

COMPOSICIONES PARA EL USO EN EL TRATAMIENTO DEL ACNÉ

CAMPO DE LA INVENCION

La invención está en el campo del tratamiento y la prevención de infecciones por *Cutibacterium acnes* (*C. acnes*), tales como el acné vulgar. En particular, la invención se refiere a antígenos y combinaciones de antígenos que se pueden utilizar para inmunizar contra *C. acnes*, utilizados en forma de ácidos nucleicos (p. ej., ARNm) que codifican proteínas antigénicas o en forma de antígenos de proteína recombinante.

ANTECEDENTES

Cutibacterium acnes (*C. acnes*, denominada previamente *Propionibacterium acnes*) es una bacteria grampositiva conocida por su función en trastornos cutáneos tales como el acné vulgar. *C. acnes* es un comensal de la piel que reside predominantemente en los folículos sebáceos que proporcionan un entorno rico en lípidos excepcional debido a la secreción de sebo. A parte de la piel, también se ha encontrado *C. acnes* en la conjuntiva, el aparato respiratorio, el aparato genitourinario y el tubo digestivo de los seres humanos y otros animales.

El acné es una enfermedad de las unidades pilosebáceas de la piel, que afecta a más del 85 % de los adolescentes y más del 20 % de la población sigue experimentando síntomas mucho después del periodo de la adolescencia. El acné vulgar se manifiesta con diferentes grados de gravedad: leve, moderado y grave. El acné moderado y grave suponen más de un tercio de todos los casos y necesitan tratamiento médico. El acné también puede aparecer después de la pubertad, como una afección de inicio en edad adulta, que suele asociarse con fluctuaciones hormonales que son más frecuentes en las mujeres. También se cree que *C. acnes* desempeña una función en otros tipos graves de acné, tales como acné conglobata, acné fulminante y acné quístico. Además de la patología dermatológica, también se ha detectado *C. acnes* en úlceras corneales y es una causa común de la endoftalmitis crónica después de la cirugía de cataratas. Se han asociado otras enfermedades inflamatorias diversas con *C. acnes*, que incluyen infecciones postoperatorias relacionadas con dispositivos e implantes protésicos (infecciones

asociadas a implantes), endocarditis, sarcoidosis, osteomielitis, alveolitis alérgica, angitis pulmonar, el síndrome SAPHO (sinovitis, acné, pustulosis, hiperostosis, osteítis) e inflamación de las raíces de los nervios lumbares que conduce a ciática. Unos estudios más recientes sugieren el posible papel patógeno de *C. acnes* también en enfermedades no infecciosas tales como el cáncer de próstata, debido a su capacidad de persistir intracelularmente lo cual puede conducir a la alteración de la expresión génica.

Los estudios filogenéticos basados en la secuenciación de genes de múltiples locus, así como los análisis del genoma completo de aislados del Proyecto de Microbioma Humano (HMP, por sus siglas en inglés) han proporcionado conocimientos valiosos sobre la estructura de la población genética de *C. acnes*. El tipado de secuencias de múltiples locus (MLST, por sus siglas en inglés) genera diferentes secuencias definidas como alelos distintos que se utilizan después para generar tipos de secuencias (ST, por sus siglas en inglés) para cada aislado de *C. acnes*. Se han desarrollado dos esquemas de tipado MLST diferentes que dividen *C. acnes* en grupos estrechamente relacionados IA1, IA2, IB, IC, II y III (McDowell *et al.* 2012) o I-1a, I-1b, I-2, II y III (Lomholt y Kilian 2010), según los esquemas de tipado MLST8 o MLST9, respectivamente. Ha habido alguna sugerencia de que solo las cepas de tipo IA1 deben dirigirse en el contexto de un agente terapéutico (McLaughlin *et al.* 2019 – página 23; O'Neill y Gallo 2018 – página 4, segunda columna, final del primer párrafo largo), ya que estos se aíslan más comúnmente de la piel de pacientes con acné, mientras que otros se pueden encontrar tanto en piel propensa al acné como sana. Sin embargo, también se ha demostrado la asociación de otros filotipos con el acné (documento WO2021/165543). Por ejemplo, se han aislado cepas de *C. acnes* de los filotipos IA2, IC o II a partir de lesiones inflamadas de sujetos humanos (documento WO2021/165543).

Las cepas de *C. acnes* se pueden dividir en grupos utilizando la secuenciación genómica de la secuencia de ADNr 16S que se denomina un ribotipo (RT). Este sistema permitió comparar las poblaciones de cepas de *C. acnes* en individuos basándose en las secuencias de ADNr 16S. Los 10 ribotipos principales

fueron muy abundantes mientras que también se identificaron un número significativo de ribotipos raros. De acuerdo con el análisis de los 10 ribotipos principales, se pudieron identificar asociaciones tanto específicas de la enfermedad como específicas de la salud (Fitz-Gibbon *et al.* 2013; Tomida *et al.* 2013; McLaughlin *et al.* 2019). Los tres ribotipos más abundantes (RT1, RT2 y RT3) estaban distribuidos bastante uniformemente entre los individuos con acné y normales. Sin embargo, los ribotipos RT4, RT5, RT7, RT8, RT9 y RT10 se encontraron predominantemente en los pacientes con acné, mientras que RT6 estaba fuertemente asociado con la piel normal. Un árbol filogenético basado en las posiciones de polimorfismos mononucleotídicos distintivas en el genoma central obtenido a partir de estos 71 genomas de *C. acnes* sugirió que los ribotipos de ADNr 16S representan en gran medida la relación de las estirpes, y que la secuencia de ADNr 16S es un marcador molecular útil para distinguir las estirpes principales de *C. acnes* (Fitz-Gibbon *et al.* 2013; Tomida *et al.* 2013).

Los tratamientos actuales actúan sobre uno o dos pasos de la patogénesis del acné, e incluyen el peróxido de benzoílo, los retinoides tópicos y los antibióticos tópicos u orales. A pesar de esto, la resistencia a los antibióticos supone un problema en el acné. Además, la isotretinoína oral, que se recomienda en los casos más graves, se asocia con efectos adversos, siendo el más importante la teratogenia. Se necesita una vacuna eficaz contra *C. acnes*.

DIVULGACIÓN DE LA INVENCIÓN

Los inventores del presente documento han proporcionado antígenos de *C. acnes* y combinaciones de antígenos que se pueden utilizar para inmunizar contra *C. acnes*.

En particular, los inventores demostraron que los antígenos que provienen de polipéptidos CAMP2, DsA1, DsA2 y/o PITP de *C. acnes*, solos o combinados, inducían una respuesta de anticuerpos al suministrarlos mediante ARNm que codificaban los antígenos pertinentes o en forma de polipéptidos recombinantes.

Por consiguiente, la invención proporciona polipéptidos CAMP2 de *C. acnes*, polipéptidos CAMP2 de *C. acnes* modificados, polipéptidos DsA1 de *C. acnes*,

polipéptidos DsA2 de *C. acnes*, polipéptidos PITP de *C. acnes*, polipéptidos DsA1/DsA2 de *C. acnes* quiméricos, polipéptidos DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quiméricos y polipéptidos DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quiméricos y ácidos nucleicos que comprenden una secuencia de nucleótidos que codifica dichos polipéptidos.

Los antígenos polipeptídicos descritos en el presente documento pueden suministrarse mediante, es decir, en forma de, un ácido nucleico (p. ej., ARNm) que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica dicho polipéptido o como, es decir, en forma de, una proteína recombinante.

CAMP2

El factor de Christie–Atkins–Munch–Petersen (CAMP) 2 o CAMP2 es un polipéptido que pertenece a la superfamilia de factores CAMP, cuyos miembros son famosos por sus propiedades cohemolíticas y citotóxicas. Se cree que los factores CAMP 1-5 (o CAMP1-5) de *C. acnes* son los agentes causales de una reacción cohemolítica de *C. acnes* con eritrocitos tanto ovinos como humanos (Choudhury, 1978, Sørensen *et al.*, *Journal of Microbiological Methods* (2010) 83(2):211-216). Las secuencias de aminoácidos de los factores CAMP 1-5 de *C. acnes* tienen un grado bajo de identidad de secuencia entre ellas (p. ej., en torno al 50 % para las secuencias de aminoácidos de CAMP2 y CAMP4 e incluso menos para otras). El polipéptido CAMP2 de *C. acnes* nativo es una proteína secretada.

CAMP2 se ha identificado como un posible factor de virulencia asociado al acné (Holland *et al.* (2010)). La expresión y la secreción de proteínas CAMP por parte de diferentes cepas de *C. acnes* se ha sugerido como uno de los factores que contribuyen a la resistencia de *C. acnes* a la muerte opsonofagocítica. Se ha reportado que CAMP2 fue capaz de inducir la muerte de células fagocíticas en un ensayo *in vitro* que implicaba el cocultivo con *C. acnes* (Wang *et al.*, 2018). Además, se demostró que los anticuerpos neutralizantes anti-CAMP2 disminuían significativamente la inflamación inducida por *C. acnes* en un modelo en oreja de ratón (Liu *et al.*, 2011, *Vaccine*, 29: 3230-3238).

Los inventores se han dado cuenta de que se pueden utilizar polipéptidos CAMP2 de *C. acnes* para inducir una respuesta inmunitaria contra una infección por *C. acnes*. En particular, los inventores han demostrado que los polipéptidos CAMP2 de *C. acnes* inducen una respuesta de anticuerpos (p. ej., IgG). Concretamente, los polipéptidos CAMP2 de *C. acnes* indujeron una respuesta de anticuerpos (p. ej., IgG) al suministrarlos como un ARNm que codificaba el antígeno, así como en forma de proteína recombinante. Además, los inventores demostraron que se indujo una respuesta de anticuerpos (p. ej., IgG) cuando se suministró un ARNm que codificaba un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* en una nanopartícula lipídica (LNP, por sus siglas en inglés). Los anticuerpos inducidos por polipéptidos CAMP2 de *C. acnes* redujeron la actividad cohemolítica de CAMP2. Por lo tanto, los polipéptidos CAMP2 de *C. acnes* pueden inducir anticuerpos en un sujeto, p. ej., anticuerpos que pueden neutralizar la actividad biológica del polipéptido CAMP2, tal como la actividad inflamatoria de CAMP2.

Los inventores han demostrado, por lo tanto, que los polipéptidos CAMP2 de *C. acnes* (p. ej., suministrados en forma de un ARNm que codifica el antígeno o como una proteína recombinante) son antígenos vacunales adecuados que pueden utilizarse solos, combinados con otros antígenos de *C. acnes* que se describen en el presente documento, tales como uno o más de los polipéptidos DsA1 de *C. acnes*, polipéptidos DsA2 de *C. acnes*, polipéptidos PITP de *C. acnes*, polipéptidos DsA1/DsA2 de *C. acnes* quiméricos y polipéptidos DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quiméricos (p. ej., suministrados en forma de un ARNm que codifica el antígeno o como una proteína recombinante) descritos en el presente documento, o como polipéptidos DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quiméricos. Los polipéptidos CAMP2 pueden inducir anticuerpos que neutralizan la actividad inflamatoria de CAMP2 mientras que la inmunización con uno o más de estos otros antígenos de *C. acnes* puede inducir anticuerpos que se unen a la superficie de bacterias *C. acnes* y reclutan células efectoras (p. ej., células efectoras del sistema inmunitario (p. ej., el sistema inmunitario innato) tales como fagocitos).

Por consiguiente, en un aspecto, la invención proporciona un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido CAMP2 de *C. acnes*. Normalmente, el ácido nucleico es un ARN mensajero (ARNm). En una realización preferida, el ácido nucleico es un ácido nucleico de origen no natural, p. ej., un ARNm de origen no natural. Por tanto, el ácido nucleico puede ser un ácido nucleico sintético (p. ej., un ARNm sintético). En un aspecto adicional, la invención proporciona un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes*. Un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* para el uso en la presente invención, p. ej., suministrado como un ARNm y/o en una LNP, puede inducir anticuerpos en un sujeto. Tales anticuerpos pueden neutralizar la actividad biológica del polipéptido CAMP2, tal como la actividad inflamatoria de CAMP2. Tales anticuerpos pueden neutralizar la actividad cohemolítica del polipéptido CAMP2. La neutralización de la actividad inflamatoria de CAMP2 se puede determinar como la reducción en las citocinas proinflamatorias tales como IL-1b y/o IL-6. La neutralización de la actividad cohemolítica se puede determinar en un ensayo cohemolítico *in vitro*.

La secuencia de aminoácidos de un antígeno CAMP2 de *C. acnes* nativo se proporciona en la SEQ ID NO: 202:

	<u>10</u>	<u>20</u>	<u>30</u>	<u>40</u>	<u>50</u>	<u>60</u>
20	<u>MKKTHLVAPL</u>	<u>LVGAMLVPAAL</u>	<u>LSAPSAHAVE</u>	<u>PTTTISATST</u>	<u>HELSDASDARN</u>	<u>SIQLLNIAHIA</u>
	<u>70</u>	<u>80</u>	<u>90</u>	<u>100</u>	<u>110</u>	<u>120</u>
	<u>TLQSVQKSVP</u>	<u>GSDYSQIRD</u>	<u>LLKAAFDLRG</u>	<u>LIETLAHGGI</u>	<u>PFYDPSTIMP</u>	<u>RIKLVATTID</u>
	<u>130</u>	<u>140</u>	<u>150</u>	<u>160</u>	<u>170</u>	<u>180</u>
	<u>TIHTATTTLQ</u>	<u>NKVRPAHVEL</u>	<u>GLEVTKAVLL</u>	<u>TANPASTAKE</u>	<u>LDAEGAALKA</u>	<u>RLEKVSQYPD</u>
	<u>190</u>	<u>200</u>	<u>210</u>	<u>220</u>	<u>230</u>	<u>240</u>
25	<u>LTPNDVATVY</u>	<u>VRTNFSKTIW</u>	<u>QVRANRDYI</u>	<u>LGHKSAAVYK</u>	<u>TLNHAITKAV</u>	<u>GVRLNPKTTV</u>
	<u>250</u>	<u>260</u>				
	<u>GNIQAARTEL LAAYQTAFNS PDVKKAA</u> (SEQ ID NO: 202)					

La secuencia de péptido señal nativa corresponde a los residuos 1-28 en la secuencia de aminoácidos de CAMP2 de *C. acnes* (SEQ ID NO: 202) y se muestra subrayada. Los residuos 29-267 de la SEQ ID NO: 202 corresponden a la forma

madura del polipéptido CAMP2 de *C. acnes* de longitud completa (sin la secuencia de péptido señal nativa).

El dominio aminoterminal y el dominio carboxiterminal de CAMP2 de *C. acnes* se muestran en texto en negrita (dominio aminoterminal), y en negrita y subrayado (dominio carboxiterminal). El dominio aminoterminal del polipéptido CAMP2 de *C. acnes* corresponde a los residuos aminoacídicos 29-176 del polipéptido CAMP2 de *C. acnes* en la SEQ ID NO: 202. El dominio carboxiterminal del polipéptido CAMP2 de *C. acnes* corresponde a los residuos aminoacídicos 189-267 del polipéptido CAMP2 de *C. acnes* en la SEQ ID NO: 202. Se sitúa un dominio enlazador entre los dominios del extremo N y del extremo C. El dominio enlazador corresponde a los residuos aminoacídicos 177-188 de la SEQ ID NO: 202.

Un “polipéptido CAMP2 de *C. acnes*” incluye una forma madura de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* nativo de longitud completa sin su secuencia de péptido señal nativa, y variantes inmunógenas de este. Una variante inmunógena de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* nativo es capaz de inducir una respuesta inmunitaria (p. ej., una respuesta inmunitaria específica del antígeno.) en un sujeto, por ejemplo, una respuesta de anticuerpos. Las variantes inmunógenas de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* nativo incluyen fragmentos inmunógenos de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* nativo. Los fragmentos de CAMP2 de *C. acnes* inmunógenos incluyen fragmentos de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* nativo que tienen una longitud de al menos 50, al menos 75, al menos 100, al menos 125, al menos 150, al menos 175, al menos 200 o al menos 225 aminoácidos.

Las secuencias de polipéptido CAMP2 de *C. acnes* a modo de ejemplo incluyen una secuencia de polipéptido CAMP2 de *C. acnes* nativa en la SEQ ID NO: 203 que carece de la secuencia de péptido señal de secreción nativa del polipéptido CAMP2 de *C. acnes*. Se exponen otras secuencias de polipéptido de *C. acnes* a modo de ejemplo en las SEQ ID NO 313-338. Estos son polipéptidos CAMP2 de origen natural de diferentes cepas de *C. acnes* e incluyen la secuencia de péptido señal de secreción nativa del polipéptido CAMP2 de *C. acnes*. Las secuencias

correspondientes del polipéptido CAMP2, pero sin las secuencias de péptido señal de secreción nativas, se proporcionan en las SEQ ID NO 339-363.

El análisis de 430 secuencias de polipéptido CAMP2 de cepas de origen natural de *C. acnes* mostró que había solamente 27 secuencias de CAMP2 diferentes (SEQ ID NO 202 y 313-338) cuando se incluía la secuencia de péptido señal de secreción nativa en el alineamiento y solamente 26 secuencias de CAMP2 diferentes cuando se excluía la secuencia de péptido señal de secreción nativa (SEQ ID NO 203 y 339-363). La variación de secuencia entre esos polipéptidos CAMP2 se concentró en determinados residuos (Figura 44 y Tabla 1).

Tabla 1. Análisis de variantes de polipéptido CAMP2 de origen natural

Posición dentro de la secuencia de CAMP2 (sin el péptido señal)	Residuo en la cepa KPA 1712 02*	Número de secuencias idénticas a KPA171202 (de entre las 430 secuencias analizadas)	% de secuencias idénticas a KPA171202 (de entre las 430 secuencias analizadas)	Residuo en cepas distintas de KPA171202	Número de secuencias con variante en esa posición	% de secuencias con secuencia variante
6	T	429	99.8%	I	1	0.2%
9	A	429	99.8%	T	1	0.2%
11	S	424	98.6%	A	6	1.4%
18	S	348	80.9%	N	82	19.1%
19	D	347	80.7%	E/Y**	82 / 1	19% / 0.2%
21	R	417	97.0%	H	13	3.0%
24	I	340	79.1%	M/L/T	82 / 6 / 2	19% / 1.4% / 0.5%
29	A	418	97.2%	P	12	2.8%

5	30	H	342	79.5%	R	88	20.5%
	37	V	421	97.9%	A	9	2.1%
	48	D	424	98.6%	N	6	1.4%
	61	R	397	92.3%	H	33	7.7%
	65	E	424	98.6%	D	6	1.4%
10	68	A	429	99.8%	T	1	0.2%
	76	D	429	99.8%	N	1	0.2%
	87	V	424	98.6%	A	6	1.4%
	91	I	347	80.7%	V	83	19.3%
	92	D	429	99.8%	G	1	0.2%
15	98	T	429	99.8%	K	1	0.2%
	100	T	429	99.8%	I	1	0.2%
	106	R	319	74.2%	S	111	25.8%
	118	K	427	99.3%	N	3	0.7%
	128	S	355	82.6%	T	75	17.4%
20	138	A	355	82.6%	T	75	17.4%
	143	R	427	99.3%	H	3	0.7%
	145	E	422	98.1%	D/K	6 / 2	1.4% / 0.5%
	154	T	424	98.6%	A	6	1.4%
	169	K	424	98.6%	R	6	1.4%
25	177	N	342	79.5%	D	88	20.5%
	179	D	423	98.4%	N/H	6 / 16	1.4% / 3.7%
	189	A	424	98.6%	E	6	1.4%
	207	N	348	80.9%	D/A	80 / 2	18.6% / 0.5%
	221	E	424	98.6%	K	6	1.4%
30	223	L	429	99.8%	F	1	23.3%

* La SEQ ID NO: 203 es la secuencia de CAMP2 de la cepa KPA171202 sin la secuencia de péptido señal de secreción.

** Si se encontró más de una variante de CAMP2 en una posición particular, todos los residuos alternativos se indican utilizando "/" y sus correspondientes frecuencias se indican asimismo utilizando "/" en las dos columnas finales.

En algunas realizaciones, el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* comprende una sustitución de aminoácidos en una o más posiciones correspondientes a los residuos 6, 9, 11, 18, 19, 21, 24, 29, 30, 37, 48, 61, 65, 68, 76, 87, 91, 92, 98, 100, 106, 118, 128, 138, 143, 145, 154, 169, 177, 179, 189, 207, 221 y/o 223 de la SEQ ID NO: 203. En algunas realizaciones, el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* comprende una sustitución de aminoácidos en una o más posiciones correspondientes a los residuos T6 (p. ej., T6I), A9 (p. ej., A9T), S11 (p. ej., S11A), S18 (p. ej., S18N), D19 (p. ej., D19E o D19Y), R21 (p. ej., R21H), I24 (p. ej., I24M, I24L o I24T), A29 (p. ej., A29P), H30 (p. ej., H30R), V37 (p. ej., V37A), D48 (p. ej., D48N), R61 (p. ej., R61H), E65 (p. ej., E65D), A68 (p. ej., A68T), D76 (p. ej., D76N), V87 (p. ej., V87A), I91 (p. ej., I91V), D92 (p. ej., D92G), T98 (p. ej., T98K), T100 (p. ej., T100I), R106 (p. ej., R106S), K118 (p. ej., K118N), S128 (p. ej., S128T), A138 (p. ej., A138T), R143 (p. ej., R143H), E145 (p. ej., E145D o E145K), T154 (p. ej., T154A), K169 (p. ej., K169R), N177 (p. ej., N177D), D179 (p. ej., D179N o D179H), A189 (p. ej., A189E), N207 (p. ej., N207D o N207A), E221 (p. ej., E221K) y/o L223 (p. ej., L223F) de la SEQ ID NO: 203.

En algunas realizaciones, el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* comprende la secuencia de una cualquiera de las SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 43-58, SEQ ID NO: 1-4, SEQ ID NO: 10-16 o SEQ ID NO: 339-363 (p. ej., la SEQ ID NO: 203), o una secuencia que tiene al menos un 60 %, al menos un 65 %, al menos un 70 %, al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 86 %, al menos un 87 %, al menos un 88 %, al menos un 89 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad con esta. Normalmente, la variación de secuencia se encuentra en las

posiciones indicadas anteriormente, es decir, las posiciones correspondientes a los residuos 6, 9, 11, 18, 19, 21, 24, 29, 30, 37, 48, 61, 65, 68, 76, 87, 91, 92, 98, 100, 106, 118, 128, 138, 143, 145, 154, 169, 177, 179, 189, 207, 221 y/o 223 de la SEQ ID NO: 203. Por lo tanto, en algunas realizaciones, el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* comprende una sustitución de aminoácidos en una o más posiciones correspondientes a los residuos 6, 9, 11, 18, 19, 21, 24, 29, 30, 37, 48, 61, 65, 68, 76, 87, 91, 92, 98, 100, 106, 118, 128, 138, 143, 145, 154, 169, 177, 179, 189, 207, 221 y/o 223 de la SEQ ID NO: 203. En algunas realizaciones, el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* comprende una secuencia que tiene al menos un 90 % de identidad con una cualquiera de las SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 43-58, SEQ ID NO: 1-4, SEQ ID NO: 10-16 o SEQ ID NO: 339-363 (p. ej., la SEQ ID NO: 203). En algunas realizaciones, el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* comprende una secuencia que tiene al menos un 95 % de identidad con una cualquiera de las SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 43-58, SEQ ID NO: 1-4, SEQ ID NO: 10-16 o SEQ ID NO: 339-363 (p. ej., la SEQ ID NO: 203). Normalmente, el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* comprende una secuencia que tiene al menos un 85 % de identidad con una cualquiera de las SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 43-58, SEQ ID NO: 1-4, SEQ ID NO: 10-16 o SEQ ID NO: 339-363 (p. ej., la SEQ ID NO: 203). En algunas realizaciones, el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* comprende, consiste esencialmente en o consiste en (por ejemplo, comprende) una secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 203.

