leu Ser Asn Asn Phe Gly Leu
85 90 95

Gln

5

<210> 2

<211> 104

<212> PRT

<213> *Staphylococcus aureus*

10

<400> 2

Met Gly Gly Tyr Lys Gly Ile Lys Ala Asp Gly Gly Lys Val Asp Gln
1 5 10 15

ES 2 769 647 T3

Ala Lys Gln Leu Ala Ala Lys Thr Ala Lys Asp Ile Glu Ala Cys Gln
20 25 30

Lys Gln Thr Gln Gln Leu Ala Glu Tyr Ile Glu Gly Ser Asp Trp Glu
35 40 45

Gly Gln Phe Ala Asn Lys Val Lys Asp Val Leu Leu Ile Met Ala Lys
50 55 60

Phe Gln Glu Glu Leu Val Gln Pro Met Ala Asp His Gln Lys Ala Ile
65 70 75 80

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

Gln Gly Leu Asp Arg Val Asn Pro
100

<210> 3

<211> 302

<212> PRT

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 3

5

ES 2 769 647 T3

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

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

Tyr Lys Met Asp Asp Gly Lys Thr Val Asp Ile Pro Lys Asp Pro Lys
 35 40 45

Arg Ile Ala Val Val Ala Pro Thr Tyr Ala Gly Gly Leu Lys Lys Leu
 50 55 60

Gly Ala Asn Ile Val Ala Val Asn Gln Gln Val Asp Gln Ser Lys Val
 65 70 75 80

Leu Lys Asp Lys Phe Lys Gly Val Thr Lys Ile Gly Asp Gly Asp Val
 85 90 95

Glu Lys Val Ala Lys Glu Lys Pro Asp Leu Ile Ile Val Tyr Ser Thr
 100 105 110

Asp Lys Asp Ile Lys Lys Tyr Gln Lys Val Ala Pro Thr Val Val Val
 115 120 125

ES 2 769 647 T3

Asp Tyr Asn Lys His Lys Tyr Leu Glu Gln Gln Glu Met Leu Gly Lys
 130 135 140

Ile Val Gly Lys Glu Asp Lys Val Lys Ala Trp Lys Lys Asp Trp Glu
 145 150 155 160

Glu Thr Thr Ala Lys Asp Gly Lys Glu Ile Lys Lys Ala Ile Gly Gln
 165 170 175

Asp Ala Thr Val Ser Leu Phe Asp Glu Phe Asp Lys Lys Leu Tyr Thr
 180 185 190

Tyr Gly Asp Asn Trp Gly Arg Gly Gly Glu Val Leu Tyr Gln Ala Phe
 195 200 205

Gly Leu Lys Met Gln Pro Glu Gln Gln Lys Leu Thr Ala Lys Ala Gly
 210 215 220

Trp Ala Glu Val Lys Gln Glu Glu Ile Glu Lys Tyr Ala Gly Asp Tyr
 225 230 235 240

Ile Val Ser Thr Ser Glu Gly Lys Pro Thr Pro Gly Tyr Glu Ser Thr
 245 250 255

Asn Met Trp Lys Asn Leu Lys Ala Thr Lys Glu Gly His Ile Val Lys
 260 265 270

Val Asp Ala Gly Thr Tyr Trp Tyr Asn Asp Pro Tyr Thr Leu Asp Phe
 275 280 285

Met Arg Lys Asp Leu Lys Glu Lys Leu Ile Lys Ala Ala Lys
 290 295 300

<210> 4
 <211> 256
 <212> PRT
 <213> *Staphylococcus aureus*
 <400> 4

5

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

Leu Val Ile Ser Ile Thr Ala Gly Cys Gly Ile Gly Lys Glu Ala Glu
 20 25 30

Val Lys Lys Ser Phe Glu Lys Thr Leu Ser Met Tyr Pro Ile Lys Asn
 35 40 45

ES 2 769 647 T3

Leu Glu Asp Leu Tyr Asp Lys Glu Gly Tyr Arg Asp Asp Gln Phe Asp
50 55 60

Lys Asn Asp Lys Gly Thr Trp Ile Ile Asn Ser Glu Met Val Ile Gln
65 70 75 80

Pro Asn Asn Glu Asp Met Val Ala Lys Gly Met Val Leu Tyr Met Asn
85 90 95

Arg Asn Thr Lys Thr Thr Asn Gly Tyr Tyr Tyr Val Asp Val Thr Lys
100 105 110

Asp Glu Asp Glu Gly Lys Pro His Asp Asn Glu Lys Arg Tyr Pro Val
115 120 125

Lys Met Val Asp Asn Lys Ile Ile Pro Thr Lys Glu Ile Lys Asp Glu
130 135 140

Lys Ile Lys Lys Glu Ile Glu Asn Phe Lys Phe Phe Val Gln Tyr Gly
145 150 155 160

Asp Phe Lys Asn Leu Lys Asn Tyr Lys Asp Gly Asp Ile Ser Tyr Asn
165 170 175

Pro Glu Val Pro Ser Tyr Ser Ala Lys Tyr Gln Leu Thr Asn Asp Asp
180 185 190

Tyr Asn Val Lys Gln Leu Arg Lys Arg Tyr Asp Ile Pro Thr Ser Lys
195 200 205

Ala Pro Lys Leu Leu Leu Lys Gly Ser Gly Asn Leu Lys Gly Ser Ser
210 215 220

Val Gly Tyr Lys Asp Ile Glu Phe Thr Phe Val Glu Lys Lys Glu Glu
225 230 235 240

Asn Ile Tyr Phe Ser Asp Ser Leu Asp Tyr Lys Lys Ser Gly Asp Val
245 250 255

<210> 5
<211> 319
<212> PRT
<213> *Staphylococcus aureus*
<400> 5

5

ES 2 769 647 T3

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

Ser Ile Leu Met Asn Pro Val Ala Asn Ala Ala Asp Ser Asp Ile Asn
 20 25 30

Ile Lys Thr Gly Thr Thr Asp Ile Gly Ser Asn Thr Thr Val Lys Thr
 35 40 45

Gly Asp Leu Val Thr Tyr Asp Lys Glu Asn Gly Met His Lys Lys Val
 50 55 60

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

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

Glu Gly Ala Asn Lys Ser Gly Leu Ala Trp Pro Ser Ala Phe Lys Val
 100 105 110

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

Pro Arg Asn Ser Ile Asp Thr Lys Glu Tyr Met Ser Thr Leu Thr Tyr
 130 135 140

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

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

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

Trp Lys Val Ile Phe Asn Asn Met Val Asn Gln Asn Trp Gly Pro Tyr
 195 200 205

Asp Arg Asp Ser Trp Asn Pro Val Tyr Gly Asn Gln Leu Phe Met Lys
 210 215 220

Thr Arg Asn Gly Ser Met Lys Ala Ala Asp Asn Phe Leu Asp Pro Asn
 225 230 235 240

Lys Ala Ser Ser Leu Leu Ser Ser Gly Phe Ser Pro Asp Phe Ala Thr
 245 250 255

Val Ile Thr Met Asp Arg Lys Ala Ser Lys Gln Gln Thr Asn Ile Asp
 260 265 270

ES 2 769 647 T3

Val Ile Tyr Glu Arg Val Arg Asp Asp Tyr Gln Leu His Trp Thr Ser
 275 280 285

Thr Asn Trp Lys Gly Thr Asn Thr Lys Asp Lys Trp Ile Asp Arg Ser
 290 295 300

Ser Glu Arg Tyr Lys Ile Asp Trp Glu Lys Glu Glu Met Thr Asn
 305 310 315

5
 <210> 6
 <211> 285
 <212> PRT
 <213> *Staphylococcus aureus*
 <400> 6

Cys Gly Asn Gln Gly Glu Lys Asn Asn Lys Ala Glu Thr Lys Ser Tyr
 1 5 10 15

Lys Met Asp Asp Gly Lys Thr Val Asp Ile Pro Lys Asp Pro Lys Arg
 20 25 30

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

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

Lys Asp Lys Phe Lys Gly Val Thr Lys Ile Gly Asp Gly Asp Val Glu
 65 70 75 80

Lys Val Ala Lys Glu Lys Pro Asp Leu Ile Ile Val Tyr Ser Thr Asp
 85 90 95

Lys Asp Ile Lys Lys Tyr Gln Lys Val Ala Pro Thr Val Val Val Asp
 100 105 110

Tyr Asn Lys His Lys Tyr Leu Glu Gln Gln Glu Met Leu Gly Lys Ile
 115 120 125

Val Gly Lys Glu Asp Lys Val Lys Ala Trp Lys Lys Asp Trp Glu Glu
 130 135 140

Thr Thr Ala Lys Asp Gly Lys Glu Ile Lys Lys Ala Ile Gly Gln Asp
 145 150 155 160

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

Gly Asp Asn Trp Gly Arg Gly Gly Glu Val Leu Tyr Gln Ala Phe Gly

ES 2 769 647 T3

180 185 190

Leu Lys Met Gln Pro Glu Gln Gln Lys Leu Thr Ala Lys Ala Gly Trp
 195 200 205

Ala Glu Val Lys Gln Glu Glu Ile Glu Lys Tyr Ala Gly Asp Tyr Ile
 210 215 220

Val Ser Thr Ser Glu Gly Lys Pro Thr Pro Gly Tyr Glu Ser Thr Asn
 225 230 235 240

Met Trp Lys Asn Leu Lys Ala Thr Lys Glu Gly His Ile Val Lys Val
 245 250 255

Asp Ala Gly Thr Tyr Trp Tyr Asn Asp Pro Tyr Thr Leu Asp Phe Met
 260 265 270

Arg Lys Asp Leu Lys Glu Lys Leu Ile Lys Ala Ala Lys
 275 280 285

<210> 7
 <211> 288
 <212> PRT
 <213> *Staphylococcus aureus*
 <400> 7

5

Met Ala Ser Cys Gly Asn Gln Gly Glu Lys Asn Asn Lys Ala Glu Thr
 1 5 10 15

Lys Ser Tyr Lys Met Asp Asp Gly Lys Thr Val Asp Ile Pro Lys Asp
 20 25 30

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

