

REIVINDICACIONES

1. Un constructo de fusión de fórmula (I):

X-A-ligante-B-Z (I)

en la cual :

(1) A y B son idénticos o diferentes y son independientemente:

- (a) un polipéptido que comprende un polipéptido SACOL0029 según lo expuesto en cualquiera de las secuencias descritas en FIG. 24 (SEC ID NOs: 5 y 121 a 131), un polipéptido SACOL0264 (SEC ID NO: 185), un polipéptido SACOL0442 según lo expuesto en cualquiera de las secuencias descritas en FIG. 22D (SEC ID NOs: 29 y 82 a 92), un polipéptido SACOL0718 (SEC ID NO: 186), un polipéptido SACOL0720 según lo expuesto en cualquiera de las secuencias descritas en FIGs. 23I-K (SEC ID NOs: 11 y 109 a 120), un polipéptido SACOL1353 (SEC ID NO : 187), un polipéptido SACOL1416 (SEC ID NO : 188), un polipéptido SACOL1611 (SEC ID NO : 189), un polipéptido SACOL1867 según lo expuesto en cualquiera de las secuencias descritas en FIG. 25D (SEC ID NOs: 152 a 164), un polipéptido SACOL1912 (SEC ID NO : 43), un polipéptido SACOL1944 (SEC ID NO : 190), un polipéptido SACOL2144 (SEC ID NO : 191), un polipéptido SACOL2365 (SEC ID NO : 192), un polipéptido SACOL2385 (SEC ID NO : 50) o un polipéptido SACOL2599 (SEC ID NO : 193), sobre la base de la nomenclatura genética del genoma COL (SACOL) de *Staphylococcus aureus* expuesto en la Secuencia de Referencia de NCBI NC_002951.2;
- (b) un polipéptido codificado por un gen de un mismo operón que un gen que codifica al polipéptido de (a);
- (c) un polipéptido que comprende un fragmento inmunogénico de por lo menos 13 aminoácidos consecutivos de (a) o (b);
- (d) un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos por lo menos 60% idéntica en su totalidad a la secuencia del polipéptido de

cualquiera de (a) a (c); o

(e) un polipéptido que comprende una variante inmunogénica que comprende por lo menos 13 aminoácidos consecutivos de cualquiera de (a) a (c);

(2) el ligante es una secuencia de aminoácidos de por lo menos un aminoácido o está ausente;

(3) X está ausente o es una secuencia de aminoácidos de por lo menos un aminoácido; y

(4) Z está ausente o es una secuencia de aminoácidos de por lo menos un aminoácido.

2. El constructo de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque (1) (a) es un polipéptido que comprende un polipéptido SACOL0029 según lo expuesto en cualquiera de las secuencias descritas en FIG. 24 (SEC ID NOs: 5 y 121 a 131), un polipéptido SACOL0442 según lo expuesto en cualquiera de las secuencias descritas en FIG. 22D (SEC ID NOs: 29 y 82 a 92), un polipéptido SACOL0720 según lo expuesto en cualquiera de las secuencias descritas en FIGs. 23I-K (SEC ID NOs: 11 y 109 a 120), o un polipéptido SACOL1867 según lo expuesto en cualquiera de las secuencias descritas en FIG. 25D (SEC ID NOs: 152 a 164).
3. El constructo de acuerdo con la reivindicación 2, caracterizado porque al menos uno de A y B es (a) un polipéptido que comprende un polipéptido SACOL0029 según lo expuesto en cualquiera de las secuencias descritas en FIG. 24 (SEC ID NOs: 5 y 121 a 131); (b) un polipéptido codificado por un gen de un mismo operón que un gen que codifica al polipéptido de (a); (c) un polipéptido que comprende un fragmento inmunogénico de por lo menos 13 aminoácidos consecutivos de (a) o (b); (d) un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos por lo menos 60% idéntica en su totalidad a la secuencia del polipéptido de cualquiera de (a) a (c); o (e) un polipéptido que comprende una variante inmunogénica que comprende por lo menos 13 aminoácidos consecutivos de cualquiera de (a) a (c); y el otro de A y B es (a') un polipéptido que comprende un polipéptido SACOL1867 según lo expuesto en cualquiera de las secuencias descritas en FIG. 25D (SEC ID NOs: 152 a 164); (b') un polipéptido codificado por un gen de un mismo operón que un gen que codifica al