En algunas realizaciones, un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* comprende una secuencia de nucleótidos de acuerdo con una cualquiera de las SEQ ID NO: 153-167, SEQ ID NO: 87-89 o SEQ ID NO: 95-101, o una secuencia que tiene al menos un 50 %, al menos un 55 %, al menos un 60 %, al menos un 65 %, al menos un 70 %, al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad con esta. En algunas realizaciones, el ácido nucleico

comprende una secuencia de nucleótidos que es al menos un 75 % idéntica a una cualquiera de las SEQ ID NO: 153-167, SEQ ID NO: 87-89 o SEQ ID NO: 95-101.

CAMP2 modificado

Los inventores han generado polipéptidos CAMP2 de *C. acnes* modificados que comprenden una secuencia de polipéptido CAMP2 de *C. acnes* y una secuencia de dominio transmembranario (TMB) heterólogo. La inclusión de una secuencia de TMB heterólogo puede ser ventajosa ya que una secuencia de este tipo puede hacer que el antígeno se localice a la membrana celular cuando el antígeno se expresa en una célula, p. ej., en una célula eucariota (tal como una célula en un sujeto). La inclusión de una secuencia de TMB heterólogo puede reducir la localización intracelular del antígeno con respecto al antígeno sin la secuencia de TMB. Los inventores han demostrado que tales polipéptidos CAMP2 de *C. acnes* modificados que comprenden una secuencia de dominio TMB indujeron una respuesta de anticuerpos (p. ej., IgG). Los anticuerpos inducidos por polipéptidos CAMP2 de *C. acnes* modificados redujeron la actividad cohemolítica del polipéptido CAMP2 de *C. acnes*. Los polipéptidos CAMP2 de *C. acnes* pueden inducir anticuerpos en un sujeto, p. ej., anticuerpos que pueden neutralizar la actividad biológica del polipéptido CAMP2, tal como la actividad inflamatoria de CAMP2.

Además, los polipéptidos CAMP2 de *C. acnes* modificados indujeron títulos de anticuerpos más altos con respecto a polipéptidos CAMP2 de *C. acnes* que carecían de un dominio TMB. Por lo tanto, la inclusión de una secuencia de TMB puede aumentar la inmunogenia (p. ej., respuesta de anticuerpos) de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* en un sujeto. La inclusión de una secuencia de TMB en un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado puede inducir una respuesta de anticuerpos más fuerte, p. ej., un título de anticuerpos más alto, en un sujeto en comparación con un polipéptido CAMP2 sin una secuencia de TMB. Un antígeno expresado en la superficie (p. ej., un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado) puede aumentar la activación de los linfocitos B en un sujeto, lo cual conduce a una mayor respuesta de linfocitos B específicos del antígeno (p. ej., una mayor

respuesta de anticuerpos específicos del antígeno tal como títulos de anticuerpos más altos) en un sujeto.

Los inventores han demostrado, por lo tanto, que estos polipéptidos CAMP2 de *C. acnes* modificados son antígenos vacunales adecuados que pueden utilizarse ya sean solos o combinados con otros antígenos de *C. acnes* descritos en el presente documento, tales como uno o más de los polipéptidos DsA1 de *C. acnes*, polipéptidos DsA2 de *C. acnes*, polipéptidos PITP de *C. acnes*, polipéptidos DsA1/DsA2 de *C. acnes* quiméricos y polipéptidos DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quiméricos descritos en el presente documento. Estos polipéptidos CAMP2 de *C. acnes* modificados, cuando se utilizan solos o combinados con uno o más antígenos diferentes descritos en el presente documento, pueden inducir una respuesta inmunitaria contra la infección. Un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado como se describe en el presente documento puede suministrarse mediante un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado.

Por consiguiente, en un aspecto, la invención proporciona un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado, en donde el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado comprende una secuencia de aminoácidos que comprende una secuencia de polipéptido CAMP2 de *C. acnes* y una secuencia de dominio transmembranario heterólogo. Una secuencia de TMB heterólogo es capaz de localizar el antígeno a la membrana celular cuando el antígeno se expresa en una célula (p. ej., una célula eucariota tal como una célula en un sujeto). Esto puede aumentar la inmunogenia (p. ej., la respuesta de anticuerpos tal como el título de anticuerpos) inducida en un sujeto, p. ej., con respecto al antígeno que carece de la secuencia de TMB.

En un aspecto adicional, la invención proporciona un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado.

En determinadas realizaciones, la secuencia de dominio transmembranario heterólogo es una secuencia de TMB de un polipéptido transmembranario eucariota

(una secuencia transmembranaria eucariota), una secuencia de TMB de un polipéptido transmembranario procariota (una secuencia transmembranaria procariota) o una secuencia de TMB de una proteína transmembranaria vírica (una secuencia de dominio transmembranario vírico). En determinadas realizaciones, el dominio transmembranario heterólogo es una secuencia de TMB de una proteína transmembranaria vírica.

En determinadas realizaciones, la secuencia de TMB heterólogo se sitúa en el extremo N del polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado. En otras realizaciones, la secuencia de TMB heterólogo se sitúa en el extremo C del polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado.

Normalmente, un ácido nucleico descrito en el presente documento que codifica el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado que comprende un dominio transmembranario también comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una secuencia de péptido señal de secreción.

Más adelante en el presente documento se proporcionan detalles adicionales referentes a dominios TMB adecuados para el uso en la presente invención. Se describen secuencias de TMB a modo de ejemplo más adelante en el presente documento.

En determinadas realizaciones, el dominio transmembranario heterólogo comprende una secuencia de dominio transmembranario de hemaglutinina (HA) del virus de la gripe A o gripe B, preferentemente del virus de la gripe A.

En determinadas realizaciones, una secuencia de dominio transmembranario (TMB) se fusiona directamente con un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* descrito en el presente documento (es decir, no hay enlazador, tal como un enlazador aminoacídico, que conecte la secuencia de TMB con el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* en el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado descrito en el presente documento). En otras realizaciones del polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado descrito en el presente documento, una secuencia de TMB de la divulgación se une a un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* descrito en el presente documento con un

enlazador. Los enlazadores preferidos se exponen más adelante en el presente documento en la sección de “Enlazadores”.

En algunas realizaciones, el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado comprende una secuencia de polipéptido CAMP2 de *C. acnes* que comprende una secuencia de acuerdo con una cualquiera de las SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 43-58, SEQ ID NO: 1-4, SEQ ID NO: 10-16 o SEQ ID NO: 339-363 (p. ej., la SEQ ID NO: 203), o una secuencia que tiene al menos un 60 %, al menos un 65 %, al menos un 70 %, al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 86 %, al menos un 87 %, al menos un 88 %, al menos un 89 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad con esta. Normalmente, la variación en la secuencia de polipéptido CAMP2 de *C. acnes* puede ser en las posiciones expuestas anteriormente en el presente documento. Por lo tanto, la variación de la secuencia de polipéptido CAMP2 de *C. acnes* puede encontrarse normalmente en posiciones correspondientes a residuos 6, 9, 11, 18, 19, 21, 24, 29, 30, 37, 48, 61, 65, 68, 76, 87, 91, 92, 98, 100, 106, 118, 128, 138, 143, 145, 154, 169, 177, 179, 189, 207, 221 y/o 223 de la SEQ ID NO: 203 como se expone anteriormente en el presente documento. En algunas realizaciones, la secuencia del polipéptido CAMP2 de *C. acnes* comprende una sustitución de aminoácidos en una o más posiciones correspondientes a los residuos 6, 9, 11, 18, 19, 21, 24, 29, 30, 37, 48, 61, 65, 68, 76, 87, 91, 92, 98, 100, 106, 118, 128, 138, 143, 145, 154, 169, 177, 179, 189, 207, 221 y/o 223 de la SEQ ID NO: 203. En algunas realizaciones, el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* comprende una sustitución de aminoácidos en una o más posiciones correspondientes a los residuos T6 (p. ej., T6I), A9 (p. ej., A9T), S11 (p. ej., S11A), S18 (p. ej., S18N), D19 (p. ej., D19E o D19Y), R21 (p. ej., R21H), I24 (p. ej., I24M, I24L o I24T), A29 (p. ej., A29P), H30 (p. ej., H30R), V37 (p. ej., V37A), D48 (p. ej., D48N), R61 (p. ej., R61H), E65 (p. ej., E65D), A68 (p. ej., A68T), D76 (p. ej., D76N), V87 (p. ej., V87A), I91 (p. ej., I91V), D92 (p. ej., D92G), T98 (p. ej., T98K), T100 (p. ej., T100I), R106 (p. ej., R106S), K118 (p. ej., K118N), S128 (p. ej., S128T), A138

(p. ej., A138T), R143 (p. ej., R143H), E145 (p. ej., E145 D o E145K), T154 (p. ej., T154A), K169 (p. ej., K169R), N177 (p. ej., N177D), D179 (p. ej., D179N o D179H), A189 (p. ej., A189E), N207 (p. ej., N207D o N207A), E221 (p. ej., E221K) y/o L223 (p. ej., L223F) de la SEQ ID NO: 203. En algunas realizaciones, el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado comprende una secuencia de polipéptido CAMP2 de *C. acnes* que comprende una secuencia que tiene al menos un 90 % de identidad con una cualquiera de las SEQ ID NO 203, SEQ ID NO: 43-58, SEQ ID NO: 1-4, SEQ ID NO: 10-16 o SEQ ID NO: 339-363 (p. ej., la SEQ ID NO: 203). En algunas realizaciones, el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado comprende una secuencia de polipéptido CAMP2 de *C. acnes* que comprende una secuencia que tiene al menos un 95 % de identidad con una cualquiera de las SEQ ID NO 203, SEQ ID NO: 43-58, SEQ ID NO: 1-4, SEQ ID NO: 10-16 o SEQ ID NO: 339-363 (p. ej., la SEQ ID NO: 203). Normalmente, el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado comprende una secuencia de polipéptido CAMP2 de *C. acnes* que comprende una secuencia que tiene al menos un 85 % de identidad con una cualquiera de las SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 43-58, SEQ ID NO: 1-4, SEQ ID NO: 10-16 o SEQ ID NO: 339-363 (p. ej., la SEQ ID NO: 203).

En algunas realizaciones, el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado comprende una secuencia de acuerdo con una cualquiera de las SEQ ID NO: 207 o SEQ ID NO: 5-9 (p. ej., la SEQ ID NO: 207), o una secuencia que tiene al menos un 60 %, al menos un 65 %, al menos 70 %, al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 86 %, al menos un 87 %, al menos un 88 %, al menos un 89 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad con esta. Normalmente, la variación de secuencia se encuentra en las posiciones indicadas anteriormente, es decir, en las posiciones correspondientes a los residuos 6, 9, 11, 18, 19, 21, 24, 29, 30, 37, 48, 61, 65, 68, 76, 87, 91, 92, 98, 100, 106, 118, 128, 138, 143, 145, 154, 169, 177, 179, 189, 207, 221 y/o 223 de la SEQ ID NO: 207. Por lo tanto, en algunas realizaciones, el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado comprende una

sustitución de aminoácidos en una o más posiciones correspondientes a los residuos 6, 9, 11, 18, 19, 21, 24, 29, 30, 37, 48, 61, 65, 68, 76, 87, 91, 92, 98, 100, 106, 118, 128, 138, 143, 145, 154, 169, 177, 179, 189, 207, 221 y/o 223 de la SEQ ID NO: 207. En algunas realizaciones, el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado comprende una secuencia que tiene al menos un 90 % de identidad con una cualquiera de las SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 207, SEQ ID NO: 43-58, SEQ ID NO: 1-16 o SEQ ID NO: 339-363 (p. ej., la SEQ ID NO: 207). En algunas realizaciones, el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado comprende una secuencia que tiene al menos un 95 % de identidad con una cualquiera de las SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 207, SEQ ID NO: 43-58, SEQ ID NO: 1-16 o SEQ ID NO: 339-363 (p. ej., la SEQ ID NO: 207). En algunas realizaciones, el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado comprende una secuencia que tiene al menos un 85 % de identidad con una cualquiera de las SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 207, SEQ ID NO: 43-58, SEQ ID NO: 1-16 o SEQ ID NO: 339-363 (p. ej., la SEQ ID NO: 207).

En algunas realizaciones, un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado comprende una secuencia de nucleótidos de acuerdo con una cualquiera de las SEQ ID NO: 153-167, SEQ ID NO: 87-89 o SEQ ID NO: 95-101 o una secuencia que tiene al menos un 50 %, al menos un 55 %, al menos un 60 %, al menos un 65 %, al menos un 70 %, al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 86 %, al menos un 87 %, al menos un 88 %, al menos un 89 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % de identidad con el mismo. En algunas realizaciones, un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado comprende una secuencia de nucleótidos de acuerdo con una cualquiera de las SEQ ID NO: 90-94 o SEQ ID NO: 391-392 (p. ej., la SEQ ID NO: 91), o una secuencia que tiene al menos un 50 %, al menos un 55 %, al menos un 60 %, al menos un 65 %, al menos un 70 %, al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 86 %, al menos un 87 %, al

menos un 88 %, al menos un 89 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad con esta. En algunas realizaciones, el ácido nucleico comprende una secuencia de nucleótidos que tiene al menos un 75 % o un 85 % (por ejemplo, 75 %) idéntica a una cualquiera de las SEQ ID NO: 153-167, SEQ ID NO: 391-392 o SEQ ID NO: 87-101 (p. ej., la SEQ ID NO: 91).

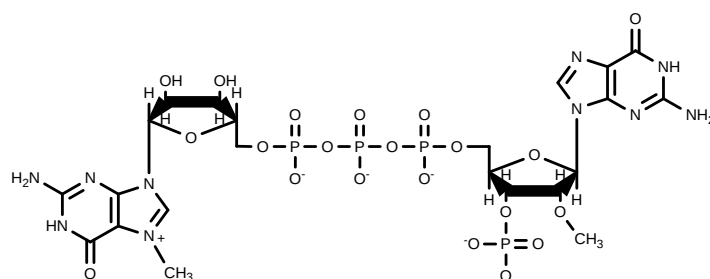
Las secuencias de la las SEQ ID NO: 90, 91, 391 y 392 se alinearon. Se encontró variación en las posiciones indicadas en las SEQ ID NO 398 y 399. En algunas realizaciones, el ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido CAMP2 modificado de *C. acnes* comprende una secuencia de nucleótidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 398, en donde los nucleótidos en las posiciones 66; 78; 81; 87; 102; 120; 150; 222; 232; 234; 261; 298; 321; 339; 351; 367; 420; 423; 435; 438; 456; 462; 468; 478; 516; 528; 541; 546; 574; 583; 648; 664; 684; 706; 711; 735; 834 se seleccionan cada uno independientemente entre A o C; los nucleótidos en las posiciones 480; 660; 849 se seleccionan cada uno independientemente entre A, C o G; los nucleótidos en las posiciones 171; 282; 318; 375; 432; 675; 738 se seleccionan cada uno independientemente de A, C o T; los nucleótidos en las posiciones 6; 57; 93; 114; 168; 246; 300; 363; 384; 396; 405; 447; 459; 543; 585; 591; 609; 666; 708; 714; 857 se seleccionan cada uno independientemente de A o G; los nucleótidos en las posiciones 73; 97; 103; 118; 169; 181; 190; 283; 433; 493; 553; 745; 769; 775; 793; 805; 808; 826; 841; 850 se seleccionan cada uno independientemente de A o T; los nucleótidos en las posiciones 18; 27; 54; 98; 119; 153; 162; 170; 182; 191; 210; 213; 240; 264; 284; 312; 369; 390; 408; 434; 441; 483; 494; 554; 573; 603; 690; 746; 770; 774; 776; 794; 806; 809; 827; 842; 851; 855 se seleccionan cada uno independientemente entre C o G; y los nucleótidos en las posiciones 30; 33; 36; 48; 51; 108; 111; 117; 123; 135; 177; 183; 186; 189; 207; 219; 225; 243; 255; 258; 267; 270; 276; 279; 285; 297; 327; 372; 378; 402; 426; 429; 448; 453; 465; 477; 501; 507; 519; 522; 531; 537; 549; 564; 582; 594; 615; 624; 636; 672; 693; 696; 702; 729; 741;

750; 753; 771; 780; 795; 804; 807; 810; 828; 837; 840; 852 se seleccionan cada uno independientemente de C o T. En algunas realizaciones, el ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado comprende una secuencia de nucleótidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 399, en donde los nucleótidos en las posiciones 66; 81; 87; 102; 222; 232; 234; 261; 298; 321; 339; 351; 420; 438; 456; 462; 468; 478; 516; 528; 541; 546; 574; 583; 648; 660; 664; 684; 706; 711; ; 834 se seleccionan cada uno independientemente entre A o C; el nucleótido en la posición 849 se selecciona entre A, C o G; los nucleótidos en las posiciones 318; 432; 675 se seleccionan cada uno independientemente entre A, C o T; los nucleótidos en las posiciones 6; 57; 93; 168; 735; 300; 363; 384; 396; 405; 447; 459; 480; 543; 585; 609; 666; 708; 714; 857 se seleccionan cada uno independientemente de A o G; los nucleótidos en las posiciones 73; 97; 103; 118; 169; 181; 283; 433; 493; 745; 769; 793; 805; 808; 826; 841; 850 se seleccionan cada uno independientemente de A o T; los nucleótidos en las posiciones 18; 27; 54; 98; 119; 153; 170; 182; 213; 264; 284; 312; 369; 390; 408; 434; 483; 494; 573; 603; 746; 770; 774; 794; 806; 809; 827; 842; 851; 855 se seleccionan cada uno independientemente entre C o G; y los nucleótidos en las posiciones 30; 33; 36; 48; 117; 123; 135; 171; 177; 183; 186; 189; 225; 243; 255; 258; 267; 270; 276; 282; 285; 297; 327; 372; 375; 378; 426; 453; 465; 477; 501; 519; 522; 531; 549; 564; 582; 624; 636; 672; 693; 696; 738; 741; 750; 753; 771; 780; 795; 807; 810; 828; 837; 840; 852 se seleccionan cada uno independientemente de C o T. Normalmente, el ácido nucleico comprende una secuencia de nucleótidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 398 o 399 codifica una secuencia de acuerdo con la SEQ ID NO: 6.

En algunas realizaciones, el ácido nucleico comprende una secuencia de nucleótidos que tiene al menos un 75 % o un 85 % (por ejemplo, 75 %) idéntica a una cualquiera de las SEQ ID NO: 153-167, SEQ ID NO: 391-392 o SEQ ID NO: 87-101 (p. ej., la SEQ ID NO: 91).

En una realización, el ácido nucleico de la invención es un ARNm que comprende o que consiste en (p. ej., que consiste en) los siguientes elementos estructurales:

(i) una caperuza en 5' con la siguiente estructura:



(ii) una región no traducida en 5' (5' UTR) que tiene la secuencia de ácido nucleico de acuerdo con la SEQ ID NO: 265;

(iii) una región codificante de proteína que tiene la secuencia de ácido nucleico de acuerdo con la SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 391-392 o SEQ ID NO: 91 (p. ej., la SEQ ID NO: 91);

(iv) una región no traducida en 3' (3' UTR) que tiene la secuencia de ácido nucleico de acuerdo con la SEQ ID NO: 266; y

(v) una cola de poliA, opcionalmente en donde la cola de poliA comprende al menos 75 nucleótidos de adenosina (tales como aproximadamente 80 nucleótidos de adenosina) o al menos 100 nucleótidos de adenosina (tales como aproximadamente 115 nucleótidos de adenosina), por ejemplo, en donde la cola de poliA comprende al menos 100 nucleótidos de adenosina.

En algunas realizaciones, el ARNm se modifica químicamente y la modificación química comprende N1-metilpseudouridina en lugar de cada uridina. El ARNm puede estar encapsulado en una LNP.

DsA1

Se identificó la sulfato de dermatano-adhesina 1 (DsA1) de *C. acnes*, conocida también como P22 o P022, como un posible factor de virulencia de *C. acnes* (Lodes *et al.*, 2006 (*Microbiology* (Reading). Dic. de 2006;152(Pt 12):3667-3681); McDowell *et al.*, 2011). Esta proteína se encuentra en abundancia en

muestras foliculares tanto afectadas por acné como sanas (Bek-Thomsen *et al.*, 2014). Se describen polipéptidos DsA1 de *C. acnes*, derivados y fragmentos de estos en el documento WO2021/165543.

Los inventores han demostrado que los ARNm que codifican diferentes polipéptidos DsA1 de *C. acnes* y proteínas DsA1 de *C. acnes* recombinantes inducen una respuesta de anticuerpos (p. ej., IgG). Se demostró que los anticuerpos inducidos por polipéptidos DsA1 de *C. acnes* se unen a la superficie de bacterias *C. acnes* y reclutan células efectoras (p. ej., células efectoras del sistema inmunitario tales como fagocitos). Se demostró que los anticuerpos inducidos por polipéptidos DsA1 de *C. acnes* inducen la muerte opsonofagocítica *in vitro*.

Los polipéptidos DsA1 de *C. acnes* de la invención pueden inducir una respuesta inmunitaria contra una amplia variedad de diferentes cepas, filotipos y variantes patógenas de *C. acnes* (una respuesta inmunitaria con reactividad cruzada).

Los inventores han demostrado que los polipéptidos DsA1 de *C. acnes* son antígenos vacunales adecuados que pueden utilizarse combinados con uno o más antígenos de *C. acnes* diferentes que pueden inducir respuestas de anticuerpos en un sujeto, tales como los polipéptidos DsA2 de *C. acnes* descritos en el presente documento, polipéptidos PITP de *C. acnes* descritos en el presente documento y polipéptidos CAMP2 de *C. acnes* descritos en el presente documento. Los polipéptidos CAMP2 de *C. acnes* pueden inducir anticuerpos en un sujeto, p. ej., anticuerpos que pueden neutralizar la actividad biológica del polipéptido CAMP2, tal como la actividad inflamatoria de CAMP2.

Por consiguiente, en un aspecto, la invención proporciona un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1 de *C. acnes*. En un aspecto adicional, la invención proporciona un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de un polipéptido DsA1 de *C. acnes*. Un polipéptido DsA1 de *C. acnes* para el uso en la presente invención, p. ej., suministrado como un ARNm o como una proteína recombinante, puede inducir anticuerpos en un sujeto. Tales anticuerpos pueden opsonizar bacterias *C. acnes*.