Lys Leu Gly Ala Asn Ile Val Ala Val Asn Gln Gln Val Asp Gln Ser
 50 55 60

Lys Val Leu Lys Asp Lys Phe Lys Gly Val Thr Lys Ile Gly Asp Gly
 65 70 75 80

Asp Val Glu Lys Val Ala Lys Glu Lys Pro Asp Leu Ile Ile Val Tyr
 85 90 95

Ser Thr Asp Lys Asp Ile Lys Lys Tyr Gln Lys Val Ala Pro Thr Val
 100 105 110

Val Val Asp Tyr Asn Lys His Lys Tyr Leu Glu Gln Gln Glu Met Leu
 115 120 125

ES 2 769 647 T3

Gly Lys Ile Val Gly Lys Glu Asp Lys Val Lys Ala Trp Lys Lys Asp
 130 135 140

Trp Glu Glu Thr Thr Ala Lys Asp Gly Lys Glu Ile Lys Lys Ala Ile
 145 150 155 160

Gly Gln Asp Ala Thr Val Ser Leu Phe Asp Glu Phe Asp Lys Lys Leu
 165 170 175

Tyr Thr Tyr Gly Asp Asn Trp Gly Arg Gly Gly Glu Val Leu Tyr Gln
 180 185 190

Ala Phe Gly Leu Lys Met Gln Pro Glu Gln Gln Lys Leu Thr Ala Lys
 195 200 205

Ala Gly Trp Ala Glu Val Lys Gln Glu Glu Ile Glu Lys Tyr Ala Gly
 210 215 220

Asp Tyr Ile Val Ser Thr Ser Glu Gly Lys Pro Thr Pro Gly Tyr Glu
 225 230 235 240

Ser Thr Asn Met Trp Lys Asn Leu Lys Ala Thr Lys Glu Gly His Ile
 245 250 255

Val Lys Val Asp Ala Gly Thr Tyr Trp Tyr Asn Asp Pro Tyr Thr Leu
 260 265 270

Asp Phe Met Arg Lys Asp Leu Lys Glu Lys Leu Ile Lys Ala Ala Lys
 275 280 285

5 <210> 8
 <211> 234
 <212> PRT
 <213> *Staphylococcus aureus*
 <400> 8

ES 2 769 647 T3

Met Gly Cys Gly Ile Gly Lys Glu Ala Glu Val Lys Lys Ser Phe Glu
 1 5 10 15

Lys Thr Leu Ser Met Tyr Pro Ile Lys Asn Leu Glu Asp Leu Tyr Asp
 20 25 30

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

Trp Ile Ile Asn Ser Glu Met Val Ile Gln Pro Asn Asn Glu Asp Met
 50 55 60

Val Ala Lys Gly Met Val Leu Tyr Met Asn Arg Asn Thr Lys Thr Thr
 65 70 75 80

Asn Gly Tyr Tyr Tyr Val Asp Val Thr Lys Asp Glu Asp Glu Gly Lys
 85 90 95

Pro His Asp Asn Glu Lys Arg Tyr Pro Val Lys Met Val Asp Asn Lys
 100 105 110

Ile Ile Pro Thr Lys Glu Ile Lys Asp Glu Lys Ile Lys Lys Glu Ile
 115 120 125

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

Asn Tyr Lys Asp Gly Asp Ile Ser Tyr Asn Pro Glu Val Pro Ser Tyr
 145 150 155 160

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

Arg Lys Arg Tyr Asp Ile Pro Thr Ser Lys Ala Pro Lys Leu Leu Leu
 180 185 190

Lys Gly Ser Gly Asn Leu Lys Gly Ser Ser Val Gly Tyr Lys Asp Ile
 195 200 205

Glu Phe Thr Phe Val Glu Lys Lys Glu Glu Asn Ile Tyr Phe Ser Asp
 210 215 220

Ser Leu Asp Tyr Lys Lys Ser Gly Asp Val
 225 230

<210> 9
 <211> 256

ES 2 769 647 T3

<212> PRT

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 9

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

Leu Val Ile Ser Ile Thr Ala Gly Cys Gly Ile Gly Lys Glu Ala Glu
20 25 30

Val Lys Lys Ser Phe Glu Lys Thr Leu Ser Met Tyr Pro Ile Lys Asn
35 40 45

5

ES 2 769 647 T3

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

<210> 10
 <211> 256
 <212> PRT
 <213> *Staphylococcus aureus*
 <400> 10

5

ES 2 769 647 T3

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

Leu Val Ile Ser Ile Thr Ala Gly Cys Gly Ile Gly Lys Glu Ala Glu
 20 25 30

Val Lys Lys Ser Phe Glu Lys Thr Leu Ser Met Tyr Pro Ile Lys Asn
 35 40 45

Leu Glu Asp Leu Tyr Asp Lys Glu Gly Tyr Arg Asp Asp Gln Phe Asp
 50 55 60

Lys Asn Asp Lys Gly Thr Trp Ile Ile Asn Ser Glu Met Val Ile Gln
 65 70 75 80

Pro Asn Asn Glu Asp Met Val Ala Lys Gly Met Val Leu Tyr Met Asn
 85 90 95

Arg Asn Thr Lys Thr Thr Asn Gly Tyr Tyr Tyr Val Asp Val Thr Lys
 100 105 110

Asp Glu Asp Glu Gly Lys Pro His Asp Asn Glu Lys Arg Tyr Pro Val
 115 120 125

Lys Met Val Asp Asn Lys Ile Ile Pro Thr Lys Glu Ile Lys Asp Glu
 130 135 140

Lys Val Lys Lys Glu Ile Glu Asn Phe Lys Phe Phe Val Gln Tyr Gly
 145 150 155 160

Asp Phe Lys Asn Ile Lys Asn Tyr Lys Asp Gly Asp Ile Ser Tyr Asn
 165 170 175

Pro Glu Val Pro Ser Tyr Ser Ala Lys Tyr Gln Leu Thr Asn Asp Asp
 180 185 190

Tyr Asn Val Lys Gln Leu Arg Lys Arg Tyr Asp Ile Pro Thr Ser Lys
 195 200 205

Ala Pro Lys Leu Leu Leu Lys Gly Ser Gly Asn Leu Lys Gly Ser Ser
 210 215 220

Val Gly Tyr Lys Asp Ile Glu Phe Thr Phe Val Glu Lys Lys Glu Glu
 225 230 235 240

Asn Ile Tyr Phe Ser Asp Ser Leu Asp Tyr Lys Lys Ser Gly Asp Val
 245 250 255

<210> 11
<211> 256
<212> PRT
<213> *Staphylococcus aureus*

5 <400> 11

ES 2 769 647 T3

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

Leu Val Ile Ser Ile Thr Ala Gly Cys Gly Ile Gly Lys Glu Ala Glu
 20 25 30

Val Lys Lys Ser Phe Glu Lys Thr Leu Ser Met Tyr Pro Ile Lys Asn
 35 40 45

Leu Glu Asp Leu Tyr Asp Lys Glu Gly Tyr Arg Asp Asp Gln Phe Asp
 50 55 60

Lys Asn Asp Lys Gly Thr Trp Ile Ile Asn Ser Glu Met Val Ile Gln
 65 70 75 80

Pro Asn Asn Glu Asp Met Val Ala Lys Gly Met Val Leu Tyr Met Asn
 85 90 95

Arg Asn Thr Lys Thr Thr Asn Gly Tyr Tyr Tyr Val Asp Val Thr Lys
 100 105 110

Asp Glu Asp Glu Gly Lys Pro His Asp Asn Glu Lys Arg Tyr Pro Val
 115 120 125

Lys Met Val Asp Asn Lys Ile Ile Pro Thr Lys Glu Ile Lys Asp Glu
 130 135 140

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

Asp Phe Lys Asn Val Lys Asn Tyr Lys Asp Gly Asp Ile Ser Tyr Asn
 165 170 175

Pro Glu Val Pro Ser Tyr Ser Ala Lys Tyr Gln Leu Thr Asn Asp Asp
 180 185 190

Tyr Asn Val Lys Gln Leu Arg Lys Arg Tyr Asp Ile Pro Thr Ser Lys
 195 200 205

Ala Pro Lys Leu Leu Leu Lys Gly Ser Gly Asn Leu Lys Gly Ser Ser
 210 215 220

Val Gly Tyr Lys Asp Ile Glu Phe Thr Phe Val Glu Lys Lys Glu Glu
 225 230 235 240

Asn Ile Tyr Phe Ser Asp Ser Leu Asp Tyr Lys Lys Ser Gly Asp Val

245

250

255

ES 2 769 647 T3

<210> 12
 <211> 293
 <212> PRT
 5 <213> *Staphylococcus aureus*
 <400> 12

Ala Asp Ser Asp Ile Asn Ile Lys Thr Gly Thr Thr Asp Ile Gly Ser
 1 5 10 15

Asn Thr Thr Val Lys Thr Gly Asp Leu Val Thr Tyr Asp Lys Glu Asn
 20 25 30

Gly Met His Lys Lys Val Phe Tyr Ser Phe Ile Asp Asp Lys Asn His
 35 40 45

Asn Lys Lys Leu Leu Val Ile Arg Thr Lys Gly Thr Ile Ala Gly Gln
 50 55 60

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

Pro Ser Ala Phe Lys Val Gln Leu Gln Leu Pro Asp Asn Glu Val Ala
 85 90 95

Gln Ile Ser Asp Tyr Tyr Pro Arg Asn Ser Ile Asp Thr Lys Glu Tyr
 100 105 110

Met Ser Thr Leu Thr Tyr Gly Phe Asn Gly Asn Val Thr Gly Asp Asp
 115 120 125

Thr Gly Lys Ile Gly Gly Leu Ile Gly Ala Asn Val Ser Ile Gly His
 130 135 140

Thr Leu Lys Tyr Val Gln Pro Asp Phe Lys Thr Ile Leu Glu Ser Pro
 145 150 155 160

Thr Asp Lys Lys Val Gly Trp Lys Val Ile Phe Asn Asn Met Val Asn
 165 170 175

Gln Asn Trp Gly Pro Tyr Asp Arg Asp Ser Trp Asn Pro Val Tyr Gly
 180 185 190

Asn Gln Leu Phe Met Lys Thr Arg Asn Gly Ser Met Lys Ala Ala Asp
 195 200 205

Asn Phe Leu Asp Pro Asn Lys Ala Ser Ser Leu Leu Ser Ser Gly Phe
 210 215 220

ES 2 769 647 T3

Ser Pro Asp Phe Ala Thr Val Ile Thr Met Asp Arg Lys Ala Ser Lys
 225 230 235 240

Gln Gln Thr Asn Ile Asp Val Ile Tyr Glu Arg Val Arg Asp Asp Tyr