polipéptido de (a'); (c') un polipéptido que comprende un fragmento inmunogénico de por lo menos 13 aminoácidos consecutivos de (a') o (b'); (d') un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos por lo menos 60% idéntica en su totalidad a la secuencia del polipéptido de cualquiera de (a') a (c'); o (e') un polipéptido que comprende una variante inmunogénica que comprende por lo menos 12 aminoácidos consecutivos de cualquiera de (a') a (c').

4. El constructo de acuerdo con la reivindicación 2, caracterizado porque al menos uno de A y B es (a) un polipéptido que comprende un polipéptido SACOL0442 según lo expuesto en cualquiera de las secuencias descritas en FIG. 22D (SEC ID NOs: 29 y 82 a 92); (b) un polipéptido codificado por un gen de un mismo operón que un gen que codifica al polipéptido de (a); (c) un polipéptido que comprende un fragmento inmunogénico de por lo menos 13 aminoácidos consecutivos de (a) o (b); (d) un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos por lo menos 60% idéntica en su totalidad a la secuencia del polipéptido de cualquiera de (a) a (c); o (e) un polipéptido que comprende una variante inmunogénica que comprende por lo menos 13 aminoácidos consecutivos de cualquiera de (a) a (d); y el otro de A y B es (a') un polipéptido que comprende un polipéptido SACOL0720 según lo expuesto en cualquiera de las secuencias descritas en FIGs. 23I-K (SEC ID NOs: 11 y 109 a 120); (b') un polipéptido codificado por un gen de un mismo operón que un gen que codifica al polipéptido de (a'); (c') un polipéptido que comprende un fragmento inmunogénico de por lo menos 13 aminoácidos consecutivos de (a') o (b'); (d') un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos por lo menos 60% idéntica en su totalidad a la secuencia del polipéptido de cualquiera de (a') a (c'); o (e') un polipéptido que comprende una variante inmunogénica que comprende por lo menos 12 aminoácidos consecutivos de cualquiera de (a') a (d').
5. El constructo de acuerdo con la reivindicación 2, caracterizado porque A y B son idénticos o diferentes y son (a) un polipéptido que comprende un polipéptido SACOL0720 según lo expuesto en cualquiera de las secuencias descritas en FIGs. 23I-K (SEC ID NOs: 11 y 109 a 120); (b) un polipéptido codificado por un gen de un mismo operón que un gen que codifica al polipéptido de (a); (c) un polipéptido que comprende un fragmento inmunogénico de por lo menos 13 aminoácidos consecutivos

de (a) o (b); (d) un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos por lo menos 60% idéntica en su totalidad a la secuencia del polipéptido de cualquiera de (a) a (c); o (e) un polipéptido que comprende una variante inmunogénica que comprende por lo menos 13 aminoácidos consecutivos de cualquiera de (a) a (d).