La opsonización puede dirigir células efectoras inmunitarias tales como fagocitos a bacterias *C. acnes*. Esto puede conducir a la destrucción de bacterias *C. acnes* por acción de estas células efectoras inmunitarias (p. ej., muerte fagocítica). Se puede medir la unión de los anticuerpos a la superficie celular de *C. acnes*, p. ej., utilizando ensayos de unión a la superficie *in vitro*. Se pueden utilizar ensayos de muerte opsonofagocítica *in vitro* para evaluar anticuerpos según su capacidad de inducir la opsonización y la destrucción de cepas de *C. acnes* de diferentes tipos genéticos por acción de células fagocíticas.

Se proporciona la secuencia de aminoácidos de una forma madura nativa de polipéptido DsA1 de *C. acnes* de longitud completa (sin una secuencia de péptido señal) en la SEQ ID NO: 204:

SSNRPRSVAQAAIATDGKGIIDKDCRDAVINDAKLRAAIAGALVKAGFSSAD
AVALAPRIAKEMAKEGVLLINHHKLKALIGAQLGLLTD AKIQRAAAVLDLGIKATLAA
TIIPNALHSAAFKDAVVANLVAAGVDKKLAKATAVAIAATALNPALGPIAKTEAIKAEI
AAQAALLVGRGVHLKKAIEHIIGRSFDAAVATAIVSSPILNARIVTHLVRAGIDKSL
AVQIAPRIIDRLAKEPLLALNTAKLMKNITRQIVDVITADKAIKTAEQLEKELPALDDL
VKKACSCPKPTPTPTPTPTPKPTPTPTPKPTPTPKPTPTAPAPTSGATSDDES
TSRSGGHSQGGSGTHYIHHGVAPVLTHSSDLPSTGE

Un polipéptido DsA1 de *C. acnes* maduro nativo comprende normalmente una región de intercambio aminoterminal ("NSR"), un primer subdominio conservado ("CSD1"), una primera región de intercambio ("SR1"), un segundo subdominio conservado ("CSD2"), una segunda región de intercambio ("SR2"), un tercer subdominio conservado ("CSD3"), una región que contiene repeticiones de Pro-Thr ("región de repetición PT" – mostrada en negrita arriba) y una región carboxiterminal ("CTR"; a menudo con un motivo LPXTG cerca del extremo C). Se cree que el motivo LPXTG carboxiterminal es crucial para el anclaje de la proteína a la pared celular.

Por ejemplo, en el polipéptido DsA1 de *C. acnes* nativo de la SEQ ID NO: 204, la región de intercambio aminoterminal ("NSR") corresponde a los residuos aminoacídicos 1-20, el primer subdominio conservado ("CSD1") corresponde a los

residuos aminoacídicos 21-102, la primera región de intercambio (“SR1”) corresponde a los residuos aminoacídicos 103-119, el segundo subdominio conservado (“CSD2”) corresponde a los residuos aminoacídicos 120-239, la segunda región de intercambio (“SR2”) corresponde a los residuos aminoacídicos 240-249, el tercer subdominio conservado (“CSD3”) corresponde a los residuos aminoacídicos 250-295, la región que contiene repeticiones de Pro-Thr (“región de repetición PT”) corresponde a los residuos aminoacídicos 296-333 y la región carboxiterminal (“CTR”) corresponde a los residuos aminoacídicos 334-377 (con el motivo LPXTG correspondiente a los residuos aminoacídicos 372-376).

Las secuencias de polipéptidos DsA1 de origen natural son en su mayor parte sumamente idénticas y difieren (aparte de mutaciones puntuales y raras excepciones específicamente de la presencia del motivo LPXTG terminal) solamente en la longitud y la composición de la región de repetición PT. Se han descrito análisis más detallados de las secuencias de DsA1 en otros documentos (documento WO2021/165543). Como se sabe en la técnica, las posiciones de NSR, CSD1, SR1, CSD2, SR2, CSD3, región de repetición PT y CTR dentro de otros polipéptidos DsA1 de *C. acnes* nativos se pueden determinar alineando la secuencia polipeptídica de un polipéptido DsA1 dado con la de la SEQ ID NO: 204 e identificando las regiones del polipéptido DsA1 que tienen una alta identidad de secuencia con la de NSR, CSD1, SR1, CSD2, SR2, CSD3, región de repetición PT y CTR de la SEQ ID NO: 204, respectivamente.

Un “polipéptido DsA1 de *C. acnes*” incluye una forma madura de un polipéptido DsA1 de *C. acnes* nativo de longitud completa sin su secuencia de péptido señal nativa, y variantes inmunógenas de este. Una variante inmunógena de un polipéptido DsA1 de *C. acnes* nativo es capaz de inducir una respuesta inmunitaria (p. ej., una respuesta inmunitaria específica del antígeno.) en un sujeto, por ejemplo, una respuesta de anticuerpos. Las variantes inmunógenas de un polipéptido DsA1 de *C. acnes* nativo incluyen fragmentos inmunógenos de un polipéptido DsA1 de *C. acnes* nativo. Los fragmentos de DsA1 de *C. acnes* inmunógenos incluyen fragmentos de un polipéptido DsA1 de *C. acnes* nativo que

tienen una longitud de al menos 50, al menos 75, al menos 100, al menos 125, al menos 150, al menos 175, al menos 200, al menos 225, al menos 250, al menos 275, al menos 300, al menos 325 o al menos 350 aminoácidos. En algunas realizaciones, un fragmento de DsA1 de *C. acnes* inmunógeno comprende un dominio CSD2 de un polipéptido DsA1 de *C. acnes*. En algunas realizaciones, las variantes inmunógenas excluyen motivos de secuencia que se encuentran en un proteoma en cuestión (p. ej., humano), p. ej., motivos de secuencia con una longitud de 8 o más, 9 o más, 10 o más, 11 o más, 12 o más, 13 o más, 14 o más, o 15 o más (p. ej., 8 o más) aminoácidos. Los motivos de secuencia del proteoma en cuestión excluidos tienen normalmente una longitud de 8 o más aminoácidos. Esto ayuda a minimizar la reactividad cruzada no deseada debido a la homología entre el antígeno y la propia proteína.

Las secuencias de polipéptido DsA1 de *C. acnes* a modo de ejemplo incluyen una secuencia de polipéptido DsA1 de *C. acnes* nativa de la SEQ ID NO: 204 que carece de la secuencia de péptido señal de secreción nativa del polipéptido DsA1 de *C. acnes*.

En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1 de *C. acnes* comprende la secuencia de una cualquiera de las SEQ ID NO: 204, SEQ ID NO: 17-19 o SEQ ID NO: 59-61, o una secuencia que tiene al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 86 %, al menos un 87 %, al menos un 88 %, al menos un 89 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad con esta. En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1 de *C. acnes* comprende una secuencia que tiene al menos un 90 % de identidad con una cualquiera de las SEQ ID NO: 204, SEQ ID NO: 17-19 o SEQ ID NO: 59-61. En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1 de *C. acnes* comprende una secuencia que tiene al menos un 95 % de identidad con una cualquiera de las SEQ ID NO: 204, SEQ ID NO: 17-19 o SEQ ID NO: 59-61.

En algunas realizaciones, un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1 de *C. acnes* comprende una

secuencia de nucleótidos de acuerdo con una cualquiera de las SEQ ID NO: 102-104 o SEQ ID NO: 168-170, o una secuencia que tiene al menos un 50 %, al menos un 55 %, al menos un 60 %, al menos un 65 %, al menos un 70 %, al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad con esta. En algunas realizaciones, el ácido nucleico comprende una secuencia de nucleótidos que es al menos un 75 % idéntica a una cualquiera de las SEQ ID NO: 102-104 o SEQ ID NO: 168-170.

DsA2

La sulfato de dermatano-adhesina 2 (DsA2) de *C. acnes* se conoce también como P27 o P027. Se identificó DsA2 como un posible factor de virulencia de *C. acnes* (Lodes *et al.*, 2006 (*Microbiology* (Reading). Dic. de 2006;152(Pt 12):3667-3681); McDowell *et al.*, 2011). Esta proteína se encuentra en muestras foliculares tanto afectadas por acné como sanas (Bek-Thomsen *et al.*, 2014). Las proteínas DsA1 y DsA2 son homólogas (parálogas) con una identidad de secuencia típica de entre un 60-71 %, dependiendo de en qué región de la proteína se alinee. Excluyendo el polimorfismo de la longitud de la región PT, se puede observar un alto grado de identidad de secuencia de normalmente >90 % dentro de proteínas DsA1 y DsA2 intactas, respectivamente. Se describen polipéptidos DsA2 de *C. acnes*, derivados y fragmentos de estos en el documento WO2021/165543.

Los inventores han demostrado que los ARNm que codifican diferentes polipéptidos DsA2 de *C. acnes* y proteínas DsA2 de *C. acnes* recombinantes inducen una respuesta de anticuerpos (p. ej., IgG). Se demostró que los anticuerpos inducidos por polipéptidos DsA2 de *C. acnes* se unen a la superficie de bacterias *C. acnes* y reclutan células efectoras (p. ej., células efectoras del sistema inmunitario tales como fagocitos). Se demostró que los anticuerpos inducidos por polipéptidos DsA2 de *C. acnes* inducen la muerte opsonofagocítica *in vitro*.

Los polipéptidos DsA2 de *C. acnes* de la invención pueden inducir una respuesta inmunitaria contra una amplia variedad de diferentes cepas, filotipos y

variantes patógenas de *C. acnes* (una respuesta inmunitaria con reactividad cruzada).

Los inventores han demostrado que los polipéptidos DsA2 de *C. acnes* son antígenos vacunales adecuados que pueden utilizarse combinados con uno o más antígenos de *C. acnes* diferentes que pueden inducir respuestas de anticuerpos en un sujeto, tales como los polipéptidos DsA1 de *C. acnes* descritos en el presente documento, polipéptidos PITP de *C. acnes* descritos en el presente documento y polipéptidos CAMP2 de *C. acnes* descritos en el presente documento. Los polipéptidos CAMP2 de *C. acnes* pueden inducir anticuerpos en un sujeto, p. ej., anticuerpos que pueden neutralizar la actividad biológica del polipéptido CAMP2, tal como la actividad inflamatoria de CAMP2.

Por consiguiente, en un aspecto, la invención proporciona un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA2 de *C. acnes*. En un aspecto adicional, la invención proporciona un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de un polipéptido DsA2 de *C. acnes*. Un polipéptido DsA2 de *C. acnes* para el uso en la presente invención, p. ej., suministrado como un ARNm o como una proteína recombinante, puede inducir anticuerpos en un sujeto. Tales anticuerpos pueden opsonizar bacterias *C. acnes*. La opsonización puede dirigir células efectoras inmunitarias tales como fagocitos a bacterias *C. acnes*. Esto puede conducir a la destrucción de bacterias *C. acnes* por acción de estas células efectoras inmunitarias (p. ej., muerte fagocítica). Se puede medir la unión de los anticuerpos a la superficie celular de *C. acnes*, p. ej., utilizando ensayos de unión a la superficie *in vitro*. Se pueden utilizar ensayos de muerte opsonofagocítica *in vitro* para evaluar anticuerpos según su capacidad de inducir la opsonización y la destrucción de cepas de *C. acnes* de diferentes tipos genéticos por acción de células fagocíticas.

Se proporciona la secuencia de aminoácidos de una forma madura nativa de polipéptido DsA2 de *C. acnes* de longitud completa (sin una secuencia de péptido señal) en la SEQ ID NO: 205:

[illegible]

Un polipéptido DsA2 de *C. acnes* maduro nativo comprende normalmente una región de intercambio aminoterminal (“NSR”), un primer subdominio conservado (“CSD1”), una primera región de intercambio (“SR1”), un segundo subdominio conservado (“CSD2”), una segunda región de intercambio (“SR2”), un tercer subdominio conservado (“CSD3”), una región que contiene repeticiones de Pro-Thr (“región de repetición PT”) y región carboxiterminal (“CTR”; a menudo con un motivo LPXTG cerca del extremo C). Se cree que el motivo LPXTG carboxiterminal es crucial para el anclaje de la proteína a la pared celular.

Por ejemplo, en el polipéptido DsA2 de *C. acnes* nativo de la SEQ ID NO: 205, la región de intercambio aminoterminal (“NSR”) corresponde a los residuos aminoacídicos 1-21, el primer subdominio conservado (“CSD1”) corresponde a los residuos aminoacídicos 22-103, la primera región de intercambio (“SR1”) corresponde a los residuos aminoacídicos 104-120, el segundo subdominio conservado (“CSD2”) corresponde a los residuos aminoacídicos 121-240, la segunda región de intercambio (“SR2”) corresponde a los residuos aminoacídicos 241-250, el tercer subdominio conservado (“CSD3”) corresponde a los residuos aminoacídicos 251-295, la región que contiene repeticiones de Pro-Thr (“región de repetición PT”) corresponde a los residuos aminoacídicos 296-349 y la región carboxiterminal (“CTR”) corresponde a los residuos aminoacídicos 350-392 (con el motivo LPXTG correspondiente a los residuos aminoacídicos 385-389).

Las secuencias de polipéptidos DsA2 de origen natural son en su mayor parte sumamente idénticas y difieren (aparte de mutaciones puntuales y raras excepciones específicamente de la presencia del motivo LPXTG terminal)

solamente en la longitud y la composición de la región de repetición PT. Se han descrito análisis más detallados de las secuencias de DsA2 en otros documentos (documento WO2021/165543). Como se sabe en la técnica, las posiciones de NSR, CSD1, SR1, CSD2, SR2, CSD3, región de repetición PT y CTR dentro de otros polipéptidos DsA2 de *C. acnes* nativos se pueden determinar alineando la secuencia polipeptídica de un polipéptido DsA2 dado con la de la SEQ ID NO: 205 e identificando las regiones del polipéptido DsA2 que tienen una alta identidad de secuencia con la de NSR, CSD1, SR1, CSD2, SR2, CSD3, región de repetición PT y CTR de la SEQ ID NO: 205, respectivamente.

Un “polipéptido DsA2 de *C. acnes*” incluye una forma madura de un polipéptido DsA2 de *C. acnes* nativo de longitud completa sin su secuencia de péptido señal nativa, y variantes inmunógenas de este. Una variante inmunógena de un polipéptido DsA2 de *C. acnes* nativo es capaz de inducir una respuesta inmunitaria (p. ej., una respuesta inmunitaria específica del antígeno.) en un sujeto, por ejemplo, una respuesta de anticuerpos. Las variantes inmunógenas de un polipéptido DsA2 de *C. acnes* nativo incluyen fragmentos inmunógenos de un polipéptido DsA2 de *C. acnes* nativo. Los fragmentos de DsA2 de *C. acnes* inmunógenos incluyen fragmentos de un polipéptido DsA2 de *C. acnes* nativo que tienen una longitud de al menos 50, al menos 75, al menos 100, al menos 125, al menos 150, al menos 175, al menos 200, al menos 225, al menos 250, al menos 275, al menos 300, al menos 325, al menos 350 o al menos 375 aminoácidos. En algunas realizaciones, un fragmento de DsA2 de *C. acnes* inmunógeno comprende un dominio CSD2 de un polipéptido DsA2 de *C. acnes*. En algunas realizaciones, las variantes inmunógenas excluyen motivos de secuencia que se encuentran en un proteoma en cuestión (p. ej., humano), p. ej., motivos de secuencia con una longitud de 8 o más, 9 o más, 10 o más, 11 o más, 12 o más, 13 o más, 14 o más, o 15 o más (p. ej., 8 o más) aminoácidos. Los motivos de secuencia del proteoma en cuestión excluidos tienen normalmente una longitud de 8 o más aminoácidos. Como se ha explicado en detalle anteriormente, esto ayuda a minimizar la

reactividad cruzada no deseada debido a la homología entre el antígeno y la propia proteína.

Las secuencias de polipéptido DsA2 de *C. acnes* a modo de ejemplo incluyen una secuencia de polipéptido DsA2 de *C. acnes* nativa en la SEQ ID NO: 205 que carece de la secuencia de péptido señal de secreción nativa del polipéptido DsA2 de *C. acnes*.

En algunas realizaciones, el polipéptido DsA2 de *C. acnes* comprende la secuencia de una cualquiera de las SEQ ID NO: 205, SEQ ID NO: 20-27 o SEQ ID NO: 62-69, o una secuencia que tiene al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 86 %, al menos un 87 %, al menos un 88 %, al menos un 89 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad con esta. En algunas realizaciones, el polipéptido DsA2 de *C. acnes* comprende una secuencia que tiene al menos un 90 % de identidad con una cualquiera de las SEQ ID NO: 205, SEQ ID NO: 20-27 o SEQ ID NO: 62-69. En algunas realizaciones, el polipéptido DsA2 de *C. acnes* comprende una secuencia que tiene al menos un 95 % de identidad con una cualquiera de las SEQ ID NO: 205, SEQ ID NO: 20-27 o SEQ ID NO: 62-69.

En algunas realizaciones, un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA2 de *C. acnes* comprende una secuencia de nucleótidos de acuerdo con una cualquiera de las SEQ ID NO: 105-112 o SEQ ID NO: 171-178, o una secuencia que tiene al menos un 50 %, al menos un 55 %, al menos un 60 %, al menos un 65 %, al menos un 70 %, al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad con esta. En algunas realizaciones, el ácido nucleico comprende una secuencia de nucleótidos que es al menos un 75 % idéntica a una cualquiera de las SEQ ID NO: 105-112 o SEQ ID NO: 171-178.

PITP

La presunta proteína de transporte de iones (PITP) de *C. acnes*, conocida también como P28 o P028, es una proteína que participa en el mecanismo de captación de hierro de *C. acnes* (Lodes *et al.*, 2006). La captación de hierro desempeña una función en la supervivencia de las bacterias en el tejido hospedador. En condiciones limitantes de hierro, la expresión de PITP aumenta sobre la superficie celular (Lodes *et al.*, 2006). Se describen polipéptidos PITP de *C. acnes*, derivados y fragmentos de estos en el documento WO2021/165543.

Los polipéptidos PITP de *C. acnes* de la invención pueden inducir una respuesta inmunitaria contra una amplia variedad de diferentes cepas, filotipos y variantes de *C. acnes* que pueden ser patógenas. Se demostró que los polipéptidos PITP de *C. acnes* inducen anticuerpos que se unen a la superficie de bacterias *C. acnes* y reclutan células efectoras (p. ej., células efectoras del sistema inmunitario innato tales como fagocitos). La combinación de un polipéptido PITP de *C. acnes* de la invención con polipéptidos DsA1 y/o DsA2 de *C. acnes* (suministrados como un ARNm o en forma de una proteína recombinante) puede inducir una respuesta inmunitaria contra un número mayor de cepas o filotipos de *C. acnes* en comparación con el uso de antígenos individuales.

Los inventores han demostrado que los ARNm que codifican diferentes polipéptidos PITP de *C. acnes* y proteínas PITP de *C. acnes* recombinantes inducen una respuesta de anticuerpos (p. ej., IgG). Se demostró que los anticuerpos inducidos por polipéptidos PITP de *C. acnes* se unen a la superficie de bacterias *C. acnes*. Se demostró que los anticuerpos inducidos por polipéptidos PITP de *C. acnes* inducen la muerte opsonofagocítica *in vitro*. También se demostró que los anticuerpos inducidos por polipéptidos PITP de *C. acnes* presentan reactividad cruzada con una serie de cepas de *C. acnes*.

Los inventores han demostrado que los polipéptidos PITP de *C. acnes* son antígenos vacunales adecuados que pueden utilizarse combinados con uno o más antígenos de *C. acnes* diferentes que pueden inducir respuestas de anticuerpos en un sujeto, tales como los polipéptidos DsA1 de *C. acnes* descritos en el presente

documento, polipéptidos DsA2 de *C. acnes* descritos en el presente documento y polipéptidos CAMP2 de *C. acnes* descritos en el presente documento. Los polipéptidos CAMP2 de *C. acnes* pueden inducir anticuerpos en un sujeto, p. ej., anticuerpos que pueden neutralizar la actividad biológica del polipéptido CAMP2, tal como la actividad inflamatoria de CAMP2.

Por consiguiente, en un aspecto, la invención proporciona un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido PITP de *C. acnes*. En un aspecto adicional, la invención proporciona un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de un polipéptido PITP de *C. acnes*. Un polipéptido PITP de *C. acnes* para el uso en la presente invención, p. ej., suministrado como un ARNm o como una proteína recombinante, puede inducir anticuerpos en un sujeto. Tales anticuerpos pueden opsonizar bacterias *C. acnes*. La opsonización puede dirigir células efectoras inmunitarias tales como fagocitos a bacterias *C. acnes*. Esto puede conducir a la destrucción de bacterias *C. acnes* por acción de estas células efectoras inmunitarias (p. ej., muerte fagocítica). Se puede medir la unión de los anticuerpos a la superficie celular de *C. acnes*, p. ej., utilizando ensayos de unión a la superficie *in vitro*. Se pueden utilizar ensayos de muerte opsonofagocítica *in vitro* para evaluar anticuerpos según su capacidad de inducir la opsonización y la destrucción de cepas de *C. acnes* de diferentes tipos genéticos por acción de células fagocíticas.

Se proporciona la secuencia de aminoácidos de una forma madura nativa de polipéptido PITP de *C. acnes* de longitud completa (sin una secuencia de péptido señal) en la SEQ ID NO: 206:

AGPTVTVIPVGREGGDITISGKGFSTTGFGVYVAVAPASVPEFYGNSDKFY
GYDPSKDTTESPSTIWVYTPSQKAIGSRFAQGRPMNNDGSFTITMKAPPFEQ GK
DFVVLTTKAHGVGKTDHSDDTRTPVTYREATPAPTGPKTPIAPSKQPSKQAAPSK
QVKPSKQAGPNKQSTTPQQKTAEHRSQTPAAHRTMTKQVCTIGASKVTSGSLT
WGIRTSFTSYLRGPIANGSWKLSGGANWNGSAFTFPLTSGSFDPATKSGSLKYS
GSVHMTGHHGILDMTLAEP SLQIKGSTGHLYLDVKSSSMDGKKTN YGRVDFATF
GVSVSGNAAIKGSPVKLTATGAKAFAGFYRAGEPMNPLSTNLTL SAEKVCHNVTV

DAVTGKVI GDDSGKGAGRGLPVTGAEGPSSDEIDL GIVGGLALTAVVSTVVVCRR
YAARI

Un polipéptido PITP de *C. acnes* maduro, nativo normalmente comprende un dominio de la familia extendida de la neocarzinoestatina (“ENFD”), una primera región de intercambio (“SR1”), un dominio de unión a hemo (“HbD”), una segunda región de intercambio (“SR2”; que incluye los cuatro primeros residuos aminoterminal de un motivo LPXTG (es decir, que incluye LPXT, pero no G)), y una región carboxiterminal hidrófoba (“hLAR”; que incluye el residuo Gly carboxiterminal de un motivo LPXTG). Se cree que el motivo LPXTG es crucial para el anclaje de la proteína a la pared celular.