 245 250 255

Gln Leu His Trp Thr Ser Thr Asn Trp Lys Gly Thr Asn Thr Lys Asp
 260 265 270

Lys Trp Ile Asp Arg Ser Ser Glu Arg Tyr Lys Ile Asp Trp Glu Lys
 275 280 285

Glu Glu Met Thr Asn
 290

5

- <210> 13
- <211> 293
- <212> PRT
- <213> *Staphylococcus aureus*
- <400> 13

Ala Asp Ser Asp Ile Asn Ile Lys Thr Gly Thr Thr Asp Ile Gly Ser
 1 5 10 15

Asn Thr Thr Val Lys Thr Gly Asp Leu Val Thr Tyr Asp Lys Glu Asn
 20 25 30

Gly Met Leu Lys Lys Val Phe Tyr Ser Phe Ile Asp Asp Lys Asn His
 35 40 45

Asn Lys Lys Leu Leu Val Ile Arg Thr Lys Gly Thr Ile Ala Gly Gln
 50 55 60

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

Pro Ser Ala Phe Lys Val Gln Leu Gln Leu Pro Asp Asn Glu Val Ala
 85 90 95

Gln Ile Ser Asp Tyr Tyr Pro Arg Asn Ser Ile Asp Thr Lys Glu Tyr
 100 105 110

Met Ser Thr Leu Thr Tyr Gly Phe Asn Gly Asn Val Thr Gly Asp Asp
 115 120 125

Thr Gly Lys Ile Gly Gly Leu Ile Gly Ala Asn Val Ser Ile Gly His
 130 135 140

ES 2 769 647 T3

Thr Leu Lys Tyr Val Gln Pro Asp Phe Lys Thr Ile Leu Glu Ser Pro
 145 150 155 160

Thr Asp Lys Lys Val Gly Trp Lys Val Ile Phe Asn Asn Met Val Asn
 165 170 175

Gln Asn Trp Gly Pro Tyr Asp Arg Asp Ser Trp Asn Pro Val Tyr Gly
 180 185 190

Asn Gln Leu Phe Met Lys Thr Arg Asn Gly Ser Met Lys Ala Ala Asp
 195 200 205

Asn Phe Leu Asp Pro Asn Lys Ala Ser Ser Leu Leu Ser Ser Gly Phe
 210 215 220

Ser Pro Asp Phe Ala Thr Val Ile Thr Met Asp Arg Lys Ala Ser Lys
 225 230 235 240

Gln Gln Thr Asn Ile Asp Val Ile Tyr Glu Arg Val Arg Asp Asp Tyr
 245 250 255

Gln Leu His Trp Thr Ser Thr Asn Trp Lys Gly Thr Asn Thr Lys Asp
 260 265 270

Lys Trp Ile Asp Arg Ser Ser Glu Arg Tyr Lys Ile Asp Trp Glu Lys
 275 280 285

Glu Glu Met Thr Asn
 290

5 <210> 14
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota=" Descripción de secuencia artificial: péptido tetramérico de reemplazo sintético"
 <400> 14

Pro Ser Gly Ser
 1

15 <210> 15
 <211> 258
 <212> PRT
 <213> *Staphylococcus aureus*
 <400> 15

20 Ala Asp Ser Asp Ile Asn Ile Lys Thr Gly Thr Thr Asp Ile Gly Ser

ES 2 769 647 T3

5 <210> 16
 <211> 258
 <212> PRT
 <213> *Staphylococcus aureus*
 <400> 16

Ala Asp Ser Asp Ile Asn Ile Lys Thr Gly Thr Thr Asp Ile Gly Ser
 1 5 10 15

Asn Thr Thr Val Lys Thr Gly Asp Leu Val Thr Tyr Asp Lys Glu Asn
 20 25 30

Gly Met His Lys Lys Val Phe Tyr Ser Phe Ile Asp Asp Lys Asn His
 35 40 45

Asn Lys Lys Leu Leu Val Ile Arg Thr Lys Gly Thr Ile Ala Gly Gln
 50 55 60

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

Pro Ser Ala Phe Lys Val Gln Leu Gln Leu Pro Asp Asn Glu Val Ala
 85 90 95

Gln Ile Ser Asp Tyr Tyr Pro Arg Asn Ser Ile Asp Thr Pro Ser Gly
 100 105 110

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

Lys Val Gly Trp Lys Val Ile Phe Asn Asn Met Val Asn Gln Asn Trp
 130 135 140

Gly Pro Tyr Asp Arg Asp Ser Trp Asn Pro Val Tyr Gly Asn Gln Leu
 145 150 155 160

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

Asp Pro Asn Lys Ala Ser Ser Leu Leu Ser Ser Gly Phe Ser Pro Asp
 180 185 190

Phe Ala Thr Val Ile Thr Met Asp Arg Lys Ala Ser Lys Gln Gln Thr
 195 200 205

Asn Ile Asp Val Ile Tyr Glu Arg Val Arg Asp Asp Tyr Gln Leu His

ES 2 769 647 T3

Gln Asn Trp Gly Pro Tyr Asp Arg Asp Ser Trp Asn Pro Val Tyr Gly
 180 185 190

Asn Gln Leu Phe Met Lys Thr Arg Asn Gly Ser Met Lys Ala Ala Asp
 195 200 205

Asn Phe Leu Asp Pro Asn Lys Ala Ser Ser Leu Leu Ser Ser Gly Phe
 210 215 220

Ser Pro Asp Phe Ala Thr Val Ile Thr Met Asp Arg Lys Ala Ser Lys
 225 230 235 240

Gln Gln Thr Asn Ile Asp Val Ile Tyr Glu Arg Val Arg Asp Asp Tyr
 245 250 255

Gln Leu His Trp Thr Ser Thr Asn Trp Lys Gly Thr Asn Thr Lys Asp
 260 265 270

Lys Trp Ile Asp Arg Ser Ser Glu Arg Tyr Lys Ile Asp Trp Glu Lys
 275 280 285

Glu Glu Met Thr Asn
 290

- <210> 18
- <211> 293
- <212> PRT
- <213> *Staphylococcus aureus*
- <400> 18

5

Ala Asp Ser Asp Ile Asn Ile Lys Thr Gly Thr Thr Asp Ile Gly Ser
 1 5 10 15

Asn Thr Thr Val Lys Thr Gly Asp Leu Val Thr Tyr Asp Lys Glu Asn
 20 25 30

Gly Met His Lys Lys Val Phe Tyr Ser Phe Ile Asp Asp Lys Asn His
 35 40 45

Asn Lys Lys Leu Leu Val Ile Arg Thr Lys Gly Thr Ile Ala Gly Gln
 50 55 60

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

Pro Ser Ala Phe Lys Val Gln Leu Gln Leu Pro Asp Asn Glu Val Ala
 85 90 95

ES 2 769 647 T3

Gln Ile Ser Asp Tyr Tyr Pro Arg Asn Ser Ile Asp Thr Lys Glu Tyr
 100 105 110

Met Ser Thr Leu Thr Tyr Gly Phe Asn Gly Asn Val Thr Gly Asp Asp
 115 120 125

Thr Gly Lys Ile Gly Gly Leu Ile Gly Ala Asn Val Ser Ile Gly His
 130 135 140

Thr Leu Lys Tyr Val Gln Pro Leu Phe Lys Thr Ile Leu Glu Ser Pro
 145 150 155 160

Thr Asp Lys Lys Val Gly Trp Lys Val Ile Phe Asn Asn Met Val Asn
 165 170 175

Gln Asn Trp Gly Pro Tyr Asp Arg Asp Ser Trp Asn Pro Val Tyr Gly
 180 185 190

Asn Gln Leu Phe Met Lys Thr Arg Asn Gly Ser Met Lys Ala Ala Asp
 195 200 205

Asn Phe Leu Asp Pro Asn Lys Ala Ser Ser Leu Leu Ser Ser Gly Phe
 210 215 220

Ser Pro Asp Phe Ala Thr Val Ile Thr Met Asp Arg Lys Ala Ser Lys
 225 230 235 240

Gln Gln Thr Asn Ile Asp Val Ile Tyr Glu Arg Val Arg Asp Asp Tyr
 245 250 255

Gln Leu His Trp Thr Ser Thr Asn Trp Lys Gly Thr Asn Thr Lys Asp
 260 265 270

Lys Trp Ile Asp Arg Ser Ser Glu Arg Tyr Lys Ile Asp Trp Glu Lys
 275 280 285

Glu Glu Met Thr Asn
 290

5 <210> 19
 <211> 293
 <212> PRT
 <213> *Staphylococcus aureus*
 <400> 19

Ala Asp Ser Asp Ile Asn Ile Lys Thr Gly Thr Thr Asp Ile Gly Ser
 1 5 10 15

ES 2 769 647 T3

Asn Thr Thr Val Lys Thr Gly Asp Leu Val Thr Tyr Asp Lys Glu Asn
 20 25 30
 Gly Met Leu Lys Lys Val Phe Tyr Ser Phe Ile Asp Asp Lys Asn His
 35 40 45
 Asn Lys Lys Leu Leu Val Ile Arg Thr Lys Gly Thr Ile Ala Gly Gln
 50 55 60
 Tyr Arg Val Tyr Ser Glu Glu Gly Ala Asn Lys Ser Gly Leu Ala Trp
 65 70 75 80
 Pro Ser Ala Phe Lys Val Gln Leu Gln Leu Pro Asp Asn Glu Val Ala
 85 90 95
 Gln Ile Ser Asp Leu Tyr Pro Arg Asn Ser Ile Asp Thr Lys Glu Tyr
 100 105 110
 Met Ser Thr Leu Thr Tyr Gly Phe Asn Gly Asn Val Thr Gly Asp Asp
 115 120 125
 Thr Gly Lys Ile Gly Gly Leu Ile Gly Ala Asn Val Ser Ile Gly His
 130 135 140
 Thr Leu Lys Tyr Val Gln Pro Asp Phe Lys Thr Ile Leu Glu Ser Pro
 145 150 155 160
 Thr Asp Lys Lys Val Gly Trp Lys Val Ile Phe Asn Asn Met Val Asn
 165 170 175
 Gln Asn Trp Gly Pro Tyr Asp Arg Asp Ser Trp Asn Pro Val Tyr Gly
 180 185 190
 Asn Gln Leu Phe Met Lys Thr Arg Asn Gly Ser Met Lys Ala Ala Asp
 195 200 205
 Asn Phe Leu Asp Pro Asn Lys Ala Ser Ser Leu Leu Ser Ser Gly Phe
 210 215 220
 Ser Pro Asp Phe Ala Thr Val Ile Thr Met Asp Arg Lys Ala Ser Lys
 225 230 235 240
 Gln Gln Thr Asn Ile Asp Val Ile Tyr Glu Arg Val Arg Asp Asp Tyr
 245 250 255
 Gln Leu His Trp Thr Ser Thr Asn Trp Lys Gly Thr Asn Thr Lys Asp
 260 265 270