6. El constructo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-2 y 4, caracterizado porque dicho fragmento inmunogénico (d) comprende una o más de las siguientes secuencias de aminoácidos: KDTINGKSNKSRNW (SEC ID NO: 34); y KDGGKYTLESHKELQ (SEC ID NO: 1).
7. El constructo de acuerdo con la reivindicación 6, caracterizado porque dicho fragmento inmunogénico (d) comprende una o más de las siguientes secuencias de aminoácidos : STQNSSSVQDKQLQKVEEVPNNSEKALVKKLYDRYSKDTINGKSNKSRNWVYSERPL NENQVRIHLEGTYTVAGRVYTPKRNITLNKEVVTLKELDHIIRFAHISYGLYMGEHLPKG NIVINTKDGGKYTLESHKELQKDRENVKINTADIKNVTFKLVKSVNDIEQV (SEC ID NO: 30);
DKQLQKVEEVPNNSEKALVKKLYDRYSKDTINGKSNKSRNWVYSERPLNENQVRIHLE GTYTVAGRVYTPKRNITLNKEVVTLKELDHIIRFAHISYGLYMGEHLPKGNIVINTK (SEC ID NO :32); y
DKQLQKVEEVPNNSEKALVKKLYDRYSKDTINGKSNKSRNWVYSERPLNENQVRIHLE GTYTVAGRVYTPKRNITLNKEVVTLKELDHIIRFAHISYGLYMGEHLPKGNIVINTKDGG KYTLESHKELQKDRENVKINTADIKNVTFKLVKSVNDIEQV (SEC ID NO : 33).
8. El constructo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-2 y 4-5, caracterizado porque dicho fragmento inmunogénico (d) comprende una o más de las siguientes secuencias de aminoácidos: QFGFDLKHKKDALA (SEC ID NO: 21); TIKDQQKANQLAS (SEC ID NO: 22); KDINKIYFMTDVDL (SEC ID NO: 23); y DVDLGGPTFVLND (SEC ID NO: 24).
9. El constructo de acuerdo con la reivindicación 8, caracterizado porque dicho fragmento inmunogénico (d) comprende una o más de las siguientes secuencias de aminoácidos: RASLSSEIKYTAPHDVTIKDQQKANQLASELNNQKIPHFYNYKEVIHTKLYKDNLFDVKA KEPYNVTITSDKYIPNTDLKRGQADLFVAEGSIKDLVKHKKHGKAIIGTKKHHVNIKLK DINKIYFMTDVDLGGPTFVLNDKDYQEIRKYTKAKHIVSQFGFDLKHKKDALALEKAKN KVDKSIETRSEAISSISLTG (SEC ID NO : 12);

ASLSSEIKYTAPHDVTIKDQQKANQLASELNNQKIPHFYNYKEVIHTKLYKDNLFVDVKAK
 EPYNVTITSDKYIPNTDLKRGQADLFVAEGSIKDLVKHKKHGKAIIGTKKHHVNIKLRKDI
 NKIYFMTDVDLGGPTFVLNDKDYQEIRKYTKAKHIVSQFGFDLKHKKDALALEKAKNKV
 DKSIETRSEAISSISLTG (SEC ID NO: 13);
 ASLSSEIKYTAPHDVTIKDQQKANQLASELNNQKIPHFYNYKEVIHTKLYKDNLFVDVKAK
 EPYNVTITSDKYIPNTDLKRGQADLFVAEGSIKDLVKHKKHGKAIIGTKKHHVNIKLRKDI
 NKIYFMTDVDLGGPTFVLNDKDYQE (SEC ID NO: 14);
 KDINKIYFMTDVDLGGPTFVLNDKDYQEIRKYTKAKHIVSQFGFDLKHKKDALA (SEC
 ID NO: 15); KDINKIYFMTDVDLGGPTFVLNDKDY (SEC ID NO: 17);
 KDINKIYFMTDVDLGGPTFVLNDKD (SEC ID NO: 16);
 KDINKIYFMTDVDLGGPTFVLND (SEC ID NO: 19); KHIVSQFGFDLKHKKDALA (SEC
 ID NO: 20) y SQFGFDLKHKKDALA (SEC ID NO: 18).

10. El constructo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-3, caracterizado porque dicho fragmento inmunogénico (c') comprende una o más de las siguientes secuencias de aminoácidos: PYNGVVSFKDATGF (SEC ID NO: 165); AHPNGDKGNNGGIYK (SEC ID NO: 167); SISDYPGDEDISVM (SEC ID NO: 169); RGPKGFNFNENVQA (SEC ID NO: 172); QFESTGTIKRIKDN (SEC ID NO: 175); y GNSGSPVLNSNNEV (SEC ID NO: 178).
11. El constructo de acuerdo con la reivindicación 10, caracterizado porque dicho fragmento inmunogénico (d) comprende la siguiente secuencia de aminoácidos: TQVKDTNIFPYNGVVSFKDATGFVIGKNTIITNKHVSKDYKVGDRITAHHPNGDKGNNGIYKIKSISDYPGDEDISVMNIEEQAVERGPKGFNFNENVQAFNFAKDAKVDDKIKVIGYPLPAQNSFKQFESTGTIKRIKDNILNFDAYIEPGNSGSPVLNSNNEVIGVVYGGIGKIGSEYNGAVYFTPQIKDFIQKHIEQ (SEC ID NO: 39).
12. El constructo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, caracterizado porque el ligante comprende por lo menos cuatro aminoácidos idénticos o diferentes seleccionados del grupo que consiste en glicina, serina, alanina, aspartato, glutamato y lisina.
13. El constructo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, caracterizado porque el ligante comprende (GGGGS)_n (SEC ID NO: 67), (ERKYK)_n (SEC ID NO: 61); o (EAAAK)_n (SEC ID NO: 63), donde n=1 a 5.