Por ejemplo, en el polipéptido PITP de *C. acnes* nativo de la SEQ ID NO: 206, el dominio de la familia extendida de la neocarzinoestatina (“ENFD”) corresponde a los residuos aminoacídicos 1-133, la primera región de intercambio (“SR1”) corresponde a los residuos aminoacídicos 134-206, el dominio de unión a hemo (“HbD”) corresponde a los residuos aminoacídicos 207-365, la segunda región de intercambio (“SR2”) corresponde a los residuos aminoacídicos 366-399 y la región carboxiterminal hidrófoba (“hLAR”) corresponde a los residuos aminoacídicos 400-436. El motivo LPXTG corresponde a los residuos aminoacídicos 396-400.

Las secuencias de polipéptidos PITP de origen natural son en su mayor parte sumamente idénticas y difieren (aparte de mutaciones puntuales) solamente en el extremo N y en el C. Se han descrito análisis más detallados de las secuencias de DsA1 en otros documentos (documento WO2021/165543). Como se sabe en la técnica, las posiciones de ENFD, SR1, HbD, SR2 y hLAR dentro de otros polipéptidos PITP de *C. acnes* nativos se pueden determinar alineando la secuencia polipeptídica de un polipéptido PITP dado con la de la SEQ ID NO: 206 e identificando las regiones del polipéptido PITP que tienen una alta identidad de secuencia con la de ENFD, SR1, HbD, SR2 y hLAR de la SEQ ID NO: 206, respectivamente.

Un “polipéptido PITP de *C. acnes*” incluye una forma madura de un polipéptido PITP de *C. acnes* nativo de longitud completa sin su secuencia de

péptido señal nativa, y variantes inmunógenas de este. Una variante inmunógena de un polipéptido PITP de *C. acnes* nativo es capaz de inducir una respuesta inmunitaria (p. ej., una respuesta inmunitaria específica del antígeno.) en un sujeto, por ejemplo, una respuesta de anticuerpos. Las variantes inmunógenas de un polipéptido PITP de *C. acnes* nativo incluyen fragmentos inmunógenos de un polipéptido PITP de *C. acnes* nativo. Los fragmentos de PITP de *C. acnes* inmunógenos incluyen fragmentos de un polipéptido PITP de *C. acnes* nativo que tienen una longitud de al menos 50, al menos 75, al menos 100, al menos 125, al menos 150, al menos 175, al menos 200, al menos 225, al menos 250, al menos 275, al menos 300, al menos 325, al menos 350, al menos 375, al menos 400 o al menos 425 aminoácidos. En algunas realizaciones, un fragmento de PITP de *C. acnes* inmunógeno comprende un dominio ENFD y/o uno HbD (p. ej., un ENFD) de un polipéptido PITP de *C. acnes*. En algunas realizaciones, las variantes inmunógenas excluyen motivos de secuencia que se encuentran en un proteoma en cuestión (p. ej., humano), p. ej., motivos de secuencia con una longitud de 8 o más, 9 o más, 10 o más, 11 o más, 12 o más, 13 o más, 14 o más, o 15 o más (p. ej., 8 o más) aminoácidos. Los motivos de secuencia del proteoma en cuestión excluidos tienen normalmente una longitud de 8 o más aminoácidos. Como se ha explicado en detalle anteriormente, esto ayuda a minimizar la reactividad cruzada no deseada debido a la homología entre el antígeno y la propia proteína.

Las secuencias de polipéptido PITP de *C. acnes* a modo de ejemplo incluyen una secuencia de polipéptido PITP de *C. acnes* nativa en la SEQ ID NO: 206 que carece de la secuencia de péptido señal de secreción nativa del polipéptido PITP de *C. acnes*.

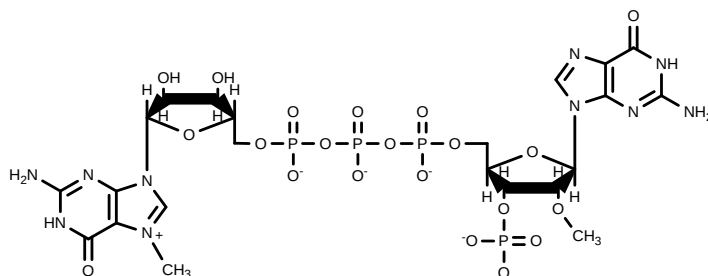
En algunas realizaciones, el polipéptido PITP de *C. acnes* comprende la secuencia de una cualquiera de las SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 31-37, SEQ ID NO: 73-79, o una secuencia que tiene al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 86 %, al menos un 87 %, al menos un 88 %, al menos un 89 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al

menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad con esta. En algunas realizaciones, el polipéptido PITP de *C. acnes* comprende una secuencia que tiene al menos un 90 % de identidad con una cualquiera de las SEQ ID NO 206, SEQ ID NO: 31-37 o SEQ ID NO: 73-79. En algunas realizaciones, el polipéptido PITP de *C. acnes* comprende una secuencia que tiene al menos un 95 % de identidad con una cualquiera de las SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 31-37 o SEQ ID NO: 73-79. En algunas realizaciones, el polipéptido PITP de *C. acnes* comprende, consiste o consiste esencialmente en (por ejemplo, comprende) una secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 73. Normalmente, en donde el polipéptido PITP de *C. acnes* comprende una secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 73 o una secuencia que tiene al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 86 %, al menos un 87 %, al menos un 88 %, al menos un 89 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % de identidad con el mismo.

En algunas realizaciones, un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido PITP de *C. acnes* comprende una secuencia de nucleótidos de acuerdo con una cualquiera de las SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 117-121, SEQ ID NO: 182-188 (p. ej., la SEQ ID NO: 182), o una secuencia que tiene al menos un 50 %, al menos un 55 %, al menos un 60 %, al menos un 65 %, al menos un 70 %, al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad con esta. En algunas realizaciones, el ácido nucleico comprende una secuencia de nucleótidos que es al menos un 75 % idéntica a una cualquiera de las SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 117-121, SEQ ID NO: 182-188 (p. ej., la SEQ ID NO: 182 o SEQ ID NO: 115, tal como la SEQ ID NO: 182).

En una realización, el ácido nucleico de la invención es un ARNm que comprende o que consiste en (p. ej., que consiste en) los siguientes elementos estructurales:

(i) una caperuza en 5' con la siguiente estructura:



(ii) una región no traducida en 5' (5' UTR) que tiene la secuencia de ácido nucleico de acuerdo con la SEQ ID NO: 265;

(iii) una región codificante de proteína que tiene la secuencia de ácido nucleico de acuerdo con la SEQ ID NO: 115;

(iv) una región no traducida en 3' (3' UTR) que tiene la secuencia de ácido nucleico de acuerdo con la SEQ ID NO: 266; y

(v) una cola de poliA, opcionalmente en donde la cola de poliA comprende al menos 75 nucleótidos de adenosina (tales como aproximadamente 80 nucleótidos de adenosina) o al menos 100 nucleótidos de adenosina (tales como aproximadamente 115 nucleótidos de adenosina), por ejemplo, en donde la cola de poliA comprende al menos 100 nucleótidos de adenosina.

En algunas realizaciones, el ARNm se modifica químicamente y la modificación química comprende N1-metilpseudouridina en lugar de cada uridina. El ARNm puede estar encapsulado en una LNP.

DsA1/DsA2 quimérico

Se han descrito polipéptidos DsA1/DsA2 de *C. acnes* quiméricos previamente (documento WO2021/165543).

Las proteínas DsA1 y DsA2 de *C. acnes* son homólogas (parálogas) con una identidad de secuencia típica de entre un 60-71 %, dependiendo de en qué región de la proteína se alinee. Excluyendo el polimorfismo de la longitud de la región PT,

se puede observar un alto grado de identidad de secuencia de normalmente >90 % dentro de proteínas DsA1 y DsA2 intactas, respectivamente. DsA1 de *C. acnes* y DsA2 de *C. acnes* se expresan diferencialmente en las cepas dentro de los filotipos IA1, IC y II de *C. acnes*. Algunas cepas expresan más polipéptido DsA1 que polipéptido DsA2 y otras cepas expresan más polipéptido DsA2 que polipéptido DsA1. Proporcionar tanto un polipéptido DsA1 de *C. acnes* como un polipéptido DsA2 de *C. acnes* puede ser ventajoso ya que esto permite actuar sobre una variedad más amplia de cepas de *C. acnes*. Es posible que un polipéptido DsA1 y un polipéptido DsA2 puedan asumir las funciones del otro si se dirigen de forma individual. Proporcionar ambos polipéptidos DsA1 y DsA2 puede disminuir, por tanto, la probabilidad de evasión de la defensa inmunitaria. Proporcionar ambos polipéptidos DsA1 y DsA2 puede inducir una respuesta inmunitaria (p. ej., de anticuerpos) contra un número mayor de cepas de *C. acnes* (p. ej., puede inducir una respuesta de anticuerpos contra cepas de *C. acnes* que expresan niveles inferiores de uno de los dos polipéptidos), p. ej., en comparación con el uso de ya sea el polipéptido DsA1 o DsA2 solos. Proporcionar tanto polipéptidos DsA1 como DsA2 puede aumentar, por tanto, la inmunogenia. Proporcionar un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico como una sola molécula, en lugar de proporcionar un polipéptido DsA1 y un polipéptido DsA2 como polipéptidos individuales, puede facilitar la fabricación de polipéptidos y/o ácidos nucleicos para el uso en la presente invención.

Los polipéptidos DsA1/DsA2 de *C. acnes* quiméricos de la invención se pueden utilizar para inducir una respuesta inmunitaria contra una infección por *C. acnes*. Se demostró que los anticuerpos inducidos por polipéptidos DsA1/DsA2 de *C. acnes* quiméricos se unen a la superficie de bacterias *C. acnes*. Se demostró que los anticuerpos inducidos por polipéptidos DsA1/DsA2 de *C. acnes* quiméricos inducen la muerte opsonofagocítica *in vitro*. Estos anticuerpos pueden presentar una reactividad cruzada superior con respecto a anticuerpos inducidos por polipéptidos DsA1 de *C. acnes* o polipéptidos DsA2 de *C. acnes* (no quiméricos) individuales. Los polipéptidos DsA1/DsA2 de *C. acnes* quiméricos pueden inducir

anticuerpos que se unen específicamente a tanto un polipéptido DsA1 de *C. acnes* como un polipéptido DsA2 de *C. acnes* de longitud completa, p. ej., según se determina en un ensayo ELISA. Los anticuerpos inducidos por polipéptidos DsA1 o DsA2 pueden presentar reactividad cruzada contra varios filotipos de *C. acnes*.
 5 Además, los anticuerpos inducidos por polipéptidos DsA1/DsA2 quiméricos pueden presentar reactividad cruzada contra varios filotipos de *C. acnes*. Los inventores han demostrado que los polipéptidos DsA1/DsA2 de *C. acnes* quiméricos indujeron una respuesta de anticuerpos (p. ej., IgG) cuando se suministraron como un ARNm que codificaba el antígeno, así como en forma de proteína recombinante.

10 Por consiguiente, en un aspecto, la invención proporciona un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico, en donde el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico comprende: (i) (a) un CSD2 de un polipéptido DsA1 de *C. acnes* y (b) un CSD1 y/o un CSD3 de un polipéptido DsA2 de *C. acnes*; o (ii) (a) un CSD2 de un
 15 polipéptido DsA2 de *C. acnes* y (b) un CSD1 y/o un CSD3 de un polipéptido DsA1 de *C. acnes*. El ácido nucleico puede ser un ARN mensajero (ARNm). En un aspecto adicional, la invención proporciona un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico que tiene una secuencia de aminoácidos que comprende: (i) (a) un CSD2 de un polipéptido DsA1 de *C. acnes* y (b) un CSD1 y/o un CSD3 de un polipéptido DsA2
 20 de *C. acnes*; o (ii) (a) un CSD2 de un polipéptido DsA2 de *C. acnes* y (b) un CSD1 y/o un CSD3 de un polipéptido DsA1 de *C. acnes*. Un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico para el uso en la presente invención, p. ej., suministrado como un ARNm o como una proteína recombinante, puede inducir una respuesta inmunitaria (p. ej., respuesta de anticuerpos) en un sujeto. Tales anticuerpos pueden ser
 25 anticuerpos con reactividad cruzada que se unen específicamente a tanto un polipéptido DsA1 de *C. acnes* nativo como un polipéptido DsA2 de *C. acnes* nativo. Tal respuesta de anticuerpos puede presentar reactividad cruzada contra varios filotipos de *C. acnes* (p. ej., filotipos IA1, IA2, IB IC, II y III).

En algunas realizaciones, un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico
 30 comprende:

(i) una NSR de un polipéptido DsA1 de *C. acnes* o una NSR de un polipéptido DsA2 de *C. acnes* (p. ej., de un polipéptido DsA1 de *C. acnes*),

(i) un CSD1 de un polipéptido DsA1 de *C. acnes* o un CSD1 de un polipéptido DsA2 de *C. acnes* (p. ej., de un polipéptido DsA1 de *C. acnes*),

5 (iii) opcionalmente una SR1 de un polipéptido DsA1 de *C. acnes* (o una porción de este) y/o una SR1 de un polipéptido DsA2 de *C. acnes* (o una porción de este),

(iv) un CSD2 de un polipéptido DsA1 de *C. acnes* o un CSD2 de un polipéptido DsA2 de *C. acnes* (p. ej., de un polipéptido DsA2 de *C. acnes*),

10 (v) opcionalmente una SR2 de un polipéptido DsA1 de *C. acnes* (o una porción de este) y/o una SR2 de un polipéptido DsA2 de *C. acnes* (o una porción de este) y

(vi) un CSD3 de un polipéptido DsA1 de *C. acnes* o un CSD3 de un polipéptido DsA2 de *C. acnes* (p. ej., de un polipéptido DsA1 de *C. acnes*).

15 Como se describe en el documento WO2021/165543, las SR dentro de los polipéptidos DsA1 de *C. acnes* y los polipéptidos DsA2 de *C. acnes* son normalmente regiones que están enriquecidas en secuencias polipeptídicas intrínsecamente desordenadas (es decir, están muy desestructuradas). Las SR comparten la propiedad de conectar (“espaciar”) dos dominios estructurales, tales como los CSD (tales como CSD1, CSD2 y CSD3). Por lo tanto, los CSD de un polipéptido DsA1 de *C. acnes* y un polipéptido DsA2 de *C. acnes* se pueden combinar mediante el diseño apropiado de las SR de modo que se conserve su longitud (el número de residuos aminoacídicos). Ventajosamente, esta estrategia de diseño puede conservar la integridad estructural de los dominios estructurados

20 individuales (p. ej., los CSD) en los polipéptidos DsA1/DsA2 quiméricos resultantes.

25 En algunas realizaciones, un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico de la invención comprende (p. ej., del extremo N al extremo C) los residuos aminoacídicos 21-102 de la SEQ ID NO: 204, los residuos aminoacídicos 121-240 de la SEQ ID NO: 205 y los residuos aminoacídicos 250-295 de la SEQ ID NO: 204.

En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de acuerdo con una cualquiera de las SEQ ID NO: 28-30, SEQ ID NO: 39 o SEQ ID NO: 70-72 o SEQ ID NO: 81, o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad con esta. En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia que tiene al menos un 95 % de identidad con una cualquiera de las SEQ ID NO: 28-30, SEQ ID NO: 39 o SEQ ID NO: 70-72 o SEQ ID NO: 81. Preferentemente, el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 70, o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad con esta.

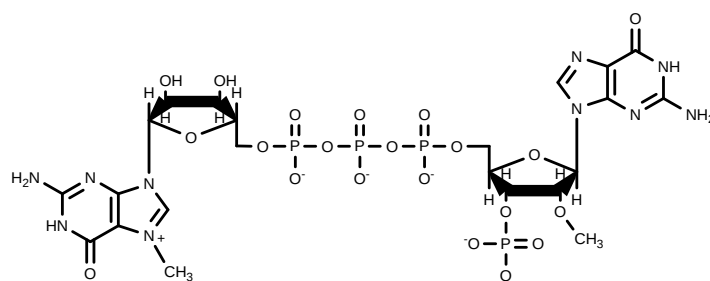
En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico comprende, consiste en o consiste esencialmente en (por ejemplo, comprende) una secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 70.

En algunas realizaciones, un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de nucleótidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 113-114, SEQ ID NO: 179, SEQ ID NO: 123 o SEQ ID NO: 190 (p. ej., la SEQ ID NO: 179), o una secuencia que tiene al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad con esta. En algunas realizaciones, un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de nucleótidos que es al menos un 85 % idéntica a la SEQ ID NO: 113-114, SEQ ID NO: 179, SEQ ID NO: 123 o SEQ ID NO: 190 (p. ej., la SEQ ID NO: 179). En algunas realizaciones, un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que

codifica el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico comprende o consiste en una secuencia de nucleótidos que codifica una secuencia de péptido señal de secreción (p. ej., una secuencia de péptido señal de secreción vírica descrita en el presente documento) y una secuencia de nucleótidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 179. En algunas realizaciones, un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico comprende o consiste en una secuencia de nucleótidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 113.

En una realización, el ácido nucleico de la invención es un ARNm que comprende o que consiste en (p. ej., que consiste en) los siguientes elementos estructurales:

(i) una caperuza en 5' con la siguiente estructura:



(ii) una región no traducida en 5' (5' UTR) que tiene la secuencia de ácido nucleico de acuerdo con la SEQ ID NO: 265;

(iii) una región codificante de proteína que tiene la secuencia de ácido nucleico de acuerdo con la SEQ ID NO: 113;

(iv) una región no traducida en 3' (3' UTR) que tiene la secuencia de ácido nucleico de acuerdo con la SEQ ID NO: 266; y

(v) una cola de poliA, opcionalmente en donde la cola de poliA comprende al menos 75 nucleótidos de adenosina (tales como aproximadamente 80 nucleótidos de adenosina) o al menos 100 nucleótidos de adenosina (tales como aproximadamente 115 nucleótidos de adenosina), por ejemplo, en donde la cola de poliA comprende al menos 100 nucleótidos de adenosina.

En algunas realizaciones, el ARNm se modifica químicamente y la modificación química comprende N1-metilpseudouridina en lugar de cada uridina. El ARNm puede estar encapsulado en una LNP.

DsA1/DsA2/PITP quimérico

5 Se han descrito polipéptidos DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quiméricos previamente (documento WO2021/165543).

Los polipéptidos DsA1 y polipéptidos DsA2 pueden expresarse en filotipos IA1, IA2, IC y II de *C. acnes*. Los anticuerpos inducidos por polipéptidos DsA1 y polipéptidos DsA2 pueden ser incapaces de unirse a los filotipos IB y III de *C. acnes* de MLST. En cambio, los anticuerpos contra polipéptidos PITP de *C. acnes* pueden ser capaces de unirse al tipo IB de *C. acnes* y al tipo III de *C. acnes*. Por lo tanto, PITP puede ser un antígeno que puede complementar la respuesta inmunitaria inducida por otros antígenos de *C. acnes*, p. ej., DsA1 y/o DsA2. La combinación de un polipéptido PITP de *C. acnes* y un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico (suministrada como un ARNm o en forma de una proteína recombinante) puede inducir una respuesta inmunitaria contra un número mayor de cepas o filotipos de *C. acnes* en comparación con el uso de antígenos individuales. Una combinación de DsA1 y/o DsA2 con PITP, suministrada como un ARNm o en forma de una proteína recombinante, puede proporcionar una respuesta inmunitaria (p. ej., respuesta de anticuerpos) que presenta reactividad cruzada contra un número mayor de cepas o filotipos de *C. acnes* con respecto al uso de solamente DsA1 y/o DsA2. Un polipéptido PITP de *C. acnes* se puede proporcionar como una molécula polipeptídica separada (suministrada como un ARNm o en forma de una proteína recombinante) o como parte de un polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico (suministrado como ARNm o en forma de una proteína recombinante).

Los polipéptidos DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quiméricos de la invención (suministrados como un ARNm o en forma de una proteína recombinante) se pueden utilizar para inducir una respuesta inmunitaria contra una infección por *C. acnes*. Un polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico (suministrado como un ARNm o en forma de una proteína recombinante) puede inducir una respuesta

inmunitaria contra un número mayor de cepas de *C. acnes* en comparación con el uso de antígenos individuales (p. ej., DsA1, DsA2 o PITP), p. ej., una respuesta inmunitaria con reactividad cruzada. Proporcionar un polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico, en lugar de proporcionar un polipéptido DsA1 de *C. acnes*, un polipéptido DsA2 de *C. acnes* y un polipéptido PITP de *C. acnes* como polipéptidos individuales (o un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico y un polipéptido PITP de *C. acnes*), puede facilitar la fabricación de polipéptidos y/o ácidos nucleicos para el uso en la presente invención.

Los polipéptidos DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quiméricos pueden inducir una respuesta de anticuerpos que presenta reactividad cruzada contra varios filotipos de *C. acnes*. Los inventores han demostrado que los polipéptidos DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quiméricos indujeron una respuesta de anticuerpos (p. ej., IgG) cuando se suministraron como un ARNm que codificaba el antígeno, así como en forma de proteína recombinante. Se demostró que los anticuerpos inducidos por polipéptidos DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quiméricos se unen a la superficie de bacterias *C. acnes*.

Por consiguiente, en un aspecto, la invención proporciona un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico, en donde el polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico comprende un ENFD de un polipéptido PITP de *C. acnes* y:

(i) (a) un CSD2 de un polipéptido DsA1 de *C. acnes* y (b) un CSD1 y/o un CSD3 de un polipéptido DsA2 de *C. acnes*; o

(ii) (a) un CSD2 de un polipéptido DsA2 de *C. acnes* y (b) un CSD1 y/o un CSD3 de un polipéptido DsA1 de *C. acnes*.

El ácido nucleico puede ser un ARN mensajero (ARNm).

En un aspecto adicional, la invención proporciona un polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico que comprende un ENFD de un polipéptido PITP de *C. acnes* y:

(i) (a) un CSD2 de un polipéptido DsA1 de *C. acnes* y (b) un CSD1 y/o un CSD3 de un polipéptido DsA2 de *C. acnes*; o

(ii) (a) un CSD2 de un polipéptido DsA2 de *C. acnes* y (b) un CSD1 y/o un CSD3 de un polipéptido DsA1 de *C. acnes*.

5 Un polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* para el uso en la presente invención, p. ej., suministrado como un ARNm o como una proteína recombinante, puede inducir una respuesta inmunitaria (p. ej., anticuerpos) en un sujeto. Tales anticuerpos pueden incluir anticuerpos que se unen específicamente a un polipéptido DsA1 de *C. acnes* nativo, anticuerpos que se unen específicamente a
10 un polipéptido DsA2 de *C. acnes* nativo y/o anticuerpos que se unen específicamente a un polipéptido PITP de *C. acnes* nativo. Tales anticuerpos pueden presentar reactividad cruzada contra varios filotipos de *C. acnes* (p. ej., filotipos IA1, IA2, IB IC, II y III).