ES 2 769 647 T3

Lys Trp Ile Asp Arg Ser Ser Glu Arg Tyr Lys Ile Asp Trp Glu Lys
 275 280 285

Glu Glu Met Thr Asn
 290

5 <210> 20
 <211> 293
 <212> PRT
 <213> *Staphylococcus aureus*
 <400> 20

Ala Asp Ser Asp Ile Asn Ile Lys Thr Gly Thr Thr Asp Ile Gly Ser
 1 5 10 15

Asn Thr Thr Val Lys Thr Gly Asp Leu Val Thr Tyr Asp Lys Glu Asn
 20 25 30

Gly Met Leu Lys Lys Val Phe Tyr Ser Phe Ile Asp Asp Lys Asn His
 35 40 45

Asn Lys Lys Leu Leu Val Ile Arg Thr Lys Gly Thr Ile Ala Gly Gln
 50 55 60

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

Pro Ser Ala Phe Lys Val Gln Leu Gln Leu Pro Asp Asn Glu Val Ala
 85 90 95

Gln Ile Ser Asp Tyr Tyr Pro Arg Asn Ser Ile Asp Thr Lys Glu Tyr
 100 105 110

Met Ser Thr Leu Thr Tyr Gly Phe Asn Gly Asn Val Thr Gly Asp Asp
 115 120 125

Thr Gly Lys Ile Gly Gly Leu Ile Gly Ala Asn Val Ser Ile Gly His
 130 135 140

Thr Leu Lys Tyr Val Gln Pro Leu Phe Lys Thr Ile Leu Glu Ser Pro
 145 150 155 160

Thr Asp Lys Lys Val Gly Trp Lys Val Ile Phe Asn Asn Met Val Asn
 165 170 175

Gln Asn Trp Gly Pro Tyr Asp Arg Asp Ser Trp Asn Pro Val Tyr Gly
 180 185 190

ES 2 769 647 T3

Asn Gln Leu Phe Met Lys Thr Arg Asn Gly Ser Met Lys Ala Ala Asp
 195 200 205

Asn Phe Leu Asp Pro Asn Lys Ala Ser Ser Leu Leu Ser Ser Gly Phe
 210 215 220

Ser Pro Asp Phe Ala Thr Val Ile Thr Met Asp Arg Lys Ala Ser Lys
 225 230 235 240

Gln Gln Thr Asn Ile Asp Val Ile Tyr Glu Arg Val Arg Asp Asp Tyr
 245 250 255

Gln Leu His Trp Thr Ser Thr Asn Trp Lys Gly Thr Asn Thr Lys Asp
 260 265 270

Lys Trp Ile Asp Arg Ser Ser Glu Arg Tyr Lys Ile Asp Trp Glu Lys
 275 280 285

Glu Glu Met Thr Asn
 290

5

<210> 21
 <211> 50
 <212> PRT
 <213> *Staphylococcus aureus*
 <400> 21

Ala Asp Ser Asp Ile Asn Ile Lys Thr Gly Thr Thr Asp Ile Gly Ser
 1 5 10 15

Asn Thr Thr Val Lys Thr Gly Asp Leu Val Thr Tyr Asp Lys Glu Asn
 20 25 30

Gly Met His Lys Lys Val Phe Tyr Ser Phe Ile Asp Asp Lys Asn His
 35 40 45

Asn Lys
 50

10

<210> 22
 <211> 63
 <212> PRT
 <213> *Staphylococcus aureus*

15

<400> 22

ES 2 769 647 T3

Ala Asp Ser Asp Ile Asn Ile Lys Thr Gly Thr Thr Asp Ile Gly Ser
 1 5 10 15

Asn Thr Thr Val Lys Thr Gly Asp Leu Val Thr Tyr Asp Lys Glu Asn
 20 25 30

Gly Met His Lys Lys Val Phe Tyr Ser Phe Ile Asp Asp Lys Asn His
 35 40 45

Asn Lys Lys Leu Leu Val Ile Arg Thr Lys Gly Thr Ile Ala Gly
 50 55 60

5 <210> 23
 <211> 53
 <212> PRT
 <213> *Staphylococcus aureus*
 <400> 23

Ala Asp Ser Asp Ile Asn Ile Lys Thr Gly Thr Thr Asp Ile Gly Ser
 1 5 10 15

Asn Thr Thr Val Lys Thr Gly Asp Leu Val Thr Tyr Asp Lys Glu Asn
 20 25 30

Gly Met His Lys Lys Val Phe Tyr Ser Phe Ile Asp Asp Lys Asn His
 35 40 45

Asn Lys Lys Leu Leu
 50

10 <210> 24
 <211> 50
 <212> PRT
 <213> *Staphylococcus aureus*

15 <400> 24

Ala Asp Ser Asp Ile Asn Ile Lys Thr Gly Thr Thr Asp Ile Gly Ser
 1 5 10 15

Asn Thr Thr Val Lys Thr Gly Asp Leu Val Thr Tyr Asp Lys Glu Asn
 20 25 30

Gly Met Leu Lys Lys Val Phe Tyr Ser Phe Ile Asp Asp Lys Asn His
 35 40 45

Asn Lys
 50

ES 2 769 647 T3

5 <210> 25
 <211> 63
 <212> PRT
 <213> *Staphylococcus aureus*
 <400> 25

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

10 <210> 26
 <211> 53
 <212> PRT
 <213> *Staphylococcus aureus*
 15 <400> 26

Ala Asp Ser Asp Ile Asn Ile Lys Thr Gly Thr Thr Asp Ile Gly Ser
 1 5 10 15
 Asn Thr Thr Val Lys Thr Gly Asp Leu Val Thr Tyr Asp Lys Glu Asn
 20 25 30
 Gly Met Leu Lys Lys Val Phe Tyr Ser Phe Ile Asp Asp Lys Asn His
 35 40 45
 Asn Lys Lys Leu Leu
 50

20 <210> 27
 <211> 296
 <212> PRT
 <213> *Staphylococcus aureus*
 <400> 27

ES 2 769 647 T3

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

ES 2 769 647 T3

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

<210> 28
 <211> 207
 <212> PRT
 <213> *Staphylococcus aureus*
 <400> 28

5

Met Ala Met Ile Lys Met Ser Pro Glu Glu Ile Arg Ala Lys Ser Gln
 1 5 10 15

ES 2 769 647 T3

Ser Tyr Gly Gln Gly Ser Asp Gln Ile Arg Gln Ile Leu Ser Asp Leu
 20 25 30

Thr Arg Ala Gln Gly Glu Ile Ala Ala Asn Trp Glu Gly Gln Ala Phe
 35 40 45

Ser Arg Phe Glu Glu Gln Phe Gln Gln Leu Ser Pro Lys Val Glu Lys
 50 55 60

Phe Ala Gln Leu Leu Glu Glu Ile Lys Gln Gln Leu Asn Ser Thr Ala
 65 70 75 80

Asp Ala Val Gln Glu Gln Asp Gln Gln Leu Ser Asn Asn Phe Gly Leu
 85 90 95

Gln Ala Ser Gly Gly Gly Ser Met Gly Gly Tyr Lys Gly Ile Lys Ala
 100 105 110

Asp Gly Gly Lys Val Asp Gln Ala Lys Gln Leu Ala Ala Lys Thr Ala
 115 120 125

Lys Asp Ile Glu Ala Cys Gln Lys Gln Thr Gln Gln Leu Ala Glu Tyr
 130 135 140

Ile Glu Gly Ser Asp Trp Glu Gly Gln Phe Ala Asn Lys Val Lys Asp
 145 150 155 160

Val Leu Leu Ile Met Ala Lys Phe Gln Glu Glu Leu Val Gln Pro Met
 165 170 175

Ala Asp His Gln Lys Ala Ile Asp Asn Leu Ser Gln Asn Leu Ala Lys
 180 185 190

Tyr Asp Thr Leu Ser Ile Lys Gln Gly Leu Asp Arg Val Asn Pro
 195 200 205

<210> 29
 <211> 207
 <212> PRT
 <213> *Staphylococcus aureus*
 <400> 29

5

ES 2 769 647 T3

Met Gly Gly Tyr Lys Gly Ile Lys Ala Asp Gly Gly Lys Val Asp Gln
 1 5 10 15

Ala Lys Gln Leu Ala Ala Lys Thr Ala Lys Asp Ile Glu Ala Cys Gln
 20 25 30

Lys Gln Thr Gln Gln Leu Ala Glu Tyr Ile Glu Gly Ser Asp Trp Glu
 35 40 45

Gly Gln Phe Ala Asn Lys Val Lys Asp Val Leu Leu Ile Met Ala Lys
 50 55 60

Phe Gln Glu Glu Leu Val Gln Pro Met Ala Asp His Gln Lys Ala Ile
 65 70 75 80

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

Gln Gly Leu Asp Arg Val Asn Pro Ala Ser Gly Gly Gly Ser Met Ala
 100 105 110

Met Ile Lys Met Ser Pro Glu Glu Ile Arg Ala Lys Ser Gln Ser Tyr
 115 120 125

Gly Gln Gly Ser Asp Gln Ile Arg Gln Ile Leu Ser Asp Leu Thr Arg
 130 135 140

Ala Gln Gly Glu Ile Ala Ala Asn Trp Glu Gly Gln Ala Phe Ser Arg
 145 150 155 160

Phe Glu Glu Gln Phe Gln Gln Leu Ser Pro Lys Val Glu Lys Phe Ala
 165 170 175

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

Val Gln Glu Gln Asp Gln Gln Leu Ser Asn Asn Phe Gly Leu Gln
 195 200 205

- <210> 30
- <211> 6
- 5 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- <221> fuente
- <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido de engarce sintético"
- 10 <400> 30