14. El constructo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, caracterizado porque dicha X comprende una polihistidina de 6 a 10 aminoácidos.
15. El constructo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, caracterizado porque dicha X está ausente.
16. El constructo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, caracterizado porque dicha Z está ausente.
17. Una molécula de ácido nucleico aislada caracterizada porque codifica el constructo definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16.
18. Un vector caracterizado porque comprende el ácido nucleico aislado definido en la reivindicación 17.
19. Una célula huésped caracterizada porque comprende el vector definido en la reivindicación 18.
20. La célula de acuerdo con la reivindicación 19, caracterizada porque es una forma viva atenuada de *Staphylococcus aureus*.
21. La célula de acuerdo con la reivindicación 20, caracterizada porque la forma atenuada viva de *Staphylococcus aureus* tiene un fenotipo de variante de colonias pequeñas (VCP) estabilizado.
22. La célula de acuerdo con la reivindicación 21, caracterizada porque la forma atenuada viva de *Staphylococcus aureus* que tiene un fenotipo VCP estabilizado es $\Delta hemB\Delta 720$ *S. aureus*.
23. Una composición caracterizada porque comprende:
 - (A) al menos uno de los constructos definidos en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16; al menos una de las moléculas de ácidos nucleicos definidas en la reivindicación 17; al menos uno de los vectores definidos en la reivindicación 18; o al menos una de las células definidas en cualquiera de las reivindicaciones 19 a 22;
y
 - (B) (i) un polipéptido definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11;
(ii) un *Staphylococcus aureus* vivo atenuado;
(iii) un excipiente farmacéuticamente aceptable;
(iv) un adyuvante; o
(v) una combinación de por lo menos dos de (i) a (iv).

24. La composición de acuerdo con la reivindicación 23, caracterizada porque la forma atenuada viva de *Staphylococcus aureus* expresa:

- (a) un polipéptido que comprende un polipéptido SACOL0029 según lo expuesto en cualquiera de las secuencias descritas en FIG. 24 (SEC ID NOs: 5 y 121 a 131), un polipéptido SACOL0264 (SEC ID NO: 185), un polipéptido SACOL0442 según lo expuesto en cualquiera de las secuencias descritas en FIG. 22D (SEC ID NOs: 29 y 82 a 92), un polipéptido SACOL0718 (SEC ID NO: 186), un polipéptido SACOL0720 según lo expuesto en cualquiera de las secuencias descritas en FIGs. 23I-J (SEC ID NOs: 11 y 109 a 120), un polipéptido SACOL1353 (SEC ID NO : 187), un polipéptido SACOL1416 (SEC ID NO : 188), SACOL1611 (SEC ID NO : 189), un polipéptido SACOL1867 según lo expuesto en cualquiera de las secuencias descritas en FIG. 25D (SEC ID NOs: 152 a 164), un polipéptido SACOL1912 (SEC ID NO : 43), SACOL1944 (SEC ID NO : 190), un polipéptido SACOL2144 (SEC ID NO : 191), un polipéptido SACOL2365 (SEC ID NO : 192), un polipéptido SACOL2385 (SEC ID NO : 50) o un polipéptido SACOL2599 (SEC ID NO : 193) sobre la base de la nomenclatura genética del genoma COL (SACOL) de *Staphylococcus aureus* expuesto en la Secuencia de Referencia en el NCBI NC_002951.2;
- (b) un polipéptido codificado por un gen de un mismo operón que un gen que codifica al polipéptido de (a);
- (c) un polipéptido que comprende un fragmento inmunogénico de por lo menos 13 aminoácidos consecutivos de (a) o (b);
- (d) un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos por lo menos 60% idéntica en su totalidad a la secuencia del polipéptido de cualquiera de (a) a (c);
o
- (e) un polipéptido que comprende una variante inmunogénica que comprende por lo menos 13 aminoácidos consecutivos de cualquiera de (a) a (c).