En algunas realizaciones, un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico
15 comprende un CSD2 de un polipéptido DsA2 de *C. acnes*, un CSD1 de un polipéptido DsA1 de *C. acnes*, un CSD3 de un polipéptido DsA1 de *C. acnes* y un ENFD de un polipéptido PITP de *C. acnes*. En algunas realizaciones, un polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico comprende:

(a) (i) una NSR de un polipéptido DsA1 de *C. acnes* o una NSR de
20 un polipéptido DsA2 de *C. acnes* (p. ej., de un polipéptido DsA1 de *C. acnes*),

(i) un CSD1 de un polipéptido DsA1 de *C. acnes* o un CSD1 de un polipéptido DsA2 de *C. acnes* (p. ej., de un polipéptido DsA1 de *C. acnes*),

(iii) opcionalmente una SR1 de un polipéptido DsA1 de *C. acnes* (o una porción de este) y/o una SR1 de un polipéptido DsA2 de *C. acnes* (o una
25 porción de este),

(iv) un CSD2 de un polipéptido DsA1 de *C. acnes* o un CSD2 de un polipéptido DsA2 de *C. acnes* (p. ej., de un polipéptido DsA2 de *C. acnes*),

(v) opcionalmente una SR2 de un polipéptido DsA1 de *C. acnes* (o una porción de este) y/o una SR2 de un polipéptido DsA2 de *C. acnes* (o una
30 porción de este) y

(vi) un CSD3 de un polipéptido DsA1 de *C. acnes* o un CSD3 de un polipéptido DsA2 de *C. acnes* (p. ej., de un polipéptido DsA1 de *C. acnes*); y
 (b) un ENFD de un polipéptido PITP de *C. acnes*.

Como se describe en el documento WO2021/165543, las SR dentro de los polipéptidos DsA1 de *C. acnes* y los polipéptidos DsA2 de *C. acnes* y PITP son normalmente regiones que están enriquecidas en secuencias polipeptídicas intrínsecamente desordenadas (es decir, están muy desestructuradas). Las SR comparten la propiedad de enlazar (“espaciar”) dos dominios estructurales, tales como los CSD (tales como CSD1, CSD2 y CSD3 de polipéptidos DsA1 de *C. acnes* y polipéptidos DsA2 de *C. acnes*), el ENFD de polipéptidos PITP de *C. acnes* o el HbD de polipéptidos PITP de *C. acnes*. Por lo tanto, los CSD de un polipéptido DsA1 de *C. acnes* y un polipéptido DsA2 de *C. acnes*, el ENFD de un polipéptido PITP de *C. acnes* y/o el HbD de un polipéptido PITP de *C. acnes* se pueden combinar intercalándolos con SR de una longitud (número de residuos aminoacídicos) similar a la de las SR en un polipéptido de *C. acnes* nativo. Ventajosamente, esta estrategia de diseño puede conservar la integridad estructural de los dominios estructurados individuales (p. ej., los CSD, ENFD y HbD) en los polipéptidos DsA1/DsA2/PITP quiméricos resultantes.

En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de aminoácidos de acuerdo con una cualquiera de las SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40-41, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 82-83 o SEQ ID NO: 367-368 (p. ej., la SEQ ID NO: 80, 82, 83 o 368), o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad con esta. En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia que tiene al menos un 90 % de identidad con una cualquiera de las SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40-41, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 82-83 o SEQ ID NO: 367-368 (p. ej., la SEQ ID NO: 80, 82, 83 o 368). En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia que

tiene al menos un 95 % de identidad con una cualquiera de las SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40-41, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 82-83 o SEQ ID NO: 367-368 (p. ej., la SEQ ID NO: 80, 82, 83 o 368).

En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico consiste en una secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 80, 82, 83 o 368.

En algunas realizaciones, un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de nucleótidos de acuerdo con una cualquiera de las SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO 124-125, SEQ ID NO: 189 o SEQ ID NO: 191-192 (p. ej., la SEQ ID NO: 189 o 192), o una secuencia que tiene al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad con esta. En algunas realizaciones, un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de nucleótidos que es al menos un 85 % idéntica a una cualquiera de las SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO 124-125, SEQ ID NO: 189 o SEQ ID NO: 191-192 (p. ej., la SEQ ID NO: 189 o 192).

En algunas realizaciones, un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico consiste en una secuencia de nucleótidos que codifica una secuencia de péptido señal de secreción (p. ej., una secuencia de péptido señal de secreción vírica descrita en el presente documento) y una secuencia de acuerdo con una cualquiera de las SEQ ID NO:189 o SEQ ID NO: 191-192.

DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 quimérico

Los inventores han diseñado polipéptidos DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quiméricos (también denominados en el presente documento polipéptidos CAMP2/DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quiméricos). Los polipéptidos DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quiméricos de la presente invención pueden

provocar una respuesta inmunitaria (por ejemplo, anticuerpos). Esta respuesta puede ser una respuesta inmunitaria protectora (p. ej., anticuerpos). Los polipéptidos DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quiméricos pueden provocar una respuesta inmunitaria (por ejemplo, anticuerpos) contra el polipéptido DsA1 de *C. acnes* nativo, una respuesta inmunitaria (por ejemplo, anticuerpos) contra el polipéptido DsA2 de *C. acnes* nativo, una respuesta inmunitaria (por ejemplo , anticuerpos) contra el polipéptido PITP de *C. acnes nativo* y/o una respuesta inmunitaria (por ejemplo, anticuerpos) contra el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* nativo. Tales anticuerpos pueden presentar reactividad cruzada contra varios filotipos MLST de *C. acnes* (p. ej., filotipos IA1, IA2, IB IC, II y III). Los anticuerpos inducidos por polipéptidos DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quiméricos pueden neutralizar la actividad biológica del polipéptido CAMP2, tal como la actividad inflamatoria CAMP2. Los anticuerpos inducidos por los polipéptidos DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quiméricos pueden opsonizar bacterias *C. acnes*. La opsonización puede dirigir células efectoras inmunitarias tales como fagocitos a bacterias *C. acnes*. Esto puede conducir a la destrucción de bacterias *C. acnes* por acción de estas células efectoras inmunitarias (p. ej., muerte fagocítica). Los polipéptidos DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quiméricos pueden provocar la producción de anticuerpos que pueden neutralizar la actividad biológica del polipéptido CAMP2, como la actividad inflamatoria de CAMP2. Por lo tanto, los polipéptidos DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quiméricos pueden provocar (a) anticuerpos que neutralizan la actividad biológica de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes*, tal como la actividad inflamatoria, y (b) anticuerpos que opsonizan bacterias *C. acnes* y reclutan células efectoras inmunitarias tales como fagocitos. Por lo tanto, la inmunización con polipéptidos DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quiméricos de la invención (p. ej., suministrados como un ARNm o como una proteína recombinante) puede proporcionar una respuesta inmunitaria más eficaz (p. ej., eliminación más eficaz de bacterias *C. acnes* en un sujeto) que la inmunización con polipéptidos DsA1/DsA2/PITP quiméricos o antígenos DsA1, DsA2 individuales o un polipéptido CAMP2 por sí solo.

Los inventores han demostrado que los polipéptidos DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quiméricos provocaron una respuesta de anticuerpos (p. ej., IgG) contra antígenos DsA1, DsA2, PITP y CAMP2 cuando se administraron como un ARNm que codificaba el polipéptido. Se demostró que los anticuerpos inducidos por los polipéptidos DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quiméricos se unen a la superficie de bacterias *C. acnes*. Se demostró que los anticuerpos inducidos por los polipéptidos DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quiméricos inducen la muerte opsonofagocítica *in vitro*. Los inventores también han demostrado que los anticuerpos inducidos por los polipéptidos DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quiméricos redujeron la actividad cohemolítica del polipéptido CAMP2 de *C. acnes*.

La combinación de antígenos DsA1, DsA2, PITP y CAMP2 en un único polipéptido quimérico puede reducir ventajosamente la reactogenicidad de una vacuna, por ejemplo, en el contexto del polipéptido quimérico que se suministra en forma de un único ARNm, por ejemplo, porque una formulación de vacuna de un único ARNm puede utilizar menos lípido catiónico o LNP que una formulación de vacuna que comprende varios ARNm diferentes. La combinación de antígenos DsA1, DsA2, PITP y CAMP2 en un único polipéptido quimérico también puede facilitar la fabricación de una vacuna, ya que es más fácil, más rápido y menos costoso fabricar un único ácido nucleico o polipéptido que combine los cuatro antígenos en lugar de ácidos nucleicos o polipéptidos separados para los diferentes antígenos.

Como se ha descrito anteriormente en el presente documento, la estrategia de diseño puede explotar la integridad estructural de los dominios estructurados individuales (por ejemplo, los CSD de DsA1 y DsA2 y ENFD de PITP) en los polipéptidos DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 quiméricos resultantes. La estrategia de diseño también puede explotar el dominio enlazador flexible del polipéptido CAMP2 de *C. acnes* y/o una secuencia similar a enlazador flexible en el extremo C del polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico.

En consecuencia, en un aspecto, la invención proporciona un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico, en donde el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende un DsA1 de *C. acnes* o un fragmento inmunógeno del mismo, un DsA2 de *C. acnes* o un fragmento inmunógeno del mismo, un polipéptido PITP de *C. acnes* o un fragmento inmunógeno del mismo y un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* o un fragmento inmunógeno del mismo. Normalmente, el ácido nucleico es un ARN mensajero (ARNm).

En un aspecto adicional, la invención proporciona un polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico que comprende un DsA1 de *C. acnes* o un fragmento inmunógeno del mismo, un DsA2 de *C. acnes* o un fragmento inmunógeno del mismo, un polipéptido PITP de *C. acnes* o un fragmento inmunógeno del mismo y un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* o un fragmento inmunógeno del mismo.

En algunas realizaciones, el fragmento inmunogénico del polipéptido DsA1 de *C. acnes* es un CSD2 de un polipéptido DsA1 de *C. acnes*. En algunas realizaciones, el fragmento inmunogénico del polipéptido DsA2 de *C. acnes* es un CSD2 de un polipéptido DsA2 de *C. acnes*.

En algunas realizaciones, un segundo subdominio conservado ("CSD2") del polipéptido DsA1 de *C. acnes* corresponde a los residuos de aminoácidos 120-239 de la SEQ ID NO: 204. Véase la sección "DsA1" anterior para la descripción de otros dominios de un polipéptido DsA1 de *C. acnes* y sus límites. Como se conoce en la técnica, las posiciones del CSD2 y otros dominios dentro de otros polipéptidos de DsA1 de *C. acnes* nativos se pueden determinar alineando la secuencia polipeptídica de un polipéptido de DsA1 dado con la de la SEQ ID NO: 204, e identificar las regiones del polipéptido DsA1 que tienen una alta identidad de secuencia, respectivamente, con la del CSD2 y otros dominios de la SEQ ID NO: 204, respectivamente.

En algunas realizaciones, un segundo subdominio conservado ("CSD2") del polipéptido DsA2 de *C. acnes* corresponde a los residuos de aminoácidos 121-240 de la SEQ ID NO: 205. Véase la sección "DsA2" anterior para la descripción de otros dominios de un polipéptido DsA2 de *C. acnes* y sus límites. Como se conoce en la técnica, las posiciones del CSD2 y otros dominios dentro de otros polipéptidos de DsA2 de *C. acnes* nativos se pueden determinar alineando la secuencia polipeptídica de un polipéptido de DsA2 dado con la de la SEQ ID NO: 205, e identificar las regiones del polipéptido DsA2 que tienen una alta identidad de secuencia, respectivamente, con la del CSD2 y otros dominios de la SEQ ID NO: 205, respectivamente.

En algunas realizaciones, el fragmento inmunógeno de un polipéptido PITP de *C. acnes* comprende un ENFD de un polipéptido PITP de *C. acnes*.

En algunas realizaciones, un dominio extendido de la familia de neocarzinostatina ("ENFD") de PITP de *C. acnes* corresponde a los residuos de aminoácidos 1-133 de la SEQ ID NO: 206. Véase la sección "PITP" anterior para la descripción de otros dominios de un polipéptido PITP de *C. acnes* y sus límites. Como se conoce en la técnica, las posiciones de la ENFD y otros dominios dentro de otros polipéptidos PITP de *C. acnes* nativos se pueden determinar alineando la secuencia polipeptídica de un polipéptido PITP dado con la de la SEQ ID NO: 206, e identificar las regiones del polipéptido PITP que tienen una alta identidad de secuencia, respectivamente, con la de la ENFD y otros dominios de la SEQ ID NO: 206, respectivamente.

En algunas realizaciones, el fragmento inmunogénico del polipéptido CAMP2 de *C. acnes* comprende un dominio N-terminal del polipéptido CAMP2 de *C. acnes*.

En algunas realizaciones, el fragmento inmunógeno del polipéptido CAMP2 de *C. acnes* comprende un dominio N-terminal del polipéptido CAMP2 de *C. acnes* y un dominio enlazador del polipéptido CAMP2 de *C. acnes*. En algunas realizaciones, el fragmento inmunogénico del polipéptido CAMP2 de *C. acnes* comprende un dominio C-terminal del polipéptido CAMP2 de *C. acnes*. En algunas realizaciones, el fragmento inmunógeno del polipéptido CAMP2 de *C. acnes* comprende un

dominio enlazador del polipéptido CAMP2 de *C. acnes* y un dominio C-terminal del polipéptido CAMP2 de *C. acnes*.

En algunas realizaciones, un dominio N-terminal de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* corresponde a los restos 29-176 de la SEQ ID NO: 202. En algunas realizaciones, un dominio C-terminal de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* corresponde a los restos 189-267 de la SEQ ID NO: 202. En algunas realizaciones, un dominio enlazador de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* corresponde a los restos 177-188 de la SEQ ID NO: 202. Como se conoce en la técnica, las posiciones del dominio N-terminal, el dominio C-terminal y el dominio enlazador dentro de otros polipéptidos CAMP2 de *C. acnes* se pueden determinar alineando la secuencia polipeptídica de un polipéptido CAMP2 dado con la de la SEQ ID NO: 202, e identificar las regiones del polipéptido CAMP2 que tienen una alta identidad de secuencia con la secuencia del dominio N-terminal, dominio C-terminal y dominio enlazador de la SEQ ID NO: 202, respectivamente. El análisis de 430 secuencias polipeptídicas CAMP2 de cepas naturales de *C. acnes* mostró que había un alto grado de conservación de secuencias entre las secuencias CAMP2 (véase la sección "CAMP2" anterior). La Figura 44 muestra un alineamiento ilustrativo de secuencias polipeptídicas CAMP2 de cepas de *C. acnes* de origen natural con respecto a la SEQ NO: 202 (es decir, KPA171202_REF en la Figura 44). Se pueden utilizar alineaciones tales como la de la Figura 44 para identificar las posiciones del dominio N-terminal, el dominio C-terminal y el dominio enlazador en secuencias distintas de la SEQ ID NO: 202.

En algunas realizaciones, dos o más cualesquiera de (1) el polipéptido DsA1 de *C. acnes* o un fragmento inmunógeno del mismo, (2) el polipéptido DsA2 de *C. acnes* o un fragmento inmunógeno del mismo, (3) el polipéptido PITP de *C. acnes* o un fragmento inmunógeno del mismo, y (4) el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* o un fragmento inmunógeno del mismo, se unen a través de enlazadores (tales como los enlazadores descritos en la sección "Enlazadores" a continuación). En otras realizaciones, (1) el polipéptido DsA1 de *C. acnes* o un fragmento inmunógeno del mismo, (2) el polipéptido DsA2 de *C. acnes* o un fragmento inmunógeno del mismo,

(3) el polipéptido PITP de *C. acnes* o un fragmento inmunógeno del mismo, y (4) el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* o un fragmento inmunógeno del mismo están fusionados directamente entre sí (es decir, no hay enlazador, tal como un enlazador de aminoácidos, que conecte los polipéptidos DsA1, DsA2, PITP y CAMP2 o sus fragmentos inmunógenos entre sí). En algunas realizaciones, dichos polipéptidos DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quiméricos comprenden un dominio enlazador del polipéptido CAMP2 de *C. acnes*.

En una realización, el polipéptido quimérico de *C. acnes* DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 comprende:

(a) un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico, por ejemplo, como se describe en el presente documento;

(b) un fragmento inmunógeno de un polipéptido PITP de *C. acnes* que comprende un ENFD de un polipéptido PITP de *C. acnes*; y

(c) un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* o un fragmento inmunógeno del mismo.

En algunas realizaciones, el polipéptido de *C. acnes* DsA1/DsA2 quimérico comprende (i) (1) un CSD2 de un polipéptido de *C. acnes* DsA1 y (2) un CSD1 y/o un CSD3 de un polipéptido de *C. acnes* DsA2; o (ii) (1) un CSD2 de un polipéptido de *C. acnes* DsA2 y (2) un CSD1 y/o un CSD3 de un polipéptido de *C. acnes* DsA1. Véase arriba y las secciones "DsA1" y "DsA2" para la descripción de los dominios de los polipéptidos DsA1 y DsA2 de *C. acnes*, respectivamente, y sus límites. En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico es como se define en (ii). Normalmente, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende un CSD1 de un polipéptido DsA1 de *C. acnes*, un CSD2 de un polipéptido DsA2 de *C. acnes* y un CSD3 de un polipéptido DsA1 de *C. acnes*.

En algunas realizaciones, el polipéptido de *C. acnes* DsA1/DsA2 quimérico de (a) comprende una secuencia de acuerdo con la SEQ ID NO: 70, o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un

93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad con esta.

En algunas realizaciones, el fragmento inmunógeno de un polipéptido PITP de *C. acnes* que comprende un ENFD de un polipéptido PITP de *C. acnes* en (b) comprende la secuencia correspondiente a los residuos de aminoácidos 1-133 de la SEQ ID NO: 73 o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad con la secuencia de residuos de aminoácidos 1-133 de la SEQ ID NO: 73.

En algunas realizaciones, el fragmento inmunógeno de un polipéptido PITP de *C. acnes* que comprende un ENFD de un polipéptido PITP de *C. acnes* en (b) comprende la secuencia correspondiente a los residuos de aminoácidos 1-146 de la SEQ ID NO: 73 o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad con la secuencia de residuos de aminoácidos 1-146 de la SEQ ID NO: 73. Normalmente, el fragmento inmunógeno de un polipéptido PITP de *C. acnes* que comprende un ENFD de un polipéptido PITP de *C. acnes* en (b) comprende la secuencia correspondiente a los residuos de aminoácidos 1-146 de la SEQ ID NO: 73.

En algunas realizaciones, (a) y (b) comprenden la SEQ ID NO: 80, o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad con esta. En algunas realizaciones, (a) y (b) comprenden la SEQ ID NO: 82, o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad con esta. En algunas realizaciones, (a) y (b) comprenden la SEQ ID NO: 83, o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos

un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad con esta. Normalmente, (a) y (b) comprenden la SEQ ID NO: 80.

En algunas realizaciones, (c) es un polipéptido CAMP2 de *C. acnes*, por ejemplo, un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* de longitud completa, típicamente una forma madura de polipéptido CAMP2 de longitud completa de *C. acnes* (sin la secuencia de péptido señal nativa). En algunas realizaciones, (c) comprende la SEQ ID NO: 203, o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad con esta. Normalmente, (c) comprende la SEQ ID NO: 203.

En algunas realizaciones, el fragmento inmunogénico de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* en (c) comprende un dominio N-terminal de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes*. En algunas realizaciones, (c) comprende residuos de aminoácidos 29-176 de la SEQ ID NO: 202 o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad con la secuencia de residuos de aminoácidos 29-176 de la SEQ ID NO: 202.

En algunas realizaciones, el fragmento inmunógeno de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* en (c) comprende un dominio N-terminal de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* y un dominio enlazador de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes*. En algunas realizaciones, (c) comprende residuos de aminoácidos 29-188 de la SEQ ID NO: 202 o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad con la secuencia de residuos de aminoácidos 29-188 de la SEQ ID NO: 202.

En algunas realizaciones, el fragmento inmunogénico de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* en (c) comprende un dominio C-terminal de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes*. En algunas realizaciones, (c) comprende residuos de

aminoácidos 189-267 de la SEQ ID NO: 202 o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad con la secuencia de residuos de aminoácidos 189-267 de la SEQ ID NO: 202.

En algunas realizaciones, el fragmento inmunógeno de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* en (c) comprende un dominio enlazador de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* y un dominio C-terminal de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes*. En algunas realizaciones, (c) comprende residuos de aminoácidos 177-267 de la SEQ ID NO: 202 o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad con la secuencia de residuos de aminoácidos 177-267 de la SEQ ID NO: 202.

En algunas realizaciones, dos o más cualesquiera de (a), (b) y (c) se unen a través de enlazadores (tales como los enlazadores descritos en la sección "Enlazadores" a continuación). Normalmente, (a), (b) y (c) se fusionan directamente entre sí (es decir, no hay enlazador, tal como un enlazador de aminoácidos, que conecta (a), (b) y (c)), por ejemplo, en el orden especificado a continuación. En algunas realizaciones, (c) comprende un dominio enlazador del polipéptido CAMP2 de *C. acnes*.

En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende, desde el extremo N hasta el extremo C: (a), (b) y (c). En otras realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende, desde el extremo N hasta el extremo C: (c), (a) y (b). Normalmente, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende, desde el extremo N hasta el extremo C: (c), (a) y (b).

En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de dominio transmembrana (TMB), por ejemplo, un TMB como se define en el presente documento (véase la sección

"Dominios transmembranarios heterólogos (TMB)" a continuación). En determinadas realizaciones, la secuencia de TMB se coloca en el extremo N del polipéptido quimérico de *C. acnes* DsA1/DsA2/PITP/CAMP2. En otras modalidades, la secuencia de TMB se coloca en el extremo C del polipéptido quimérico de *C. acnes* DsA1/DsA2/PITP/CAMP2. Normalmente, la secuencia de TMB se ubica en el extremo C del polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico.

En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de acuerdo con una cualquiera de las SEQ ID NO: 373-376 (p. ej., la SEQ ID NO: 373 o 374, o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad con esta. En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de acuerdo con la SEQ ID NO: 373 o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad con esta, y una secuencia TMB (por ejemplo, una secuencia de acuerdo con la SEQ ID NO: 84). Típicamente, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende (1) una secuencia de acuerdo con la SEQ ID NO: 374 o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad con esta; o (2) una secuencia de acuerdo con la SEQ ID NO: 373, o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad con esta; una secuencia de TMB.

En algunas realizaciones, el ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una secuencia de

péptido señal de secreción como se describe en el presente documento (por ejemplo, una secuencia de péptido señal de secreción como se describe en la sección "Secuencias de péptido señal de secreción (SS)" a continuación).

En algunas realizaciones, el ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID NO: 386-390 o SEQ ID NO: 393 (p. ej., una cualquiera de las SEQ ID NO: 387 o una secuencia que tiene al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % de identidad con esta. En algunas realizaciones, el ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de acuerdo con la SEQ ID NO: 384 o SEQ ID NO: 385 o una secuencia que tiene al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad con esta, y una secuencia de nucleótidos que codifica una secuencia de TMB (p. ej., una secuencia de nucleótidos que codifica la SEQ ID NO: 84). En algunas realizaciones, la secuencia de nucleótidos que codifica la SEQ ID NO: 84 es como se define en la SEQ ID NO: 395 o 396. Típicamente, el ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende (1) una secuencia de acuerdo con la SEQ ID NO: 387, o una secuencia que tenga al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad con esta; o (2) una secuencia de acuerdo con la SEQ ID NO: 384 o SEQ ID NO: 385 o una secuencia que tiene al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos

un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad con esta, y una secuencia de nucleótidos que codifica una secuencia de TMB.