ES 2 769 647 T3

Ala Ser Gly Gly Gly Ser
1 5

5
<210> 31
<211> 205
<212> PRT
<213> *Staphylococcus aureus*
<400> 31

Ala Met Ile Lys Met Ser Pro Glu Glu Ile Arg Ala Lys Ser Gln Ser
1 5 10 15

Tyr Gly Gln Gly Ser Asp Gln Ile Arg Gln Ile Leu Ser Asp Leu Thr
20 25 30

Arg Ala Gln Gly Glu Ile Ala Ala Asn Trp Glu Gly Gln Ala Phe Ser
35 40 45

Arg Phe Glu Glu Gln Phe Gln Gln Leu Ser Pro Lys Val Glu Lys Phe
50 55 60

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

Ala Val Gln Glu Gln Asp Gln Gln Leu Ser Asn Asn Phe Gly Leu Gln
85 90 95

Ala Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Tyr Lys Gly Ile Lys Ala Asp Gly
100 105 110

Gly Lys Val Asp Gln Ala Lys Gln Leu Ala Ala Lys Thr Ala Lys Asp
115 120 125

Ile Glu Ala Cys Gln Lys Gln Thr Gln Gln Leu Ala Glu Tyr Ile Glu
130 135 140

Gly Ser Asp Trp Glu Gly Gln Phe Ala Asn Lys Val Lys Asp Val Leu
145 150 155 160

Leu Ile Met Ala Lys Phe Gln Glu Glu Leu Val Gln Pro Met Ala Asp
165 170 175

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

Thr Leu Ser Ile Lys Gln Gly Leu Asp Arg Val Asn Pro
195 200 205

ES 2 769 647 T3

<210> 32
 <211> 206
 <212> PRT
 <213> *Staphylococcus aureus*

5 <400> 32

```

Met Ala Met Ile Lys Met Ser Pro Glu Glu Ile Arg Ala Lys Ser Gln
1           5           10           15

Ser Tyr Gly Gln Gly Ser Asp Gln Ile Arg Gln Ile Leu Ser Asp Leu
          20           25           30

Thr Arg Ala Gln Gly Glu Ile Ala Ala Asn Trp Glu Gly Gln Ala Phe
          35           40           45

Ser Arg Phe Glu Glu Gln Phe Gln Gln Leu Ser Pro Lys Val Glu Lys
          50           55           60

Phe Ala Gln Leu Leu Glu Glu Ile Lys Gln Gln Leu Asn Ser Thr Ala
65           70           75           80

Asp Ala Val Gln Glu Gln Asp Gln Gln Leu Ser Asn Asn Phe Gly Leu
          85           90           95

Gln Ala Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Tyr Lys Gly Ile Lys Ala Asp
          100          105          110

Gly Gly Lys Val Asp Gln Ala Lys Gln Leu Ala Ala Lys Thr Ala Lys
          115          120          125

Asp Ile Glu Ala Cys Gln Lys Gln Thr Gln Gln Leu Ala Glu Tyr Ile
130          135          140

Glu Gly Ser Asp Trp Glu Gly Gln Phe Ala Asn Lys Val Lys Asp Val
145          150          155          160

Leu Leu Ile Met Ala Lys Phe Gln Glu Glu Leu Val Gln Pro Met Ala
          165          170          175

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

Asp Thr Leu Ser Ile Lys Gln Gly Leu Asp Arg Val Asn Pro
          195          200          205
    
```

10 <210> 33
 <211> 233
 <212> PRT
 <213> *Staphylococcus aureus*
 <400> 33

ES 2 769 647 T3

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

ES 2 769 647 T3

Ala Val Val Ala Pro Thr Tyr Ala Gly Gly Leu Lys Lys Leu Gly Ala
 35 40 45

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

Asp Lys Phe Lys Gly Val Thr Lys Ile Gly Asp Gly Asp Val Glu Lys
 65 70 75 80

Val Ala Lys Glu Lys Pro Asp Leu Ile Ile Val Tyr Ser Thr Asp Lys
 85 90 95

Asp Ile Lys Lys Tyr Gln Lys Val Ala Pro Thr Val Val Val Asp Tyr
 100 105 110

Asn Lys His Lys Tyr Leu Glu Gln Gln Glu Met Leu Gly Lys Ile Val
 115 120 125

Gly Lys Glu Asp Lys Val Lys Ala Trp Lys Lys Asp Trp Glu Glu Thr
 130 135 140

Thr Ala Lys Asp Gly Lys Glu Ile Lys Lys Ala Ile Gly Gln Asp Ala
 145 150 155 160

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

Asp Asn Trp Gly Arg Gly Gly Glu Val Leu Tyr Gln Ala Phe Gly Leu
 180 185 190

Lys Met Gln Pro Glu Gln Gln Lys Leu Thr Ala Lys Ala Gly Trp Ala
 195 200 205

Glu Val Lys Gln Glu Glu Ile Glu Lys Tyr Ala Gly Asp Tyr Ile Val
 210 215 220

Ser Thr Ser Glu Gly Lys Pro Thr Pro Gly Tyr Glu Ser Thr Asn Met
 225 230 235 240

Trp Lys Asn Leu Lys Ala Thr Lys Glu Gly His Ile Val Lys Val Asp
 245 250 255

Ala Gly Thr Tyr Trp Tyr Asn Asp Pro Tyr Thr Leu Asp Phe Met Arg
 260 265 270

Lys Asp Leu Lys Glu Lys Leu Ile Lys Ala Ala Lys

275

280

ES 2 769 647 T3

<210> 35
 <211> 103
 <212> PRT
 <213> *Staphylococcus aureus*

5 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (30)..(30)
 <223> Cualquier aminoácido que carezca de un tiol libre o esté ausente

10 <400> 35

```

Gly Gly Tyr Lys Gly Ile Lys Ala Asp Gly Gly Lys Val Asp Gln Ala
1          5          10          15

Lys Gln Leu Ala Ala Lys Thr Ala Lys Asp Ile Glu Ala Xaa Gln Lys
          20          25          30

Gln Thr Gln Gln Leu Ala Glu Tyr Ile Glu Gly Ser Asp Trp Glu Gly
          35          40          45

Gln Phe Ala Asn Lys Val Lys Asp Val Leu Leu Ile Met Ala Lys Phe
          50          55          60

Gln Glu Glu Leu Val Gln Pro Met Ala Asp His Gln Lys Ala Ile Asp
65          70          75          80

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

Gly Leu Asp Arg Val Asn Pro
          100
  
```

15 <210> 36
 <211> 231
 <212> PRT
 <213> *Staphylococcus aureus*
 <400> 36

ES 2 769 647 T3

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

Ser Met Tyr Pro Ile Lys Asn Leu Glu Asp Leu Tyr Asp Lys Glu Gly
20 25 30

Tyr Arg Asp Asp Gln Phe Asp Lys Asn Asp Lys Gly Thr Trp Ile Ile
35 40 45

Asn Ser Glu Met Val Ile Gln Pro Asn Asn Glu Asp Met Val Ala Lys
50 55 60

Gly Met Val Leu Tyr Met Asn Arg Asn Thr Lys Thr Thr Asn Gly Tyr
65 70 75 80

Tyr Tyr Val Asp Val Thr Lys Asp Glu Asp Glu Gly Lys Pro His Asp
85 90 95

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

Thr Lys Glu Ile Lys Asp Glu Lys Ile Lys Lys Glu Ile Glu Asn Phe
115 120 125

Lys Phe Phe Val Gln Tyr Gly Asp Phe Lys Asn Leu Lys Asn Tyr Lys
130 135 140

Asp Gly Asp Ile Ser Tyr Asn Pro Glu Val Pro Ser Tyr Ser Ala Lys
145 150 155 160

Tyr Gln Leu Thr Asn Asp Asp Tyr Asn Val Lys Gln Leu Arg Lys Arg
165 170 175

Tyr Asp Ile Pro Thr Ser Lys Ala Pro Lys Leu Leu Leu Lys Gly Ser
180 185 190

Gly Asn Leu Lys Gly Ser Ser Val Gly Tyr Lys Asp Ile Glu Phe Thr
195 200 205

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

Tyr Lys Lys Ser Gly Asp Val
225 230

<210> 37
<211> 287
<212> PRT
<213> *Staphylococcus aureus*

ES 2 769 647 T3

<400> 37

Met Ala Ser Gly Asn Gln Gly Glu Lys Asn Asn Lys Ala Glu Thr Lys
1 5 10 15

Ser Tyr Lys Met Asp Asp Gly Lys Thr Val Asp Ile Pro Lys Asp Pro
20 25 30

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

ES 2 769 647 T3

Leu Gly Ala Asn Ile Val Ala Val Asn Gln Gln Val Asp Gln Ser Lys
50 55 60

Val Leu Lys Asp Lys Phe Lys Gly Val Thr Lys Ile Gly Asp Gly Asp
65 70 75 80

Val Glu Lys Val Ala Lys Glu Lys Pro Asp Leu Ile Ile Val Tyr Ser
85 90 95

Thr Asp Lys Asp Ile Lys Lys Tyr Gln Lys Val Ala Pro Thr Val Val
100 105 110

Val Asp Tyr Asn Lys His Lys Tyr Leu Glu Gln Gln Glu Met Leu Gly
115 120 125

Lys Ile Val Gly Lys Glu Asp Lys Val Lys Ala Trp Lys Lys Asp Trp
130 135 140

Glu Glu Thr Thr Ala Lys Asp Gly Lys Glu Ile Lys Lys Ala Ile Gly
145 150 155 160

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

Thr Tyr Gly Asp Asn Trp Gly Arg Gly Gly Glu Val Leu Tyr Gln Ala
180 185 190

Phe Gly Leu Lys Met Gln Pro Glu Gln Gln Lys Leu Thr Ala Lys Ala
195 200 205

Gly Trp Ala Glu Val Lys Gln Glu Glu Ile Glu Lys Tyr Ala Gly Asp
210 215 220

Tyr Ile Val Ser Thr Ser Glu Gly Lys Pro Thr Pro Gly Tyr Glu Ser
225 230 235 240

Thr Asn Met Trp Lys Asn Leu Lys Ala Thr Lys Glu Gly His Ile Val
245 250 255

Lys Val Asp Ala Gly Thr Tyr Trp Tyr Asn Asp Pro Tyr Thr Leu Asp
260 265 270

Phe Met Arg Lys Asp Leu Lys Glu Lys Leu Ile Lys Ala Ala Lys
275 280 285

<210> 38
<211> 206
<212> PRT
<213> *Staphylococcus aureus*
<400> 38

5

ES 2 769 647 T3

Met Ala Met Ile Lys Met Ser Pro Glu Glu Ile Arg Ala Lys Ser Gln
 1 5 10 15

Ser Tyr Gly Gln Gly Ser Asp Gln Ile Arg Gln Ile Leu Ser Asp Leu
 20 25 30

Thr Arg Ala Gln Gly Glu Ile Ala Ala Asn Trp Glu Gly Gln Ala Phe
 35 40 45

Ser Arg Phe Glu Glu Gln Phe Gln Gln Leu Ser Pro Lys Val Glu Lys
 50 55 60

Phe Ala Gln Leu Leu Glu Glu Ile Lys Gln Gln Leu Asn Ser Thr Ala
 65 70 75 80

Asp Ala Val Gln Glu Gln Asp Gln Gln Leu Ser Asn Asn Phe Gly Leu
 85 90 95

Gln Ala Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Tyr Lys Gly Ile Lys Ala Asp
 100 105 110