25. La composición de acuerdo con la reivindicación 23 o 24, caracterizada porque la forma atenuada viva de *Staphylococcus aureus* tiene un fenotipo de variante de colonias pequeñas (VCP) estabilizado.

26. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 23 a 25,

caracterizada porque el adyuvante comprende alumbre, un aceite, saponina, diguanosina-5'-monofosfato cíclico (c-di-GMP), polifosfasina, indolicidina, patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPS), liposoma o una combinación de por lo menos dos de los mismos.

27. Un método para prevenir y/o tratar una infección intramamaria estafilocócica (IIM) en un mamífero, caracterizado porque comprende administrar a dicho mamífero una cantidad eficaz del constructo definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16; de la molécula de ácido nucleico definida en la reivindicación 17; del vector definido en la reivindicación 18; de la célula definida en cualquiera de las reivindicaciones 19 a 22; o de la composición definida en cualquiera de las reivindicaciones 23 a 26.
28. El método de acuerdo con la reivindicación 27, caracterizado porque dicha IIM estafilocócica es causada por una o más cepas de *Staphylococcus aureus*.
29. El método de acuerdo con la reivindicación 27 o 28, caracterizado porque dicho mamífero es una vaca.
30. El uso de una cantidad eficaz de (i) el constructo definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16; (ii) la molécula de ácido nucleico definida en la reivindicación 17; (iii) el vector definido en la reivindicación 18; de la célula definida en cualquiera de las reivindicaciones 19 a 22; (iv) la composición definida en cualquiera de las reivindicaciones 23 a 26; o (v) una combinación de por lo menos dos de (i) a (iv), para prevenir y/o tratar una infección intramamaria estafilocócica (IIM) en un mamífero.
31. El uso de acuerdo con la reivindicación 30, caracterizado porque dicha IIM estafilocócica es causada por una o más cepas de *Staphylococcus aureus*.
32. El uso de acuerdo con la reivindicación 30 o 31, caracterizado porque dicho mamífero es una vaca.
33. El constructo definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16; la molécula de ácido nucleico definida en la reivindicación 17; el vector definido en la reivindicación 18; la célula definida en cualquiera de las reivindicaciones 19 a 22; la composición definida en cualquiera de las reivindicaciones 23 a 26 o una combinación de por lo menos dos de los mismos, para utilizar en la prevención y/o tratamiento de una infección intramamaria estafilocócica (IIM) en un mamífero.
34. El constructo, molécula de ácido nucleico, vector, célula, composición o combinación

de acuerdo con la reivindicación 33, caracterizado porque dicha IIM estafilocócica es causada por una o más cepas de *Staphylococcus aureus*.

35.El constructo, molécula de ácido nucleico, vector, célula o composición de acuerdo con la reivindicación 33 o 34, caracterizado porque dicho mamífero es una vaca.

36.Un kit para prevenir y/o tratar una infección intramamaria estafilocócica (IIM) en un mamífero caracterizado porque comprende:

(A) (i) al menos uno de los constructos definidos en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16; (ii) al menos una de las moléculas de ácidos nucleicos definidas en la reivindicación 17; (iii) al menos uno de los vectores definidos en la reivindicación 18; (iv) al menos una de las células definidas en cualquiera de las reivindicaciones 19 a 22; o (v) una combinación de por lo menos dos de (i) a (iv), y

(B) (i) el polipéptido definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11;

(ii) un *Staphylococcus aureus* vivo atenuado;

(iii) un excipiente farmacéuticamente aceptable;

(iv) un adyuvante;

(v) instrucciones para utilizar el kit para prevenir y/o tratar una infección intramamaria estafilocócica (IIM) en un mamífero; o

(vi) una combinación de por lo menos dos de (i) a (v).