En algunas realizaciones, el ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de nucleótidos de acuerdo con una cualquiera de las SEQ ID NO: 377-383 o SEQ ID NO: 394 (p. ej., una cualquiera de las SEQ ID NO: 377-380) o una secuencia que tiene al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % de identidad con esta. En algunas realizaciones, el ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de nucleótidos que es al menos un 75 % idéntica a una cualquiera de las SEQ ID NO: 377-380.

En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de un polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico como se describe en el presente documento. En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico como se describe en el presente documento.

Variantes de los polipéptidos de la presente invención

Mutación de residuos de cisteína

Uno o más residuos de cisteína en los polipéptidos descritos en el presente documento pueden mutarse mediante sustituciones de un solo aminoácido, p. ej., a un residuo de serina. Los residuos de cisteína participan en la formación de puentes disulfuro y, por tanto, las mutaciones de cisteína pueden limitar la multimerización del polipéptido.

En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1 de *C. acnes* descrito en el presente documento comprende una sustitución de un solo aminoácido en una o

más (p. ej., todas las) posiciones correspondientes a un residuo de cisteína en un polipéptido DsA1 de *C. acnes* nativo. En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1 de *C. acnes* comprende una o más sustituciones de un solo aminoácido en las posiciones correspondientes a C25 (p. ej., C25S), C291 (p. ej., C291S o C291M) y/o C293 (p. ej., C293S o C293P) de la SEQ ID NO: 204.

En algunas realizaciones, el polipéptido DsA2 de *C. acnes* descrito en el presente documento comprende una sustitución de un solo aminoácido en una o más (p. ej., todas las) posiciones correspondientes a un residuo de cisteína en un polipéptido DsA2 de *C. acnes* nativo. En algunas realizaciones, el polipéptido DsA2 de *C. acnes* comprende una o más sustituciones de un solo aminoácido en las posiciones correspondientes a C26 (p. ej., C26S) y/o C292 (p. ej., C292S) de la SEQ ID NO: 205.

En algunas realizaciones, el polipéptido PITP de *C. acnes* descrito en el presente documento comprende una sustitución de un solo aminoácido en una o más (p. ej., todas las) posiciones correspondientes a un residuo de cisteína en un polipéptido PITP de *C. acnes* nativo. En algunas realizaciones, el polipéptido PITP de *C. acnes* comprende una o más sustituciones de un solo aminoácido en las posiciones correspondientes a C200 (p. ej., C200S), C371 (p. ej., C371S) y/o C429 (p. ej., C429S) de la SEQ ID NO: 206. En algunas realizaciones, el polipéptido PITP de *C. acnes* comprende una sustitución de un solo aminoácido en una o ambas (p. ej., ambas) posiciones correspondientes a C200 (p. ej., C200S) y C371 (p. ej., C371S) de la SEQ ID NO: 206. En realizaciones preferidas, un polipéptido PITP de *C. acnes* que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 73 comprende un residuo de serina en las posiciones 200 y 371. En otras realizaciones, un polipéptido PITP de *C. acnes* que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 77 comprende un residuo de serina en las posiciones 200 y 371.

En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico descrito en el presente documento comprende una sustitución de un solo aminoácido en una o más (p. ej., todas las) posiciones correspondientes a un residuo de cisteína en un polipéptido DsA1 de *C. acnes* nativo y/o una o más (p. ej.,

todas las) posiciones correspondientes a un residuo de cisteína en un polipéptido DsA2 de *C. acnes* nativo. En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico comprende una sustitución de un solo aminoácido en una o más (todas las) posiciones correspondientes a C25 (p. ej., C25S), C291 (p. ej., C291S o C291M) y/o C293 (p. ej., C293S o C293P) de la SEQ ID NO: 204. En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico comprende una o más (p. ej., las tres) sustituciones de aminoácidos seleccionadas de C25S, C291S y/o C293P en donde C25, C291 y/o C293 corresponden a los residuos en la SEQ ID NO: 204. En realizaciones preferidas, un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 70 comprende un residuo de serina en las posiciones 25 y 291, y un residuo de prolina en la posición 293. En otras realizaciones, un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 72 comprende un residuo de serina en las posiciones 25 y 291, y un residuo de prolina en la posición 293. En otras realizaciones, un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 81 comprende un residuo de serina en la posición 18 y un residuo de prolina en la posición 286. En otras realizaciones, un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 81 comprende un residuo de serina en la posición 18, un residuo de metionina en la posición 284 y un residuo de prolina en la posición 286, en donde los residuos corresponden a las posiciones 25, 291 y 293, respectivamente, en la SEQ ID NO: 204.

En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico descrito en el presente documento comprende una sustitución de un solo aminoácido en una o más (p. ej., todas las) posiciones correspondientes a un residuo de cisteína en un polipéptido DsA1 de *C. acnes* nativo, una o más (p. ej., todas las) posiciones correspondientes a un residuo de cisteína en un polipéptido DsA2 de *C. acnes* nativo y/o una o más (p. ej., todas las) posiciones correspondientes a un residuo de cisteína en un polipéptido PITP de *C. acnes* nativo. En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico comprende una sustitución de un solo aminoácido en una o más

posiciones correspondientes a C25 (p. ej., C25S), C291 (p. ej., C291S o C291M) y/o C293 (p. ej., C293S o C293P) de la SEQ ID NO: 204. En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico comprende una o más (p. ej., las tres) sustituciones de aminoácidos seleccionadas de C25S, C291S y/o C293P en donde C25, C291 y/o C293 corresponden a los residuos en la SEQ ID NO: 204. En algunas realizaciones, un polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 80 o de la SEQ ID NO: 83 (p. ej., la SEQ ID NO: 83) comprende un residuo de serina en las posiciones 25 y 291, y un residuo de prolina en la posición 293. En otras realizaciones, un polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 82 comprende un residuo de serina en la posición 25 y un residuo de prolina en la posición 293. En algunas realizaciones, un polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 82 comprende un residuo de serina en la posición 25, un residuo de metionina en la posición 291 y un residuo de prolina en la posición 293. En otras realizaciones, un polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 368 comprende un residuo de serina en la posición 18, un residuo de metionina en la posición 284 y un residuo de prolina en la posición 286. En algunas realizaciones, un polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 368 comprende un residuo de serina en la posición 18, un residuo de metionina en la posición 284 y un residuo de prolina en la posición 286, en donde los residuos corresponden a las posiciones 25, 291 y 293, respectivamente, en la SEQ ID NO: 204.

En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico descrito en el presente documento comprende una sustitución de un solo aminoácido en una o más (p. ej., todas las) posiciones correspondientes a un residuo de cisteína en un polipéptido DsA1 de *C. acnes* nativo, una o más (p. ej., todas las) posiciones correspondientes a un residuo de cisteína en un polipéptido DsA2 de *C. acnes* nativo y/o una o más (p. ej., todas las) posiciones correspondientes a un residuo de cisteína en un polipéptido PITP de *C. acnes*

nativo. En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico comprende una sustitución de un solo aminoácido en una o más posiciones correspondientes a C25 (p. ej., C25S), C291 (p. ej., C291S o C291M) y/o C293 (p. ej., C293S o C293P) de la SEQ ID NO: 204. En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende una o más (p. ej., las tres) sustituciones de aminoácidos seleccionadas de C25S, C291S y/o C293P en donde C25, C291 y/o C293 corresponden a los residuos en la SEQ ID NO: 204. En algunas realizaciones, un polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 373 o de la SEQ ID NO: 374 comprende un residuo de serina en las posiciones 264 y 530, y un residuo de prolina en la posición 532. En otras realizaciones, un polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 375 comprende un residuo de serina en las posiciones 185 y 451, y un residuo de prolina en la posición 453. En otras realizaciones, un polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 376 comprende un residuo de serina en las posiciones 25 y 291, y un residuo de prolina en la posición 293.

Mutación de sitios de glucosilación

La glucosilación puede ocurrir en células eucariotas, pero normalmente no ocurre en células procariotas. "Glicosilación", como se utiliza en el presente documento, se refiere a la adición de una unidad de sacárido a una proteína. En particular, la N-glucosilación es la unión de un glucano a un nitrógeno amídico de un residuo de asparagina (Asn; N) en una proteína. La N-glucosilación puede ocurrir en cualquier residuo de asparagina en una proteína que sea accesible a y reconocida por enzimas de glucosilación después de la traducción de la proteína, y es más común en asparaginas accesibles que forman parte de un motivo NXS/T, en donde el segundo residuo aminoacídico que sigue a la asparagina es una serina (Ser; S) o treonina (Thr; T). La O-glucosilación es la unión de un glucano al átomo de oxígeno de un residuo de serina (Ser) o treonina (Thr) en una proteína. El proceso de unión da como resultado una proteína glucosilada. Este glucano puede

ser un polisacárido. Un patrón de glucosilación no humano puede hacer que un polipéptido sea indeseablemente reactógeno cuando se utiliza para inducir anticuerpos. Adicionalmente, la glucosilación de un polipéptido que no está normalmente glucosilado (tal como polipéptidos que se describen en el presente documento, que son polipéptidos que están presentes de forma natural en células procariotas o que provienen de tales polipéptidos) puede alterar su inmunogenia. Por ejemplo, la glucosilación puede enmascarar epítomos inmunogénicos importantes en una proteína. Por tanto, para reducir o eliminar la glucosilación, se pueden modificar ya sean residuos de asparagina o residuos de serina/treonina, por ejemplo, mediante la sustitución por otro aminoácido.

En determinadas realizaciones, uno o más del polipéptido CAMP2 de *C. acnes*, el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado, el polipéptido DsA1 de *C. acnes*, el polipéptido DsA2 de *C. acnes*, el polipéptido PITP de *C. acnes*, el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico y el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico como se describe en la presente comprende al menos un sitio de glicosilación mutado, preferentemente al menos un sitio de glicosilación unido a N mutado y/o al menos un sitio de glicosilación unido a O. En algunas realizaciones, se eliminan uno o más sitios de glicosilación en uno o más del polipéptido CAMP2 de *C. acnes*, el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado, el polipéptido DsA1 de *C. acnes*, el polipéptido DsA2 de *C. acnes*, el polipéptido PITP de *C. acnes*, el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico y el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico como se describe en la presente. La eliminación de un sitio de glucosilación puede disminuir la glucosilación del polipéptido. En algunas realizaciones, uno o más del polipéptido CAMP2 de *C. acnes*, el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado, el polipéptido DsA1 de *C. acnes*, el polipéptido DsA2 de *C. acnes*, el polipéptido PITP de *C. acnes*, el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico y el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico como se describe en la presente tienen glicosilación disminuida con

respecto al polipéptido nativo respectivo. La eliminación de sitios de glucosilación puede eliminar la glucosilación del polipéptido.

En determinadas realizaciones, la modificación comprende una sustitución de uno o más de un aminoácido N, S y T (p. ej., en un motivo de secuencia NXS/T), en donde X corresponde a cualquier aminoácido. En algunas realizaciones, la modificación comprende una sustitución de uno o más residuos de serina (Ser) o treonina (Thr) en una proteína. En algunas realizaciones, un aminoácido N, S o T se sustituye por una sustitución de aminoácido conservadora. Normalmente, un aminoácido N puede sustituirse por un aminoácido Q, S, K o A.

En algunas realizaciones, el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* y/o el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado descritos en el presente documento comprenden una sustitución de un solo aminoácido en una o más (p. ej., todas las) posiciones correspondientes a un sitio de glucosilación en un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* nativo. Un sitio de N-glucosilación en un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* y/o un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado puede estar presente en una posición correspondiente al residuo N166 de la SEQ ID NO: 203. Un sitio de N-glucosilación puede incluir N166, F167 y S168, con glucosilación en N166, con respecto a la numeración de residuos en la SEQ ID NO: 203. En algunas realizaciones, un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* y/o un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado de la invención comprenden una sustitución de aminoácidos en la posición correspondiente a N166 (p. ej., N166S), con respecto a la numeración de residuos en la SEQ ID NO: 203. Un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* y/o un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado pueden comprender la secuencia de la SEQ ID NO: 50, 51 o 54 con serina en la posición 166. Puede haber presentes sitios de O-glucosilación en un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* y/o un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado en las posiciones correspondientes a cualesquiera residuos de S y/o T en la SEQ ID NO: 203.

En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1 de *C. acnes* descrito en el presente documento comprende una sustitución de un solo aminoácido en una o más (p. ej., todas las) posiciones correspondientes a un sitio de glucosilación en un

polipéptido DsA1 de *C. acnes* nativo. Un sitio de N-glucosilación en un polipéptido DsA1 de *C. acnes* puede estar presente en una posición correspondiente al residuo N255 de la SEQ ID NO: 204. Un sitio de N-glucosilación puede incluir N255, I256 y T257, con glucosilación en N255, con respecto a la numeración de residuos en la SEQ ID NO: 204. En algunas realizaciones, un polipéptido DsA1 de *C. acnes* como se describe en el presente documento comprende una sustitución de aminoácidos en la posición correspondiente a N255 (p. ej., N255Q o N255Q), con respecto a la numeración de residuos en la SEQ ID NO: 204. Puede haber presentes sitios de O-glucosilación en un polipéptido DsA1 de *C. acnes* como se describe en el presente documento en las posiciones correspondientes a cualesquiera residuos de S y/o T en la SEQ ID NO: 204, tales como el residuo S292.

En algunas realizaciones, el polipéptido DsA2 de *C. acnes* descrito en el presente documento comprende una sustitución de un solo aminoácido en una o más (p. ej., todas las) posiciones correspondientes a un sitio de glucosilación en un polipéptido DsA2 de *C. acnes* nativo. Un sitio de N-glucosilación en un polipéptido DsA2 de *C. acnes* puede estar presente en una posición correspondiente al residuo N5 de la SEQ ID NO: 205. Un sitio de N-glucosilación puede incluir N5, S6 y S7, con glucosilación en N5, con respecto a la numeración de residuos en la SEQ ID NO: 205. En algunas realizaciones, un polipéptido DsA2 de *C. acnes* como se describe en el presente documento comprende una sustitución de aminoácidos en la posición correspondiente a N5 (p. ej., N5Q), con respecto a la numeración de residuos en la SEQ ID NO: 205. Un polipéptido DsA2 de *C. acnes* puede comprender la secuencia de la SEQ ID NO: 68 o 69 con glutamina en la posición 5. Puede haber presentes sitios de O-glucosilación en un polipéptido DsA2 de *C. acnes* como se describe en el presente documento en las posiciones correspondientes a cualesquiera residuos de S y/o T en la SEQ ID NO: 205.

En algunas realizaciones, el polipéptido PITP de *C. acnes* descrito en el presente documento comprende una sustitución de un solo aminoácido en una o más (p. ej., todas las) posiciones correspondientes a un sitio de glucosilación en un polipéptido PITP de *C. acnes* nativo. Puede haber presentes sitios de N-

glucosilación en un polipéptido PITP de *C. acnes* en las posiciones correspondientes a los residuos N230, N242, N362 y N373 de la SEQ ID NO: 206. Los sitios de N-glucosilación pueden incluir (i) N230, G231 y S232 (con glucosilación en N230); (ii) N242, G243 y S244 (con glucosilación en N242); (iii) N362, L363 y T364 (con glucosilación en N362); y/o (iv) N373, V374 y T375 (con glucosilación en N373), en donde la numeración de aminoácidos es con respecto a la numeración de residuos en la SEQ ID NO: 206. En algunas realizaciones, un polipéptido PITP de *C. acnes* de la invención comprende una o más (p. ej., todas las) sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a N230 (p. ej., N230K), S244 (p. ej., S244G), N362 (p. ej., N362Q) y N373 (p. ej., N373S), en donde la numeración de aminoácidos es con respecto a la numeración de residuos en la SEQ ID NO: 206. En algunas realizaciones, un polipéptido PITP de *C. acnes* como se describe en el presente documento comprende una o más (p. ej., todas las) sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a N230 (p. ej., N230K), N242 (p. ej., N242G), N362 (p. ej., N362Q) y N373 (p. ej., N373S), en donde la numeración de aminoácidos es con respecto a la numeración de residuos en la SEQ ID NO: 206. Puede haber presentes sitios de O-glucosilación en un polipéptido PITP de *C. acnes* en las posiciones correspondientes a cualesquiera residuos de S y/o T en la SEQ ID NO: 206. En algunas realizaciones, un polipéptido PITP de *C. acnes* como se describe en el presente documento comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 76, 77 o 79 con lisina en la posición 230, glicina en la posición 244, glutamina en la posición 362 y serina en la posición 373.

En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico descrito en el presente documento comprende una sustitución de un solo aminoácido en una o más (p. ej., todas las) posiciones correspondientes a un sitio de glucosilación en un polipéptido DsA1 de *C. acnes* nativo y/o una o más (p. ej., todas las) posiciones correspondientes a un sitio de glucosilación en un polipéptido DsA2 de *C. acnes* nativo. Un sitio de N-glucosilación en un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico puede estar presente en una posición correspondiente al residuo N255 de la SEQ ID NO: 70. Un sitio de N-glucosilación puede incluir N255,

I256 y T257, con glucosilación en N255, con respecto a la numeración de residuos en la SEQ ID NO: 70. En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico comprende una sustitución N255Q o una N255A (p. ej., N255Q) en la SEQ ID NO: 70. En algunas realizaciones, un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico de la invención comprende una sustitución de aminoácidos en la posición correspondiente a N255 (p. ej., N255Q o N255A), con respecto a la numeración de residuos en la SEQ ID NO: 70. En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 72 con glutamina en la posición 255. Puede haber presentes sitios de O-glucosilación en un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico en las posiciones correspondientes a cualesquiera residuos de S y/o T en la SEQ ID NO: 70. Puede haber presentes sitios de O-glucosilación en un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico en las posiciones correspondientes a los residuos S291 y/o S292 de la SEQ ID NO: 70. Un sitio de O-glucosilación puede incluir S291 y S292, con glucosilación en S291 y/o S292, con respecto a la numeración de residuos en la SEQ ID NO: 70. En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico comprende una o más (p. ej., las tres) sustituciones seleccionadas de una N255A, una S291M y una S292G. En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico comprende una o más (p. ej., las tres) sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a N255 (p. ej., N255A), S291 (p. ej., S291M) y S292 (p. ej., S292G), con respecto a la numeración de residuos en la SEQ ID NO: 70. Un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico puede comprender la secuencia de la SEQ ID NO: 81 con alanina en la posición 248, metionina en la posición 284 y glicina en la posición 285. En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 81 con alanina en la posición 248, metionina en la posición 284 y glicina en la posición 285, en donde los residuos corresponden a las posiciones 255, 291 y 292, respectivamente, en la SEQ ID NO: 70.

En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico descrito en el presente documento comprende una sustitución de un solo

aminoácido en una o más (p. ej., todas las) posiciones correspondientes a un sitio de glucosilación en un polipéptido DsA1 de *C. acnes* nativo, una o más (p. ej., todas las) posiciones correspondientes a un sitio de glucosilación en un polipéptido DsA2 de *C. acnes* nativo y/o una o más (p. ej., todas las) posiciones correspondientes a un sitio de glucosilación en un polipéptido PITP de *C. acnes* nativo. Un sitio de N-glucosilación en un polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico puede estar presente en una posición correspondiente al residuo N255, con respecto a la numeración de residuos en la SEQ ID NO: 80 u 83. Un sitio de N-glucosilación puede incluir N255, I256 y T257, con glucosilación en N255, con respecto a la numeración de residuos en la SEQ ID NO: 80 u 83. En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico comprende una sustitución N255Q o una N255A (p. ej., N255A) en la SEQ ID NO: 80 u 83. En algunas realizaciones, un polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico de la invención comprende una sustitución de aminoácidos en la posición correspondiente a N255 (p. ej., N255Q o N255A), con respecto a la numeración de residuos en la SEQ ID NO: 80 u 83. Puede haber presentes sitios de O-glucosilación en un polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico en las posiciones correspondientes a cualesquiera residuos de S y/o T en la SEQ ID NO: 80 u 83. Puede haber presentes sitios de O-glucosilación en un polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico en una o más (p. ej., todas las) posiciones correspondientes a los residuos S291, S292, T299, T301, T303, T305, T425, S428 y T436 de la SEQ ID NO: 80 u 83. En algunas realizaciones, un polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico como se describe en el presente documento comprende la sustitución de la región PTPTPTPT ubicada entre las posiciones 298 y 305 de la SEQ ID NO: 80 u 83, por un conector GGGGG. En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico comprende una o más (p. ej., todas las) sustituciones seleccionadas de una S291M, S292G, P298G, T299G, P300G, T301G, P302G, T425G, S428G y T436G. En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico comprende una o más (p. ej., todas las) sustituciones seleccionadas de una S291M, S292G, T425G, S428G y T436G, con respecto a la numeración de residuos en la

SEQ ID NO: 80 u 83. En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico comprende una o más (p. ej., todas las) sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a S291 (p. ej., S291M), S292 (p. ej., S292G), T425 (p. ej., T425G), S428 (p. ej., S428G) y T436 (p. ej., T436G), con respecto a la numeración de residuos en la SEQ ID NO: 80 u 83. Un polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico puede comprender la secuencia de la SEQ ID NO: 82 con metionina en la posición 291, y glicina en las posiciones 292, 299, 301, 422, 425 y 433. En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico puede comprender la secuencia de la SEQ ID NO: 82 con metionina en la posición 291, y glicina en las posiciones 292, 298, 299, 300, 301, 302, 422, 425 y 433. En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico puede comprender la secuencia de la SEQ ID NO: 368 con alanina en la posición 248, metionina en la posición 284, y glicina en las posiciones 285, 291, 292, 293, 294, 295, 415, 418 y 426.

En algunas realiaciones, el polipéptido de *C. acnes* DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 quimérico descrito en la presente comprende una única sustitución de aminoácidos en una o más (*por ejemplo*, todas) posiciones correspondientes a un sitio de glicosilación en un polipéptido de *C. acnes* DsA1 nativo, una o más (*por ejemplo*, todas) posiciones correspondientes a un sitio de glicosilación en un polipéptido de *C. acnes* DsA2 nativo, una o más (*por ejemplo*, todas) posiciones correspondientes a un sitio de glicosilación en un polipéptido de *C. acnes* PITP nativo y/o una o más (*por ejemplo*, todas) posiciones correspondientes a un sitio de glicosilación en un polipéptido de *C. acnes* CAMP2 nativo.