Gly Gly Lys Val Asp Gln Ala Lys Gln Leu Ala Ala Lys Thr Ala Lys
 115 120 125

Asp Ile Glu Ala Ala Gln Lys Gln Thr Gln Gln Leu Ala Glu Tyr Ile
 130 135 140

Glu Gly Ser Asp Trp Glu Gly Gln Phe Ala Asn Lys Val Lys Asp Val
 145 150 155 160

Leu Leu Ile Met Ala Lys Phe Gln Glu Glu Leu Val Gln Pro Met Ala
 165 170 175

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

Asp Thr Leu Ser Ile Lys Gln Gly Leu Asp Arg Val Asn Pro
 195 200 205

<210> 39
 <211> 234
 <212> PRT
 <213> *Staphylococcus aureus*
 <400> 39

Met Gly Ser Gly Ile Gly Lys Glu Ala Glu Val Lys Lys Ser Phe Glu

5

10

ES 2 769 647 T3

```

1           5           10           15

Lys Thr Leu Ser Met Tyr Pro Ile Lys Asn Leu Glu Asp Leu Tyr Asp
                20                25                30

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

Trp Ile Ile Asn Ser Glu Met Val Ile Gln Pro Asn Asn Glu Asp Met
                50                55                60

Val Ala Lys Gly Met Val Leu Tyr Met Asn Arg Asn Thr Lys Thr Thr
                65                70                75                80

Asn Gly Tyr Tyr Tyr Val Asp Val Thr Lys Asp Glu Asp Glu Gly Lys
                85                90                95

Pro His Asp Asn Glu Lys Arg Tyr Pro Val Lys Met Val Asp Asn Lys
                100                105                110

Ile Ile Pro Thr Lys Glu Ile Lys Asp Glu Lys Ile Lys Lys Glu Ile
                115                120                125

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

Asn Tyr Lys Asp Gly Asp Ile Ser Tyr Asn Pro Glu Val Pro Ser Tyr
                145                150                155                160

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

Arg Lys Arg Tyr Asp Ile Pro Thr Ser Lys Ala Pro Lys Leu Leu Leu
                180                185                190

Lys Gly Ser Gly Asn Leu Lys Gly Ser Ser Val Gly Tyr Lys Asp Ile
                195                200                205

Glu Phe Thr Phe Val Glu Lys Lys Glu Glu Asn Ile Tyr Phe Ser Asp
                210                215                220

Ser Leu Asp Tyr Lys Lys Ser Gly Asp Val
                225                230

```

<210> 40
 <211> 205
 <212> PRT
 <213> *Staphylococcus aureus*
 <220>

5

ES 2 769 647 T3

<221> MOD_RES
 <222> (132)..(132)
 <223> Cualquier aminoácido que carezca de un tiol libre o esté ausente

<400> 40

5

```

Ala Met Ile Lys Met Ser Pro Glu Glu Ile Arg Ala Lys Ser Gln Ser
1           5           10           15

Tyr Gly Gln Gly Ser Asp Gln Ile Arg Gln Ile Leu Ser Asp Leu Thr
          20           25           30

Arg Ala Gln Gly Glu Ile Ala Ala Asn Trp Glu Gly Gln Ala Phe Ser
          35           40           45

Arg Phe Glu Glu Gln Phe Gln Gln Leu Ser Pro Lys Val Glu Lys Phe
50           55           60

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

Ala Val Gln Glu Gln Asp Gln Gln Leu Ser Asn Asn Phe Gly Leu Gln
          85           90           95

Ala Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Tyr Lys Gly Ile Lys Ala Asp Gly
          100          105          110

Gly Lys Val Asp Gln Ala Lys Gln Leu Ala Ala Lys Thr Ala Lys Asp
          115          120          125

Ile Glu Ala Xaa Gln Lys Gln Thr Gln Gln Leu Ala Glu Tyr Ile Glu
130          135          140

Gly Ser Asp Trp Glu Gly Gln Phe Ala Asn Lys Val Lys Asp Val Leu
145          150          155          160

Leu Ile Met Ala Lys Phe Gln Glu Glu Leu Val Gln Pro Met Ala Asp
          165          170          175

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

Thr Leu Ser Ile Lys Gln Gly Leu Asp Arg Val Asn Pro
          195          200          205
    
```

<210> 41
 <211> 26
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>

10

<221> fuente
 <223> /nota=" Descripción de secuencia artificial: oligonucleótido inmunoestimulante sintético"

5 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (1)..(1)
 <223> Inosina

10 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (3)..(3)
 <223> Inosina

15 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (5)..(5)
 <223> Inosina

20 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (7)..(7)
 <223> Inosina

25 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (9)..(9)
 <223> Inosina

30 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (11)..(11)
 <223> Inosina

35 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (13)..(13)
 <223> Inosina

40 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (15)..(15)
 <223> Inosina

45 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (17)..(17)
 <223> Inosina

50 <220>
 <221> base_modificada
 <222> (19)..(19)
 <223> Inosina

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (21)..(21)
 <223> Inosina

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (23)..(23)
 <223> Inosina

<220>
 <221> base_modificada
 <222> (25)..(25)
 <223> Inosina

ES 2 769 647 T3

<400> 41
 ncnncncnc ncnnc 26

5 <210> 42
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 10 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: oligopéptido catiónico sintético "
 <400> 42

Lys Leu Lys Leu Leu Leu Leu Lys Leu Lys
 1 5 10

15 <210> 43
 <211> 516
 <212> PRT
 <213> *Staphylococcus aureus*

20 <400> 43

Met Lys Lys Lys Asn Ile Tyr Ser Ile Arg Lys Leu Gly Val Gly Ile
 1 5 10 15

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

Ala Ala Asn Ala Ala Gln His Asp Glu Ala Gln Gln Asn Ala Phe Tyr
 35 40 45

Gln Val Leu Asn Met Pro Asn Leu Asn Ala Asp Gln Arg Asn Gly Phe
 50 55 60

Ile Gln Ser Leu Lys Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Val Leu Gly
 65 70 75 80

Glu Ala Gln Lys Leu Asn Asp Ser Gln Ala Pro Lys Ala Asp Ala Gln
 85 90 95

Gln Asn Asn Phe Asn Lys Asp Gln Gln Ser Ala Phe Tyr Glu Ile Leu
 100 105 110

ES 2 769 647 T3

Asn Met Pro Asn Leu Asn Glu Ala Gln Arg Asn Gly Phe Ile Gln Ser
 115 120 125
 Leu Lys Asp Asp Pro Ser Gln Ser Thr Asn Val Leu Gly Glu Ala Lys
 130 135 140
 Lys Leu Asn Glu Ser Gln Ala Pro Lys Ala Asp Asn Asn Phe Asn Lys
 145 150 155 160
 Glu Gln Gln Asn Ala Phe Tyr Glu Ile Leu Asn Met Pro Asn Leu Asn
 165 170 175
 Glu Glu Gln Arg Asn Gly Phe Ile Gln Ser Leu Lys Asp Asp Pro Ser
 180 185 190
 Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ser Glu Ala Lys Lys Leu Asn Glu Ser Gln
 195 200 205
 Ala Pro Lys Ala Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Gln Gln Asn Ala Phe
 210 215 220
 Tyr Glu Ile Leu His Leu Pro Asn Leu Asn Glu Glu Gln Arg Asn Gly
 225 230 235 240
 Phe Ile Gln Ser Leu Lys Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu
 245 250 255
 Ala Glu Ala Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys Ala Asp Asn
 260 265 270
 Lys Phe Asn Lys Glu Gln Gln Asn Ala Phe Tyr Glu Ile Leu His Leu
 275 280 285
 Pro Asn Leu Thr Glu Glu Gln Arg Asn Gly Phe Ile Gln Ser Leu Lys
 290 295 300
 Asp Asp Pro Ser Val Ser Lys Glu Ile Leu Ala Glu Ala Lys Lys Leu
 305 310 315 320
 Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys Glu Glu Asp Asn Asn Lys Pro Gly Lys
 325 330 335
 Glu Asp Asn Asn Lys Pro Gly Lys Glu Asp Asn Asn Lys Pro Gly Lys
 340 345 350
 Glu Asp Asn Asn Lys Pro Gly Lys Glu Asp Asn Asn Lys Pro Gly Lys
 355 360 365

ES 2 769 647 T3

Glu Asp Gly Asn Lys Pro Gly Lys Glu Asp Asn Lys Lys Pro Gly Lys
 370 375 380

Glu Asp Gly Asn Lys Pro Gly Lys Glu Asp Asn Lys Lys Pro Gly Lys
 385 390 395 400

Glu Asp Gly Asn Lys Pro Gly Lys Glu Asp Gly Asn Lys Pro Gly Lys
 405 410 415

Glu Asp Gly Asn Gly Val His Val Val Lys Pro Gly Asp Thr Val Asn
 420 425 430

Asp Ile Ala Lys Ala Asn Gly Thr Thr Ala Asp Lys Ile Ala Ala Asp
 435 440 445

Asn Lys Leu Ala Asp Lys Asn Met Ile Lys Pro Gly Gln Glu Leu Val
 450 455 460

Val Asp Lys Lys Gln Pro Ala Asn His Ala Asp Ala Asn Lys Ala Gln
 465 470 475 480

Ala Leu Pro Glu Thr Gly Glu Glu Asn Pro Phe Ile Gly Thr Thr Val
 485 490 495

Phe Gly Gly Leu Ser Leu Ala Leu Gly Ala Ala Leu Leu Ala Gly Arg
 500 505 510

Arg Arg Glu Leu
 515

- <210> 44
- <211> 291
- 5 <212> PRT
- <213> *Staphylococcus aureus*
- <220>
- <221> MOD_RES
- <222> (7)..(8)
- 10 <223> Cualquier aminoácido excepto Gln
- <220>
- <221> MOD_RES
- <222> (34)..(35)
- <223> Cualquier aminoácido excepto Asp
- 15 <220>
- <221> MOD_RES
- <222> (68)..(69)
- <223> Cualquier aminoácido excepto Gln
- 20 <220>
- <221> MOD_RES
- <222> (95)..(96)
- <223> Cualquier aminoácido excepto Asp
- <220>

ES 2 769 647 T3

<221> MOD_RES
 <222> (126)..(127)
 <223> Cualquier aminoácido excepto Gln

 <220>
 5 <221> MOD_RES
 <222> (153)..(154)
 <223> Cualquier aminoácido excepto Asp

 <220>
 10 <221> MOD_RES
 <222> (184)..(185)
 <223> Cualquier aminoácido excepto Gln

 <220>
 15 <221> MOD_RES
 <222> (211)..(212)
 <223> Cualquier aminoácido excepto Asp

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (242)..(243)
 <223> Cualquier aminoácido excepto Gln

 20 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (269)..(270)
 <223> Cualquier aminoácido excepto Asp

 <400> 44
 25

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

ES 2 769 647 T3

Ser Gln Ala Pro Lys Ala Asp Asn Asn Phe Asn Lys Glu Xaa Xaa Asn
 115 120 125

Ala Phe Tyr Glu Ile Leu Asn Met Pro Asn Leu Asn Glu Glu Gln Arg
 130 135 140

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

Leu Leu Ser Glu Ala Lys Lys Leu Asn Glu Ser Gln Ala Pro Lys Ala
 165 170 175

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

His Leu Pro Asn Leu Asn Glu Glu Gln Arg Asn Gly Phe Ile Gln Ser
 195 200 205

Leu Lys Xaa Xaa Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala Lys
 210 215 220

Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys Ala Asp Asn Lys Phe Asn Lys
 225 230 235 240

Glu Xaa Xaa Asn Ala Phe Tyr Glu Ile Leu His Leu Pro Asn Leu Thr
 245 250 255

Glu Glu Gln Arg Asn Gly Phe Ile Gln Ser Leu Lys Xaa Xaa Pro Ser
 260 265 270

Val Ser Lys Glu Ile Leu Ala Glu Ala Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln
 275 280 285

Ala Pro Lys
 290

<210> 45
 <211> 291
 <212> PRT
 <213> *Staphylococcus aureus*
 <400> 45

5

Ala Gln His Asp Glu Ala Lys Lys Asn Ala Phe Tyr Gln Val Leu Asn
 1 5 10 15

Met Pro Asn Leu Asn Ala Asp Gln Arg Asn Gly Phe Ile Gln Ser Leu
 20 25 30

Lys Ala Ala Pro Ser Gln Ser Ala Asn Val Leu Gly Glu Ala Gln Lys

ES 2 769 647 T3

<210> 46
 <211> 291
 <212> PRT
 <213> *Staphylococcus aureus*

5 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (60)..(61)
 <223> Cualquier aminoácido excepto Gln

10 <400> 46

```

Ala Gln His Asp Glu Ala Lys Lys Asn Ala Phe Tyr Gln Val Leu Asn
 1              5              10              15

Met Pro Asn Leu Asn Ala Asp Gln Arg Asn Gly Phe Ile Gln Ser Leu
          20              25              30

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

Leu Asn Asp Ser Gln Ala Pro Lys Ala Asp Ala Xaa Xaa Asn Asn Phe
 50              55              60

Asn Lys Asp Lys Lys Ser Ala Phe Tyr Glu Ile Leu Asn Met Pro Asn
65              70              75              80

Leu Asn Glu Ala Gln Arg Asn Gly Phe Ile Gln Ser Leu Lys Ala Ala
          85              90              95

Pro Ser Gln Ser Thr Asn Val Leu Gly Glu Ala Lys Lys Leu Asn Glu
          100             105             110

Ser Gln Ala Pro Lys Ala Asp Asn Asn Phe Asn Lys Glu Lys Lys Asn
          115             120             125

Ala Phe Tyr Glu Ile Leu Asn Met Pro Asn Leu Asn Glu Glu Gln Arg
          130             135             140

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

Leu Leu Ser Glu Ala Lys Lys Leu Asn Glu Ser Gln Ala Pro Lys Ala
          165             170             175

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

ES 2 769 647 T3

His Leu Pro Asn Leu Asn Glu Glu Gln Arg Asn Gly Phe Ile Gln Ser
 195 200 205

Leu Lys Ala Ala Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala Lys
 210 215 220

Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys Ala Asp Asn Lys Phe Asn Lys
 225 230 235 240

Glu Lys Lys Asn Ala Phe Tyr Glu Ile Leu His Leu Pro Asn Leu Thr
 245 250 255

Glu Glu Gln Arg Asn Gly Phe Ile Gln Ser Leu Lys Ala Ala Pro Ser
 260 265 270

Val Ser Lys Glu Ile Leu Ala Glu Ala Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln
 275 280 285

Ala Pro Lys
 290

<210> 47
 <211> 291
 <212> PRT
 <213> *Staphylococcus aureus*
 <400> 47

5

Ala Gln His Asp Glu Ala Lys Lys Asn Ala Phe Tyr Gln Val Leu Asn
 1 5 10 15

Met Pro Asn Leu Asn Ala Asp Gln Arg Asn Gly Phe Ile Gln Ser Leu
 20 25 30

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

Leu Asn Asp Ser Gln Ala Pro Lys Ala Asp Ala Lys Arg Asn Asn Phe
 50 55 60

Asn Lys Asp Lys Lys Ser Ala Phe Tyr Glu Ile Leu Asn Met Pro Asn
 65 70 75 80

Leu Asn Glu Ala Gln Arg Asn Gly Phe Ile Gln Ser Leu Lys Ala Ala
 85 90 95

Pro Ser Gln Ser Thr Asn Val Leu Gly Glu Ala Lys Lys Leu Asn Glu
 100 105 110

ES 2 769 647 T3

Ser Gln Ala Pro Lys Ala Asp Asn Asn Phe Asn Lys Glu Lys Lys Asn
 115 120 125

Ala Phe Tyr Glu Ile Leu Asn Met Pro Asn Leu Asn Glu Glu Gln Arg
 130 135 140

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

Leu Leu Ser Glu Ala Lys Lys Leu Asn Glu Ser Gln Ala Pro Lys Ala
 165 170 175

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

His Leu Pro Asn Leu Asn Glu Glu Gln Arg Asn Gly Phe Ile Gln Ser
 195 200 205

Leu Lys Ala Ala Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala Lys
 210 215 220

Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys Ala Asp Asn Lys Phe Asn Lys
 225 230 235 240

Glu Lys Lys Asn Ala Phe Tyr Glu Ile Leu His Leu Pro Asn Leu Thr
 245 250 255

Glu Glu Gln Arg Asn Gly Phe Ile Gln Ser Leu Lys Ala Ala Pro Ser
 260 265 270

Val Ser Lys Glu Ile Leu Ala Glu Ala Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln
 275 280 285

Ala Pro Lys
 290

<210> 48
 <211> 292
 <212> PRT
 <213> *Staphylococcus aureus*
 <400> 48

5

Met Ala Gln His Asp Glu Ala Lys Lys Asn Ala Phe Tyr Gln Val Leu
 1 5 10 15

Asn Met Pro Asn Leu Asn Ala Asp Gln Arg Asn Gly Phe Ile Gln Ser
 20 25 30

Leu Lys Ala Ala Pro Ser Gln Ser Ala Asn Val Leu Gly Glu Ala Gln

<210> 49
 <211> 291
 <212> PRT
 <213> *Staphylococcus aureus*

5

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (7)..(8)
 <223> Cualquier aminoácido excepto Gln

10

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (34)..(35)
 <223> Cualquier aminoácido excepto Asp

15

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (60)..(61)
 <223> Cualquier aminoácido excepto Gln

20

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (68)..(69)
 <223> Cualquier aminoácido excepto Gln

25

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (95)..(96)
 <223> Cualquier aminoácido excepto Asp

30

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (126)..(127)
 <223> Cualquier aminoácido excepto Gln

35

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (153)..(154)
 <223> Cualquier aminoácido excepto Asp

40

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (184)..(185)
 <223> Cualquier aminoácido excepto Gln

45

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (211)..(212)
 <223> Cualquier aminoácido excepto Asp

50

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (242)..(243)
 <223> Cualquier aminoácido excepto Gln

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (269)..(270)
 <223> Cualquier aminoácido excepto Asp

<400> 49

ES 2 769 647 T3

Ala Gln His Asp Glu Ala Xaa Xaa Asn Ala Phe Tyr Gln Val Leu Asn
1 5 10 15

Met Pro Asn Leu Asn Ala Asp Gln Arg Asn Gly Phe Ile Gln Ser Leu
20 25 30

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

Leu Asn Asp Ser Gln Ala Pro Lys Ala Asp Ala Xaa Xaa Asn Asn Phe
50 55 60

Asn Lys Asp Xaa Xaa Ser Ala Phe Tyr Glu Ile Leu Asn Met Pro Asn
65 70 75 80

Leu Asn Glu Ala Gln Arg Asn Gly Phe Ile Gln Ser Leu Lys Xaa Xaa
85 90 95

Pro Ser Gln Ser Thr Asn Val Leu Gly Glu Ala Lys Lys Leu Asn Glu
100 105 110

Ser Gln Ala Pro Lys Ala Asp Asn Asn Phe Asn Lys Glu Xaa Xaa Asn
115 120 125

Ala Phe Tyr Glu Ile Leu Asn Met Pro Asn Leu Asn Glu Glu Gln Arg
130 135 140

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

Leu Leu Ser Glu Ala Lys Lys Leu Asn Glu Ser Gln Ala Pro Lys Ala
165 170 175

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

His Leu Pro Asn Leu Asn Glu Glu Gln Arg Asn Gly Phe Ile Gln Ser
195 200 205

Leu Lys Xaa Xaa Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu Ala Lys
210 215 220

Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys Ala Asp Asn Lys Phe Asn Lys
225 230 235 240

ES 2 769 647 T3

Glu Xaa Xaa Asn Ala Phe Tyr Glu Ile Leu His Leu Pro Asn Leu Thr
 245 250 255

Glu Glu Gln Arg Asn Gly Phe Ile Gln Ser Leu Lys Xaa Xaa Pro Ser
 260 265 270

Val Ser Lys Glu Ile Leu Ala Glu Ala Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln
 275 280 285

Ala Pro Lys
 290

5 <210> 50
 <211> 67
 <212> PRT
 <213> *Staphylococcus aureus*

10 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (7)..(8)
 <223> Cualquier aminoácido excepto Gln

15 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (34)..(35)
 <223> Cualquier aminoácido excepto Asp

20 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (60)..(61)
 <223> Cualquier aminoácido excepto Gln

<400> 50

Ala Gln His Asp Glu Ala Xaa Xaa Asn Ala Phe Tyr Gln Val Leu Asn
 1 5 10 15

Met Pro Asn Leu Asn Ala Asp Gln Arg Asn Gly Phe Ile Gln Ser Leu
 20 25 30

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

Leu Asn Asp Ser Gln Ala Pro Lys Ala Asp Ala Xaa Xaa Asn Asn Phe
 50 55 60

Asn Lys Asp
 65

25 <210> 51
 <211> 67
 <212> PRT
 <213> *Staphylococcus aureus*

ES 2 769 647 T3

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (7)..(8)
 <223> Cualquier aminoácido excepto Gln

5 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (34)..(35)
 <223> Cualquier aminoácido excepto Asp

10 <400> 51