Como se describe en la sección anterior “DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 quimérico”, un polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico puede comprender un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* o un fragmento inmunogénico del mismo. Un sitio de N-glucosilación en un polipéptido DsA1/DsA2/CAMP2 de *C. acnes* quimérico puede estar presente en una posición correspondiente al residuo N166 de la SEQ ID NO: 203 (es decir, correspondiente a N194 de la SEQ ID NO: 202), si ese residuo está presente en el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C.*

acnes quimérico. Un sitio de N-glicosilación en un polipéptido quimérico de *C. acnes* DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 puede estar presente en la posición N166, F167 y S168, con glicosilación en N166, con respecto a la numeración de residuos en la SEQ ID NO: 203 (es decir, correspondiente a la posición N194, F195 y S196, con glicosilación en N194, con respecto a la numeración de residuos en la SEQ ID NO: 202), si esos residuos están presentes en el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes quimérico*. En algunas realizaciones, un polipéptido de *C. acnes* DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de la invención comprende una sustitución de aminoácidos en la posición correspondiente a N166 (por ejemplo, N166S), con respecto a la numeración de residuos en la SEQ ID NO: 203 (es decir, correspondiente a N194 (p. ej., N194S), con respecto a la numeración de residuos en la SEQ ID NO: 202), si está presente en el polipéptido. Los sitios de O-glicosilación en un polipéptido DsA1/DsA2/PITP/ CAMP2 de *C. acnes* pueden estar presentes en las posiciones correspondientes a cualquier residuo S y/o T en la SEQ ID NO: 203 (es decir, correspondiente a cualquier residuo S y/o T en los residuos 29-267 de la SEQ ID NO: 202), si está presente en el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico.

Como se describe en la sección anterior "*DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 quimérico*", un polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico puede comprender la SEQ ID NO: 80, 82 o 83. Un sitio de N-glucosilación en un polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico puede estar presente en una posición correspondiente al residuo N255, con respecto a la numeración de residuos en la SEQ ID NO: 80 u 83. Un sitio de N-glicosilación en un polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico puede incluir N255, I256 y T257, con glicosilación en N255, con respecto a la numeración de residuos en la SEQ ID NO: 80 u 83. En algunas realizaciones, un polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico de la invención comprende una sustitución de aminoácidos en la posición correspondiente a N255 (p. ej., N255Q o N255A), con respecto a la numeración de residuos en la SEQ ID NO: 80 u 83. Puede haber presentes sitios de O-glucosilación en un polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes*

quimérico en las posiciones correspondientes a cualesquiera residuos de S y/o T en la SEQ ID NO: 80 u 83. Puede haber presentes sitios de O-glucosilación en un polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico en una o más (p. ej., todas las) posiciones correspondientes a los residuos S291, S292, T299, T301, T303, T305, T425, S428 y T436 de la SEQ ID NO: 80 u 83. En algunas realizaciones, un polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico como se describe en el presente documento comprende la sustitución de la región PTPPTPTPT ubicada entre las posiciones 298 y 305 de la SEQ ID NO: 80 u 83, por un conector GGGGG. En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende una o más (p. ej., todas las) sustituciones seleccionadas de una S291M, S292G, P298G, T299G, P300G, T301G, P302G, T425G, S428G y T436G. En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende una o más (p. ej., todas las) sustituciones seleccionadas de una S291M, S292G, T425G, S428G y T436G, con respecto a la numeración de residuos en la SEQ ID NO: 80 u 83. En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende una o más (p. ej., todas las) sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a S291 (p. ej., S291M), S292 (p. ej., S292G), T425 (p. ej., T425G), S428 (p. ej., S428G) y T436 (p. ej., T436G), con respecto a la numeración de residuos en la SEQ ID NO: 80 u 83. Un polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico puede comprender la secuencia de la SEQ ID NO: 82 con metionina en la posición 291, y glicina en las posiciones 292, 299, 301, 422, 425 y 433. En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico puede comprender la secuencia de la SEQ ID NO: 82 con metionina en la posición 291, y glicina en las posiciones 292, 298, 299, 300, 301, 302, 422, 425 y 433.

Secuencias de péptido señal de secreción (SS)

El polipéptido CAMP2 de *C. acnes*, el polipéptido DsA1 de *C. acnes*, el polipéptido DsA2 de *C. acnes*, el polipéptido PITP de *C. acnes*, el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico y/o el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico como

se describe en la presente pueden comprender una secuencia de péptido señal de secreción (SS). El péptido señal de secreción puede escindirse en el procesamiento postraducciona de los polipéptidos de *C. acnes* descritos en el presente documento. Por lo tanto, la forma madura del polipéptido de *C. acnes* puede no comprender la

5 secuencia de péptido señal de secreción. Sin embargo, una secuencia de nucleótidos que codifica una secuencia de péptido señal de secreción puede estar presente en los ácidos nucleicos que se describen en el presente documento que codifican los polipéptidos de *C. acnes* descritos en el presente documento.

El polipéptido CAMP2 de *C. acnes*, el polipéptido DsA1 de *C. acnes*, el

10 polipéptido DsA2 de *C. acnes*, el polipéptido PITP de *C. acnes*, el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico y/o el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico como se describe en la presente pueden comprender una secuencia de péptido señal de secreción del polipéptido de *C. acnes* nativo respectivo. Esto puede ser ventajoso

15 si los polipéptidos de *C. acnes* se expresan en una célula procariota como proteínas recombinantes.

En algunas realizaciones, el polipéptido CAMP2 de *C. acnes*, el polipéptido DsA1 de *C. acnes*, el polipéptido DsA2 de *C. acnes*, el polipéptido PITP de *C. acnes*, el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP

20 de *C. acnes* quimérico y/o el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico como se describe en la presente pueden comprender secuencias de péptidos señal de secreción virales o eucariotas (por ejemplo, humanas). El uso de secuencias de péptido señal de secreción víricas o eucariotas unidas a un polipéptido descrito en el presente documento puede ofrecer numerosas ventajas

25 para las composiciones inmunógenas. Cuando se expresa a partir de un ARNm, especialmente en una célula eucariota, un polipéptido de la invención que comprende una secuencia SS puede tener una mayor expresión extracelular con respecto al polipéptido sin la secuencia SS. El aumento de la expresión extracelular puede promover una mayor inmunogenia y, en consecuencia, una mejor eficacia de

30 la vacuna.

Se pueden encontrar secuencias SS víricas en bases de datos de acceso público (p. ej., las bases de datos del NCBI o UniProt) que incluyen una secuencia polipeptídica vírica anotada e identifican la posición inicial y final de una SS validada experimentalmente.

En determinadas realizaciones, la secuencia SS así como la ubicación del sitio de escisión de la secuencia SS para una secuencia polipeptídica de entrada conocida dada se pueden predecir utilizando el algoritmo SignalP. El algoritmo SignalP (y más concretamente SignalP v6.0) se describe en más detalle en Armenteros *et al.* (*Nature Biotechnology*. 37: 420-423. 2019), Teufel *et al.* (*Nature Biotechnology*. 40: 1023-1025. 2022) y <https://services.healthtech.dtu.dk/services/SignalP-6.0/>, cada uno de los cuales se incorpora en su totalidad al presente documento por referencia. La solidez de la predicción se evalúa en función de un puntaje de orden acumulado que tiene en cuenta la probabilidad de detectar características canónicas de la secuencia señal (puntuación de probabilidad de SS) y la probabilidad de escisión en el sitio de escisión (puntuación de probabilidad de escisión). En determinadas realizaciones, el péptido señal de secreción vírico tiene un puntaje de probabilidad de escisión de SignalP de al menos 0.8, al menos 0.85, al menos 0.90 o al menos 0.95, según se determina con SignalP 6.0. En algunas realizaciones, el péptido señal de secreción vírico tiene un puntaje de probabilidad de péptido señal de SignalP de al menos 0.8, al menos 0.85, al menos 0.90 o al menos 0.95, según se determina con SignalP 6.0.

En determinadas realizaciones, la secuencia SS es una secuencia SS vírica. En determinadas realizaciones, la secuencia de péptido señal de secreción vírica proviene de una secuencia vírica en un virus capaz de infectar seres humanos. Los términos "gripe", "SARS CoV-2", "virus de la varicela-zoster (VVZ)", "sarampión", "rubéola", "rabia", "Ébola" y "viruela" que acompañan a la expresión "secuencia de péptido señal de secreción" indican que el péptido señal de secreción derivó del virus correspondiente a ese nombre.

En determinadas realizaciones, el péptido señal de secreción vírico proviene de una secuencia vírica seleccionada del grupo que consiste en: una secuencia de

péptido señal de secreción de la gripe, una secuencia de péptido señal de secreción del SARS CoV-2, una secuencia de péptido señal de secreción del virus de la varicela-zóster (VZV), una secuencia de péptido señal de secreción del sarampión, una secuencia de péptido señal de secreción de la rubéola, una secuencia de péptido señal de secreción de las paperas, una secuencia de péptido señal de secreción del ébola, una secuencia de péptido señal de secreción de la rabia y una secuencia de péptido señal de secreción de la viruela. Estos péptidos señal particulares provienen de secuencias víricas en virus que se han administrado a seres humanos como vacunas (atenuadas elaboradas con microbios vivos, inactivadas o de ARNm), con fuertes perfiles de seguridad demostrados.

En determinadas realizaciones, el péptido señal de secreción vírico se selecciona del grupo que consiste en: una secuencia de péptido señal de secreción de la hemaglutinina (HA) de la gripe, una secuencia de péptido señal de secreción de la espícula del SARS CoV-2, una secuencia de péptido señal de secreción de gB del VZV, una secuencia de péptido señal de secreción de gE del VZV, una secuencia de péptido señal de secreción de gI del VZV, una secuencia de péptido señal de secreción de gK del VZV, una secuencia de péptido señal de secreción de la proteína F del sarampión, una secuencia de péptido señal de secreción de la proteína E1 de la rubéola, una secuencia de péptido señal de secreción de la proteína E2 de la rubéola, una secuencia de péptido señal de secreción de la proteína F de las paperas, una secuencia de péptido señal de secreción de la proteína GP del ébola, una secuencia de péptido señal de secreción de la glucoproteína del virus de la rabia (Rabia G) y una secuencia de péptido señal de secreción de la proteína IC de 6 kDa de la viruela.

En determinadas realizaciones, el péptido señal de secreción vírico comprende una secuencia de péptido señal de secreción de HA de la gripe A o la gripe B, preferentemente de la gripe A.

A continuación, se muestran en la Tabla 2 secuencias de aminoácidos de péptido señal de secreción vírico de la divulgación a modo de ejemplo. A continuación, se muestran en la Tabla 3 secuencias de aminoácidos de péptido

señal de secreción vírico que provienen de la gripe A o B de la divulgación a modo de ejemplo.

Tabla 2 – Secuencias de aminoácidos de péptido señal de secreción (SS) vírico

5	NOMBRE DE LA PROTEÍNA	ORGANISMO	CEPA	SECUENCIA DE LA SS
	HA (H1N1)	Virus de la gripe	A/Nueva Caledonia/20/1999	MKAKLLVLLCTFTATYA (SEQ ID NO: 210)
10	HA (H1N1pdm)	Virus de la gripe	A/California/7/2009	MKAILVVLLYTFATANA (SEQ ID NO: 211)
	HA (H3N2)	Virus de la gripe	A/Moscú/10/1999	MKTIIALSYILCLVFA (SEQ ID NO: 212)
15	HA B	Virus de la gripe	B/Phuket/3073/2013	MKAIIVLLMVVTSNA (SEQ ID NO: 213)
	Espícula	SARS CoV-2	Wuhan-1	MFVFLVLLPLVS (SEQ ID NO: 214)
20	Espícula	SARS CoV-2	Wuhan-1 (versión larga)	MFLTTKRTMFVFLVLLPLVS (SEQ ID NO: 215)
25	gB	VZV	Cepa Oka	MSPCGYYSKWRNRDR PEYRRNLRFRFFSSIH PNAAAGSGFNGPGVFIT SVTGWWLCFLCIFSMFV TAVVS (SEQ ID NO: 216)
30	gE	VZV	Cepa Oka	MGTVNKPVVGVLMGFG IITGTLRITNPVRA (SEQ ID NO: 217)

5	gl	VZV	Cepa Oka	MFLIQCLISAVIFYIQVTN A (SEQ ID NO: 218)
	gK	VZV	Cepa Oka	MQALGIKTEHFIIMCLLS GHA (SEQ ID NO: 219)
	F	Sarampión	Cepa Edmonston- Zagreb	MGLKVNVS AIFMAVLLT LQTPTG (SEQ ID NO: 220)
10	E1	Rubéola	Cepa RA27/3	MGAAAALTAVVLQGYN PPAYG (SEQ ID NO: 221)
15	E2	Rubéola	Cepa RA27/3	MGAPQAFLAGLLLAAVA VGTARA (SEQ ID NO: 222)
	F	Paperas	Cepa Miyahara	MKVFLVTCLGFAVFSSS VC (SEQ ID NO: 223)
20	GP	Virus del ébola	Cepa Mayinga-76	MGVTGILQLPRDRFKRT SFFLWVIILFQRTFS (SEQ ID NO: 224)
25	IC de 6 kDa	Viruela	Cepa Germany 91-3	MRS LIIFLLFPSIIYS (SEQ ID NO: 225)
	Rabia G	Rabia	Cepa Rabies Pasteur	MVPQALLFVPLL VFPLC FG (SEQ ID NO: 226)

Tabla 3 – Secuencias de aminoácidos de péptido señal de secreción (SS) víricas específicas de la gripe A y B

	NOMBRE DE LA CEPA	O	ID	SECUENCIA DE LA SS
5	Virus similar a A/Pekín/262/95 (H1N1)		a	MKAKLLVLLCTFTATYA (SEQ ID NO: 210)
10	Virus similar a A/Brisbane/02/2018 (H1N1)pdm09		a	MKAILVVLLYTFTTANA (SEQ ID NO: 227)
	Virus similar a A/Brisbane/59/2007 (H1N1)		a	MKVKLLVLLCTFTATYA (SEQ ID NO: 228)
15	Virus similar a A/California/7/2009 (H1N1)		a	MKAILVVLLYTFATANA (SEQ ID NO: 211)
20	Virus similar a A/Guangdong-Maonan/SWL1536/2019 (H1N1)pdm09		a	MKAILVVLLYTFTTANA (SEQ ID NO: 227)
	Virus similar a A/Hawái/70/2019 (H1N1)pdm09		a	MKAILVVLLYTFTTANA (SEQ ID NO: 227)
25	Virus similar a A/Michigan/45/2015 (H1N1)pdm09		a	MKAILVVLLYTFTTANA (SEQ ID NO: 227)
	Virus similar a A/Nueva		a	MKAKLLVLLCTFTATYA (SEQ ID NO: 210)

	Caledonia/20/99 (H1N1)	
5	Virus similar a A/Islands Salomón/3/2006 (H1N1)	MKVKLLVLLCTFTATYA (SEQ ID NO: 228)
	Virus similar a A/Sídney/5/2021 (H1N1)pdm09	MKAILVVMLYTFTTANA (SEQ ID NO: 229)
10	Virus similar a A/Victoria/2570/201 9 (H1N1)pdm09	MKAILVVMLYTFTTANA (SEQ ID NO: 229)
	Virus similar a A/Victoria/4897/202 2 (H1N1)pdm09	MKAILVVMLYTFTTANA (SEQ ID NO: 229)
15	Virus similar a A/Wisconsin/588/2 019 (H1N1)pdm09	MKAILVVMLYTFTTANA (SEQ ID NO: 229)
	Virus similar a A/Wisconsin/67/20 22 (H1N1)pdm09	MKAILVVMLYTFTTANA (SEQ ID NO: 229)
20	SEC. CONSENSO DE H1N1 #1 (sin sustituciones)	MKAILVVLLYTFTTANA (SEQ ID NO: 227)
25	Virus similar a A/Brisbane/10/2007 (H3N2)	MKTIIALSYILCLVFT (SEQ ID NO: 230)

5	Virus similar a A/California/7/2004 (H3N2)	MKTIIALSYILCLVFA (SEQ ID NO: 212)
	Virus similar a A/Camboya/e0826 360/2020 (H3N2)	MKTIIALSYILCLVFA (SEQ ID NO: 212)
	Virus similar a A/Darwin/6/2021 (H3N2)	MKTIIALSNILCLVFA (SEQ ID NO: 231)
10	Virus similar a A/Darwin/9/2021 (H3N2)	MKTIIALSNILCLVFA (SEQ ID NO: 231)
15	Virus similar a A/Fujian/411/2002 (H3N2)	MKTIIALSYILCLVFA (SEQ ID NO: 212)
	Virus similar a A/Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	MKAIIALSNILCLVFA (SEQ ID NO: 232)
20	Virus similar a A/Hong Kong/45/2019 (H3N2)	MKAIIALSNILCLVFA (SEQ ID NO: 232)
25	Virus similar a A/Hong Kong/4801/2014 (H3N2)	MKTIIALSYILCLVFA (SEQ ID NO: 212)

5	Virus similar a A/Kansas/14/2017 (H3N2)	MKTIIALSCILCLVFA (SEQ ID NO: 233)
	Virus similar a A/Moscú/10/99 (H3N2)	MKTIIALSYILCLVFA (SEQ ID NO: 212)
	Virus similar a A/Perth/16/2009 (H3N2)	MKTIIALSYILCLVFA (SEQ ID NO: 212)
10	Virus similar a A/Singapur/INFIMH -16-0019/2016 (H3N2)	MKTIIALSYILCLVFA (SEQ ID NO: 212)
15	Virus similar a A/Australia del Sur/34/2019 (H3N2)	MKTIIALSYILCLVFA (SEQ ID NO: 212)
20	Virus similar a A/Suiza/8060/2017 (H3N2)	MKTIIALSYILCLVFA (SEQ ID NO: 212)
	Virus similar a A/Suiza/9715293/2 013 (H3N2)	MKTIIALSYILCLVFA (SEQ ID NO: 212)
25	Virus similar a A/Sídney/5/97 (H3N2)	MKTIIALSYILCLVFA (SEQ ID NO: 212)
30	Virus similar a A/Texas/50/2012 (H3N2)	MKTIIALSYILCLVFA (SEQ ID NO: 212)

5	Virus similar a A/Victoria/361/2011 (H3N2)	MKTIIALSHILCLVFA (SEQ ID NO: 234)
	Virus similar a A/Wellington/1/2004 (H3N2)	MKTIIALSYILCLVFA (SEQ ID NO: 212)
	Virus similar a A/Wisconsin/67/2005 (H3N2)	MKTIIALSYILCLVFA (SEQ ID NO: 212)
10	SEC. CONSENSO DE H3N2 #1 (sin sustituciones)	MKTIIALSYILCLVFA (SEQ ID NO: 212)
15	Similar a B/Austria/1359417/2021 (estirpe B/Victoria)	MKAIIVLLMVVTSNA (SEQ ID NO: 213)
	Virus similar a B/Brisbane/60/2008	MKAIIVLLMVVTSNA (SEQ ID NO: 213)
20	Virus similar a B/Colorado/06/2017 (estirpe B/Victoria/2/87)	MKAIIVLLMVVTSSA (SEQ ID NO: 235)
25	Virus similar a B/Hong Kong/330/2001	MKAIIVLLMVVTSNA (SEQ ID NO: 213)
	Virus similar a B/Malasia/2506/2004	MKAIIVLLMVVTSNA (SEQ ID NO: 213)

5	Virus similar a B/Washington/02/2019 (estirpe B/Victoria)	MKAIIVLLMVVTSNA (SEQ ID NO: 213)
	Virus similar a B/Pekín/184/93	MKAIIVLLMVVTSNA (SEQ ID NO: 213)
	Virus similar a B/Florida/4/2006	MKAIIVLLMVVTSNA (SEQ ID NO: 213)
10	Virus similar a B/Massachusetts/2/2012	MKAIIVLLMVVTSNA (SEQ ID NO: 213)
	Virus similar a B/Phuket/3073/2013	MKAIIVLLMVVTSNA (SEQ ID NO: 213)
15	Virus similar a B/Sichuan/379/99	MEAIIVLLMVVTSNA (SEQ ID NO: 236)
	SECUENCIA CONSENSO DE LA GRIPE B VICTORIA/YAMAGATA (sin sustituciones)	MKAIIVLLMVVTSNA (SEQ ID NO: 213)
20	SEC. CONSENSO DE H1N1 #2 (con sustituciones)	MKX ₁ X ₂ LX ₃ VX ₄ LX ₅ TFX ₆ X ₇ X ₈ X ₉ A X ₁ se selecciona de A y V; X ₂ se selecciona de I y K; X ₃ se selecciona de V y L; X ₄ se selecciona de L y M; X ₅ se selecciona de Y y C; X ₆ se selecciona de T y A; X ₇ se selecciona de T y A; X ₈ se selecciona de A y T; y X ₉ se selecciona de N e Y (SEQ ID NO: 237)

5	SEC. CONSENSO DE H3N2 #2 (con sustituciones)	MKX ₁ IIALSX ₂ ILCLVFX ₃ X ₁ se selecciona de T y A; X ₂ se selecciona de Y, N, C y H; y X ₃ se selecciona de T y A (SEQ ID NO: 238)
10	SEC. CONSENSO DE LA GRIPE B VICTORIA (con sustituciones)	MKAIIVLLMVVTSX ₁ A X ₁ se selecciona de S y N (SEQ ID NO: 239)
10	SEC. CONSENSO DE LA GRIPE B Yamagata (con sustituciones)	MX ₁ AIIVLLMVVTSNA X ₁ se selecciona de K y E (SEQ ID NO: 240)

La secuencia de péptido señal de secreción puede situarse en el extremo N o el extremo C (p. ej., en el extremo N) de un polipéptido descrito en el presente documento.

En determinadas realizaciones, la secuencia de aminoácidos SS está codificada por una secuencia polinucleotídica con codones optimizados.

En determinadas realizaciones, el péptido señal de secreción vírico proviene de una secuencia vírica en un virus capaz de infectar seres humanos.

En determinadas realizaciones, el péptido señal de secreción vírico proviene de una secuencia vírica seleccionada del grupo que consiste en: una secuencia de péptido señal de secreción de la gripe y una secuencia de péptido señal de secreción que no es de la gripe seleccionada del grupo que consiste en una secuencia de péptido señal de secreción del SARS CoV-2, una secuencia de péptido señal de secreción del virus de la varicela-zóster (VZV), una secuencia de péptido señal de secreción del sarampión, una secuencia de péptido señal de secreción de la rubéola, una secuencia de péptido señal de secreción de las paperas, una secuencia de péptido señal de secreción del ébola, una secuencia de péptido señal de secreción de la viruela y una secuencia de péptido señal de secreción de la rabia.