```

Ala Gln His Asp Glu Ala Xaa Xaa Asn Ala Phe Tyr Gln Val Leu Asn
 1                5                10                15

Met Pro Asn Leu Asn Ala Asp Gln Arg Asn Gly Phe Ile Gln Ser Leu
          20                25                30

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

Leu Asn Asp Ser Gln Ala Pro Lys Ala Asp Ala Lys Arg Asn Asn Phe
 50                55                60

Asn Lys Asp
65
    
```

15 <210> 52
 <211> 67
 <212> PRT
 <213> *Staphylococcus aureus*

<400> 52

```

Ala Gln His Asp Glu Ala Lys Lys Asn Ala Phe Tyr Gln Val Leu Asn
 1                5                10                15

Met Pro Asn Leu Asn Ala Asp Gln Arg Asn Gly Phe Ile Gln Ser Leu
          20                25                30

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

Leu Asn Asp Ser Gln Ala Pro Lys Ala Asp Ala Lys Arg Asn Asn Phe
 50                55                60

Asn Lys Asp
65
    
```

20 <210> 53
 <211> 68
 <212> PRT

ES 2 769 647 T3

<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 53

```

Met Ala Gln His Asp Glu Ala Lys Lys Asn Ala Phe Tyr Gln Val Leu
1                               5                               10                               15

Asn Met Pro Asn Leu Asn Ala Asp Gln Arg Asn Gly Phe Ile Gln Ser
                20                               25                               30

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

Lys Leu Asn Asp Ser Gln Ala Pro Lys Ala Asp Ala Lys Arg Asn Asn
    50                               55                               60

Phe Asn Lys Asp
65

```

5

<210> 54

<211> 67

<212> PRT

<213> *Staphylococcus aureus*

10

<400> 54

```

Ala Gln His Asp Glu Ala Gln Gln Asn Ala Phe Tyr Gln Val Leu Asn
1                               5                               10                               15

Met Pro Asn Leu Asn Ala Asp Gln Arg Asn Gly Phe Ile Gln Ser Leu
                20                               25                               30

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

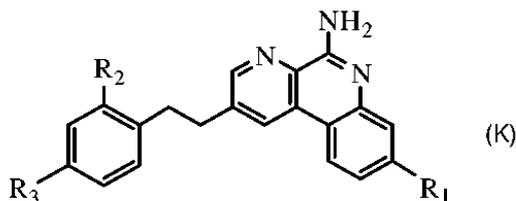
Leu Asn Asp Ser Gln Ala Pro Lys Ala Asp Ala Gln Gln Asn Asn Phe
    50                               55                               60

Asn Lys Asp
65

```

REIVINDICACIONES

1. Un antígeno SpA mutante que comprende una secuencia de aminoácidos que comprende o que consiste en la SEQ ID NO: 49, en que los dipéptidos XX en las posiciones 7-8, 60-61, 68-69, 126-127, 184-185 y 242-243 de la SEQ ID NO: 49 son KK, RR, RK o KR, y los dipéptidos XX en las posiciones 34-35, 95-96, 153-154, 211-212 y 269-270 de la SEQ ID NO: 49 son AA..
2. Un antígeno SpA mutante de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el dipéptido en las posiciones 60 y 61 es KK o KR.
3. Un antígeno SpA mutante de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que dicha secuencia de aminoácidos es la SEQ ID NO: 47.
4. Un antígeno SpA mutante de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el antígeno induce anticuerpos en un mamífero que reconocen la SEQ ID NO: 43 y/o la SEQ ID NO: 54.
5. Un antígeno SpA mutante de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que tiene afinidad disminuida, con respecto a SpA no modificada, por la porción Fc γ de IgG humana.
6. Un antígeno SpA mutante de acuerdo con la reivindicación 5, que tiene afinidad disminuida, con respecto a SpA no modificada, por la porción Fab de receptores de linfocitos B humanos que contienen V H 3.
7. Un antígeno SpA mutante de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, que comprende la SEQ ID NO: 48.
8. Una proteína de fusión que comprende un antígeno SpA mutante de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.
9. Una composición inmunogénica que comprende un antígeno SpA mutante de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 o una proteína de fusión de acuerdo con la reivindicación 8.
10. Una composición inmunogénica de acuerdo con la reivindicación 9, que comprende adicionalmente al menos un antígeno seleccionado del grupo que consiste en antígenos EsxA, EsxB, FhuD2, Sta011 y Hla.
11. Una composición inmunogénica que comprende un antígeno SpA mutante que comprende una secuencia que tiene el 90 % o más de identidad con los aminoácidos 37-325 de la SEQ ID NO: 43, en la que todos los dipéptidos QQ están mutados a KK, RK o KR y todos los dipéptidos DD están mutados a AA; en el que el antígeno SpA mutante tiene una afinidad disminuida, con respecto a SpA no modificada, por la porción Fc γ de IgG humana y por la porción Fab de receptores de linfocitos B humanos que contienen V H 3.
12. Una composición inmunogénica de acuerdo con la reivindicación 11, que comprende adicionalmente al menos un antígeno seleccionado del grupo que consiste en antígenos EsxA, EsxB, FhuD2, Sta011 y Hla.
13. La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 12, en la que la composición también comprende un adyuvante; en la que dicho adyuvante se selecciona opcionalmente del grupo que consiste en:
 - sales de aluminio, particularmente hidróxidos de aluminio y fosfatos de aluminio,
 - agonistas de TLR humano, particularmente agonistas de TLR7,
 - una emulsión de aceite en agua,
 - una formulación de saponina,
 - un derivado no tóxico de LPS enterobacteriano, particularmente MPL (monofosforil lípido A (MPL) o 3d-MPL (monofosforil lípido A 3- O-desacetilado),
 - un derivado de lípido A;
 y
 - una mezcla de los mismos;
 en la que dicho agonista de TLR7 es opcionalmente un compuesto de la siguiente fórmula (K):



en la que:

- R^1 es H, alquilo C_1-C_6 , $-C(R^5)_2OH$, $-L^1R^5$, $-L^1R^6$, $-L^2R^5$, $-L^2R^6$, $-OL^2R^5$ o $-OL^2R^6$;
 L^1 es $-C(O)-$ o $-O-$;
 L^2 es alquileno C_1-C_6 , alquenileno C_2-C_6 , arileno, heteroarileno o $-((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p-$, en la que el alquileno C_1-C_6 y alquenileno C_2-C_6 de L^2 se sustituyen opcionalmente con de 1 a 4 grupos fluoro;
 5 cada L^3 se selecciona independientemente de alquileno C_1-C_6 y $-((CR^4R^4)_pO)_q(CH_2)_p-$, en la que el alquileno C_1-C_6 de L^3 se sustituye opcionalmente con de 1 a 4 grupos fluoro;
 L^4 es arileno o heteroarileno;
 R^2 es H o alquilo C_1-C_6 ;
 R^3 se selecciona de alquilo C_1-C_4 , $-L^3R^5$, $-L^1R^5$, $-L^3R^7$, $-L^3L^4L^3R^7$, $-L^3L^4R^5$, $-L^3L^4L^3R^5$, $-OL^3R^5$, $-OL^3R^7$,
 10 $-OL^3L^4R^7$, $-OL^3L^4L^3R^7$, $-OR^8$, $-OL^3L^4R^5$, $-OL^3L^4L^3R^5$ y $-C(R^5)_2OH$;
 cada R^4 se selecciona independientemente de H y fluoro;
 R^5 es $-P(O)(OR^9)_2$,
 R^6 es $-CF_2P(O)(OR^9)_2$ o $-C(O)OR^{10}$;
 R^7 es $-CF_2P(O)(OR^9)_2$ o $-C(O)OR^{10}$;
 15 R^8 es H o alquilo C_1-C_4 ;
 cada R^9 se selecciona independientemente de H y alquilo C_1-C_6 ;
 R^{10} es H o alquilo C_1-C_4 ;
 cada p se selecciona independientemente de 1, 2, 3, 4, 5 y 6, y
 q es 1, 2, 3 o 4;
- 20 particularmente ácido 3-(5-amino-2-(2-metil-4-(2-(2-(2-fosfonoetoxi)etoxi)etoxi)fenetil)benzo[f][1,7]naftiridin-8-il)propanoico (K1).
14. La composición de acuerdo con la reivindicación 13, en la que el adyuvante comprende un agonista de TLR humano adsorbido en una sal de aluminio.
- 25 15. La composición inmunogénica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 14, para su uso como un medicamento.
16. La composición inmunogénica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 15, para uso como un medicamento en la prevención y/o el tratamiento de una infección por *S. aureus*, opcionalmente en un ser humano.