En determinadas realizaciones, el péptido señal de secreción vírico se selecciona del grupo que consiste en: una secuencia de péptido señal de secreción de la hemaglutinina (HA) de la gripe, una secuencia de péptido señal de secreción de la espícula del SARS CoV-2, una secuencia de péptido señal de secreción de gB del VZV, una secuencia de péptido señal de secreción de gE del VZV, una secuencia de péptido señal de secreción de gI del VZV, una secuencia de péptido señal de secreción de gK del VZV, una secuencia de péptido señal de secreción de la proteína F del sarampión, una secuencia de péptido señal de secreción de la proteína E1 de la rubéola, una secuencia de péptido señal de secreción de la proteína E2 de la rubéola, una secuencia de péptido señal de secreción de la proteína F de las paperas, una secuencia de péptido señal de secreción de la proteína GP del ébola, una secuencia de péptido señal de secreción de la proteína IC de 6 kDa de la viruela y una secuencia de péptido señal de secreción de la proteína G de la rabia, preferentemente en donde el péptido señal de secreción vírico comprende una secuencia de péptido señal de secreción de HA de la gripe A o la gripe B, más preferentemente de la gripe A.

En determinadas realizaciones, la secuencia de péptido señal de secreción de HA comprende una secuencia de aminoácidos MKX1X2LX3VX4LX5TFX6X7X8X9A (SEQ ID NO: 237), en donde X1 se selecciona de A y V; X2 se selecciona de I y K; X3 se selecciona de V y L; X4 se selecciona de L y M; X5 se selecciona de Y y C; X6 se selecciona de T y A; X7 se selecciona de T y A; X8 se selecciona de A y T; y X9 se selecciona entre N e Y.

En determinadas realizaciones, la secuencia de péptido señal de secreción de HA comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de MKAKLLVLLCTFTATYA (SEQ ID NO: 210), MKAILVVLLYTFTTANA (SEQ ID NO: 227), MKVKLLVLLCTFTATYA (SEQ ID NO: 228), MKAILVVLLYTFTATANA (SEQ ID NO: 211), y MKAILVVMLYTFTTANA (SEQ ID NO: 229).

En determinadas realizaciones, la secuencia de péptido señal de secreción de HA comprende una secuencia de aminoácidos MKX1IIALSX2ILCLVFX3 (SEQ

ID NO: 238), en donde X1 se selecciona de T y A; X2 se selecciona de Y, N, C y H; y X3 se selecciona de T y A.

En determinadas realizaciones, la secuencia de péptido señal de secreción de HA comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de

5 MKTIIALSYILCLVFT (SEQ ID NO: 230), MKTIIALSYILCLVFA (SEQ ID NO: 212), MKTIIALSNILCLVFA (SEQ ID NO: 231), MKAIIALSNILCLVFA (SEQ ID NO: 232), MKTIIALSCILCLVFA (SEQ ID NO: 233) y MKTIIALSHILCLVFA (SEQ ID NO: 234) .

En determinadas realizaciones, la secuencia de péptido señal de secreción de HA comprende una secuencia de aminoácidos MKAIIVLLMVVTSX1A (SEQ ID

10 NO: 239), en donde X1 se selecciona de S y N.

En determinadas realizaciones, la secuencia de péptido señal de secreción de HA comprende una secuencia de aminoácidos MX1AIIVLLMVVTSNA (SEQ ID NO: 240), en donde X1 se selecciona de K y E.

En determinadas realizaciones, la secuencia de péptido señal de secreción de HA comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de

15 MKAIIVLLMVVTSNA (SEQ ID NO: 213), MKAIIVLLMVVTSSA (SEQ ID NO: 235), y MEAIIVLLMVVTSNA (SEQ ID NO: 236).

En determinadas realizaciones, el péptido señal de secreción vírico comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en:

20 MKAKLLVLLCTFTATYA (SEQ ID NO: 210); MKAILVLLYTFATANA (SEQ ID NO: 211); MKTIIALSYILCLVFA (SEQ ID NO: 212); MKAIIVLLMVVTSNA (SEQ ID NO: 213); MFVFLVLLPLVS (SEQ ID NO: 214); MFLTTKRTMFVFLVLLPLVS (SEQ ID NO: 215)

MSPCGYYSKWRNRDRPEYRRNLRFRFFSSIHPNAAAGSGFNGPGVFITSVTGV

25 WLCFLCIFSMTAVVS (SEQ ID NO: 216);

MGTVNKPVGVLGMFGIITGTLRITNPVRA (SEQ ID NO: 217);

MFLIQCLISAVIFYIQVTNA (SEQ ID NO: 218); MQALGIKTEHFIIMCLLSGHA (SEQ ID NO: 219); MGLKVNVSIAIFMAVLLTLQTPTG (SEQ ID NO: 220);

MGAAAALTAVVLQGYNPPAYG (SEQ ID NO: 221);

30 MGAPQAFLAGLLAAVAVGTTARA (SEQ ID NO: 222); MKVFLVTCLGFAVFSSSVC

(SEQ ID NO: 223); MGV TGILQLPRDRFKRTSFFLWVILFQRTFS (SEQ ID NO: 224); MRS LIIFLLFPSIIYS (SEQ ID NO: 225); y MVPQALLFVPLL VFPLCFG (SEQ ID NO: 226).

En determinadas realizaciones, el péptido señal de secreción viral comprende una secuencia de aminoácidos de MKAKLLVLLCTFTATYA (SEQ ID NO: 210).

En determinadas realizaciones, el péptido señal de secreción vírico se sitúa en el extremo N de un polipéptido divulgado en el presente documento.

En determinadas realizaciones, el péptido señal de secreción vírico se sitúa en el extremo C de un polipéptido divulgado en el presente documento.

En determinadas realizaciones, el péptido señal de secreción vírico se une a un polipéptido divulgado en el presente documento con un conector.

Dominios transmembranarios (TMB) heterólogos

El polipéptido CAMP2 de *C. acnes*, el polipéptido DsA1 de *C. acnes*, el polipéptido DsA2 de *C. acnes*, el polipéptido PITP de *C. acnes*, el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico y/o el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico como se describe en la presente pueden comprender un dominio transmembrana (TMB), más particularmente un TMB heterólogo (no nativo). La inclusión de un TMB heterólogo puede ser ventajosa ya que esto hará que el antígeno se localice a la membrana celular. Esto puede reducir la localización intracelular del antígeno y promover además una mayor inmunogenia con comparación con el antígeno sin la secuencia de TMB.

El polipéptido CAMP2 de *C. acnes*, el polipéptido DsA1 de *C. acnes*, el polipéptido DsA2 de *C. acnes*, el polipéptido PITP de *C. acnes*, el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico y/o el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico que comprende un dominio transmembrana heterólogo también puede comprender una secuencia de péptido señal de secreción. Normalmente, un ácido nucleico descrito en el presente documento que codifica el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* quimérico

que comprende un dominio transmembranario heterólogo también comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una secuencia de péptido señal de secreción. Normalmente, un ácido nucleico descrito en el presente documento que codifica el polipéptido DsA1 de *C. acnes* que comprende un dominio transmembranario heterólogo también comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una secuencia de péptido señal de secreción. Normalmente, un ácido nucleico descrito en el presente documento que codifica el polipéptido DsA2 de *C. acnes* que comprende un dominio transmembranario heterólogo también comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una secuencia de péptido señal de secreción. Normalmente, un ácido nucleico descrito en el presente documento que codifica el polipéptido PITP de *C. acnes* que comprende un dominio transmembranario heterólogo también comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una secuencia de péptido señal de secreción. Normalmente, un ácido nucleico descrito en el presente documento que codifica el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico que comprende un dominio transmembranario heterólogo también comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una secuencia de péptido señal de secreción. Normalmente, un ácido nucleico descrito en el presente documento que codifica el polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico que comprende un dominio transmembranario heterólogo también comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una secuencia de péptido señal de secreción. Normalmente, un ácido nucleico descrito en el presente documento que codifica el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico que comprende un dominio transmembranario heterólogo también comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una secuencia de péptido señal de secreción.

El TMB puede ser de cualquier TMB conocido en la técnica, que incluye, pero no se limita a, TMB de proteínas transmembranarias eucariotas (p. ej., proteínas transmembranarias de mamífero, tales como proteínas transmembranarias humanas), TMB de proteínas transmembranarias procariotas y TMB de proteínas transmembranarias víricas. Los TMB se pueden identificar además mediante algoritmos de predicción informáticos, por ejemplo, en el método de predicción

TMHMM descrito en Krogh *et al.* (*J Mol Biol.* 305(3): 567-580. 2001) y <https://services.healthtech.dtu.dk/services/TMHMM-2.0/>, cada uno de los cuales se incorpora en su totalidad al presente documento por referencia. Algunas características de los TMB se describen en más detalle en Albers *et al.* (Capítulo 2 – “cell membrane structures and functions”. *Basic Neurochemistry*, octava edición. Páginas 26-39. 2012), incorporado al presente documento por referencia. Los TMB están constituidos normalmente, pero no exclusivamente, por predominantemente residuos aminoacídicos apolares (hidrófobos) y pueden atravesar una bicapa lipídica una o varias veces. El experto conoce perfectamente métodos para determinar la hidrofobia de un aminoácido. Véanse Simm *et al.* (2016), *Biol Res.*, 49(1):31; Wimlet y White (1996), *Nat Struct Biol.*, 3(10): 842-848; https://blanco.biomol.uci.edu/hydrophobicity_scales.html; y <https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/docs/UsersGuide/midas/hydrophob.html>.

Los TMB suelen comprender hélices alfa, conteniendo cada hélice 18-21 aminoácidos, lo cual es suficiente para abarcar la bicapa lipídica. Por consiguiente, en determinadas realizaciones, el dominio transmembranario comprende una o más hélices alfa. En algunas realizaciones, el TMB: (a) comprende o consiste en de 15 a 50 residuos aminoacídicos, preferentemente de 15 a 30 residuos aminoacídicos, más preferentemente de 18 a 25 residuos aminoacídicos; y/o (b) comprende al menos un 50 %, al menos un 55 % o al menos un 60 % de residuos aminoacídicos hidrófobos, preferentemente seleccionados del grupo que consiste en: alanina, isoleucina, leucina, valina, fenilalanina, triptófano y tirosina; y/o (c) comprende al menos una hélice alfa.

En determinadas realizaciones, el dominio transmembrana procede de una proteína de membrana integral, como se define adicionalmente más adelante y en Albers *et al.* Una "proteína de membrana integral" (también conocida como proteína de membrana intrínseca) es una proteína de membrana que está unida permanentemente a la membrana lipídica. En determinadas realizaciones, el dominio transmembranario proviene de una proteína politópica integral. Una proteína politópica integral es aquella que abarca toda la membrana. En

determinadas realizaciones, el dominio transmembranario proviene de una proteína (trans)membranaria de paso único, más particularmente de una proteína de membrana bitópica, p. ej., de Tipo I o de Tipo II. Las proteínas de membrana de paso único cruzan la membrana solo una vez (es decir, una proteína de membrana bitópica), mientras que las proteínas de membrana de paso múltiple entran y salen, cruzando varias veces. Las proteínas transmembranarias de paso único se pueden clasificar como de Tipo I, que están situadas de manera que su extremo carboxilo está hacia el citosol, o de Tipo II, que tienen su extremo amino hacia el citosol. En determinadas realizaciones, el dominio transmembranario proviene de una proteína monotópica integral. Una proteína monotópica integral es aquella que está asociada con la membrana desde un solo lado y no abarca completamente la bicapa lipídica.

En determinadas realizaciones, el dominio transmembranario heterólogo proviene de una secuencia que no es humana.

En determinadas realizaciones, el dominio transmembranario heterólogo proviene de una secuencia vírica. Los términos "gripe", "SARS CoV-2", "virus de la varicela-zoster (VVZ)", "sarampión", "rubéola", "rabia", "Ébola" y "viruela" que acompañan a la expresión "secuencia de dominio transmembrana" indican que la secuencia de dominio transmembrana derivó del virus correspondiente a ese nombre.

En determinadas realizaciones, el dominio transmembranario heterólogo proviene de una secuencia de dominio transmembranario vírico seleccionada del grupo que consiste en: una secuencia de dominio transmembranario de la gripe, una secuencia de dominio transmembranario del SARS CoV-2, una secuencia de dominio transmembranario del virus de la varicela-zóster (VZV), una secuencia de dominio transmembranario del sarampión, una secuencia de dominio transmembranario de la rubéola, una secuencia de dominio transmembranario de las paperas, una secuencia de dominio transmembranario de la rabia y una secuencia de dominio transmembranario del ébola. Estos dominios transmembranarios particulares provienen de secuencias víricas en virus que se han administrado a seres humanos como vacunas (atenuadas elaboradas con

microbios vivos, inactivadas o de ARNm), con fuertes perfiles de seguridad demostrados.

En determinadas realizaciones, el dominio transmembranario heterólogo se selecciona del grupo que consiste en: una secuencia de dominio transmembranario de la hemaglutinina (HA) de la gripe, una secuencia de dominio transmembranario de la espícula del SARS CoV-2, una secuencia de dominio transmembranario de gB del VZV, una secuencia de dominio transmembranario de gE del VZV, una secuencia de dominio transmembranario de gI del VZV, una secuencia de dominio transmembranario de gK del VZV, una secuencia de dominio transmembranario de la proteína F del sarampión, una secuencia de dominio transmembranario de la proteína E1 de la rubéola, una secuencia de dominio transmembranario de la proteína E2 de la rubéola, una secuencia de dominio transmembranario de la proteína F de las paperas, una secuencia de dominio transmembranario de la glucoproteína del virus de la rabia (Rabia G) y una secuencia de dominio transmembranario de la proteína GP del ébola.

En determinadas realizaciones, el dominio transmembranario heterólogo comprende una secuencia de dominio transmembranario de HA de la gripe A o la gripe B, preferentemente de la gripe A.

A continuación, se muestran en la Tabla 4 secuencias de aminoácidos de dominio transmembranario vírico de la divulgación a modo de ejemplo.

Tabla 4 – Secuencias de aminoácidos de señal de dominio transmembranario (TMB) vírico

NOMBRE DE LA PROTEÍNA	ORGANISMO	CEPA	SECUENCIA DEL TMB
HA (H1N1)	Virus de la gripe	A/Nueva Caledonia/20/1999	ILAIYSTVASSLVLLVSL GAISF (SEQ ID NO: 208)
HA (H1N1pdm)	Virus de la gripe	A/California/7/2009	ILAIYSTVASSLVLVVSL GAISF

			(SEQ ID NO: 209)
5	HA (H3N2)	Virus de la gripe	A/Moscú/10/1999 ILWISFAISCFLLCVVLL GFI (SEQ ID NO: 241)
	HA B	Virus de la gripe	B/Phuket/3073/2013 STAASSLAVTLMLAIFIV YMV (SEQ ID NO: 242)
10	Espícula	SARS CoV-2	Wuhan-1 WYIWLGFIAGLIAIVMV TIML (SEQ ID NO: 243)
	gB	VZV	Cepa Oka FGALAVGLLVLAGLVA AFFAY (SEQ ID NO: 244)
15	gE	VZV	Cepa Oka AAWTGGLAAVVLLCLV IFLIC (SEQ ID NO: 245)
	gI	VZV	Cepa Oka IIPIVASVMILTAMVIVIV I (SEQ ID NO: 246)
20	gK	VZV	Cepa Oka YFWCVQLKMIFFAWFV YGMYL (SEQ ID NO: 247)
25	F	Sarampión	Cepa Edmonston-Zagreb IVYILIAVCLGGLIGIPAL IC (SEQ ID NO: 248)
	E1	Rubéola	Cepa RA27/3 LDHAFAAFVLLVPWVLI FMVC (SEQ ID NO: 249)

E2	Rubéola	Cepa RA27/3	WWQLTLGAICALLLAG LLACC (SEQ ID NO: 250)
F	Paperas	Cepa Miyahara	IVAALVLSILSIIISLLFCC W (SEQ ID NO: 251)
GP	Ébola	Cepa Mayinga- 76	WIPAGIGVTGVIIAIAL FCI (SEQ ID NO: 252)
Rabia G	Rabia	Cepa Rabies Pasteur	VLLSAGALTALMLIIFLM TCW (SEQ ID NO: 253)

En determinadas realizaciones, la secuencia de TMB heterólogo se sitúa en el extremo N o el extremo C (p. ej., el extremo C) de un polipéptido descrito en el presente documento.

En determinadas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de TMB está codificada por una secuencia polinucleotídica con codones optimizados.

En algunas realizaciones, uno o más del polipéptido CAMP2 de *C. acnes*, el polipéptido DsA1 de *C. acnes*, el polipéptido DsA2 de *C. acnes*, el polipéptido PITP de *C. acnes*, el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico y/o el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprenden un dominio transmembrana heterólogo como se describe en la presente. En realizaciones alternativas, el polipéptido CAMP2 de *C. acnes*, el polipéptido DsA1 de *C. acnes*, el polipéptido DsA2 de *C. acnes*, el polipéptido PITP de *C. acnes*, el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico y/o el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico no comprenden un dominio transmembrana heterólogo. Tales polipéptidos pueden comprender una secuencia de péptido señal de secreción. En realizaciones adicionales, los polipéptidos de la invención se secretan. En algunas realizaciones, el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* descrito en el presente documento es un polipéptido secretado. En algunas

realizaciones, el polipéptido DsA1 de *C. acnes* descrito en el presente documento es un polipéptido secretado. En algunas realizaciones, el polipéptido DsA2 de *C. acnes* descrito en el presente documento es un polipéptido secretado. En algunas realizaciones, el polipéptido PITP de *C. acnes* descrito en el presente documento es un polipéptido secretado. En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico descrito en el presente documento es un polipéptido secretado. En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico descrito en el presente documento es un polipéptido secretado. En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico descrito en el presente documento es un polipéptido secretado. Los polipéptidos secretados descritos en el presente documento comprenden una secuencia de péptido señal de secreción.

En determinadas realizaciones, el TMB: (a) comprende o consiste en de 15 a 50 residuos aminoacídicos, preferentemente de 15 a 30 residuos aminoacídicos, más preferentemente de 18 a 25 residuos aminoacídicos; y/o (b) comprende al menos un 50 % de residuos aminoacídicos hidrófobos, preferentemente seleccionados del grupo que consiste en: alanina, isoleucina, leucina, valina, fenilalanina, triptófano y tirosina; y/o (c) comprende al menos una hélice alfa.

En determinadas realizaciones, el TMB proviene de una proteína de membrana integral, preferentemente de una proteína de membrana de paso único, más preferentemente de una proteína de membrana bitópica, incluso más preferentemente de una proteína de membrana bitópica de Tipo I.

En determinadas realizaciones, el TMB proviene de una secuencia no humana.

En determinadas realizaciones, el TMB proviene de una secuencia vírica.

En determinadas realizaciones, el TMB proviene de una secuencia de dominio transmembranario vírico seleccionada del grupo que consiste en: una secuencia de dominio transmembranario de la gripe y una secuencia de dominio transmembranario que no es de la gripe seleccionada del grupo que consiste en una secuencia de dominio transmembranario del SARS CoV-2, una secuencia de

dominio transmembranario del virus de la varicela-zóster (VZV), una secuencia de dominio transmembranario del sarampión, una secuencia de dominio transmembranario de la rubéola, una secuencia de dominio transmembranario de las paperas, una secuencia de dominio transmembranario del ébola y una secuencia de dominio transmembranario de la rabia.

En determinadas realizaciones, el TMB se selecciona del grupo que consiste en: una secuencia de dominio transmembranario de la hemaglutinina (HA) de la gripe, una secuencia de dominio transmembranario de la espícula del SARS CoV-2, una secuencia de dominio transmembranario de gB del VZV, una secuencia de dominio transmembranario de gE del VZV, una secuencia de dominio transmembranario de gI del VZV, una secuencia de dominio transmembranario de gK del VZV, una secuencia de dominio transmembranario de la proteína F del sarampión, una secuencia de dominio transmembranario de la proteína E1 de la rubéola, una secuencia de dominio transmembranario de la proteína E2 de la rubéola, una secuencia de dominio transmembranario de la proteína F de las paperas, una secuencia de dominio transmembranario de la proteína GP del Ébola y una secuencia de dominio transmembranario de la proteína G de la rabia, preferentemente en donde el TMB comprende una secuencia de dominio transmembranario de HA de la gripe A o la gripe B, más preferentemente de la gripe A.

En determinadas realizaciones, el TMB comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: ILAIYSTVASSLVLLVSLGAISF (SEQ ID NO: 208); ILAIYSTVASSLVLVSLGAISF (SEQ ID NO: 209); ILWISFAISCFLLCVLLGFI (SEQ ID NO: 241); STAASSLAVTLMLAIFIVYMV (SEQ ID NO: 242); WYIWLGFIAGLIAIVMVTIML (SEQ ID NO: 243); FGALAVGLLVLAGLVAAFFAY (SEQ ID NO: 244); AAWTGGLAAVVLLCLVIFLIC (SEQ ID NO: 245); IIPIVASVMILTAMVIVIVI (SEQ ID NO: 246); YFWCVQLKMIFFAWFVYGYMYL (SEQ ID NO: 247); IVYILIAVCLGGLIGIPALIC (SEQ ID NO: 248); LDHAFAAFVLLVPWVLIFMVC (SEQ ID NO: 249); WWQLTLGAICALLLAGLLACC (SEQ ID NO: 250);

IVAALVLSILSIISLLFCCW (SEQ ID NO: 251); WIPAGIGVTGVIIAVIALFCI (SEQ ID NO: 252); y VLLSAGALTALMLIIFLMTCW (SEQ ID NO: 253).

En determinadas realizaciones, el TMB comprende una secuencia de aminoácidos de ILAIYSTVASSLVLLVSLGAISF (SEQ ID NO: 208).

5 En determinadas realizaciones, el TMB se une a un polipéptido descrito en el presente documento con un conector.

En determinadas realizaciones, el TMB se sitúa en el extremo N de un polipéptido descrito en el presente documento.

10 En determinadas realizaciones, el TMB se sitúa en el extremo C de un polipéptido descrito en el presente documento.

Conectores

En algunas realizaciones, los polipéptidos de la invención comprenden enlazadores. En algunas realizaciones, los polipéptidos de la invención comprenden dos o más antígenos unidos a través de enlazadores.

15 En determinadas realizaciones de la divulgación, la secuencia de péptido señal de secreción (SS) o el dominio transmembranario (TMB) se fusionan directamente a un polipéptido descrito en el presente documento (es decir, no hay conector, tal como un conector aminoacídico, que conecte la secuencia SS o TMB con el polipéptido descrito en el presente documento).

20 En otras realizaciones, las secuencias SS y los TMB de la divulgación se unen opcionalmente a un polipéptido descrito en el presente documento con un conector. En determinadas realizaciones, el conector es un conector aminoacídico. En las realizaciones determinadas, el conector aminoacídico tiene una longitud de 1-10 aminoácidos (p. ej., el conector aminoacídico tiene una longitud de 1 aminoácido, 2 aminoácidos, 3 aminoácidos, 4 aminoácidos, 5 aminoácidos, 6 aminoácidos, 7 aminoácidos, 8 aminoácidos, 9 aminoácidos o 10 aminoácidos).

25 Los ejemplos ilustrativos de conectores incluyen polímeros de glicina (Gly)_n, donde n es un número entero de al menos uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete u ocho; polímeros de glicina y serina (GlySer)_n, donde n es un número entero de al menos uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete u ocho; polímeros de glicina y

30

alanina; polímeros de alanina y serina; y otros conectores flexibles conocidos en la técnica.

Los polímeros de glicina y de glicina y serina están relativamente desestructurados y son flexibles y, por lo tanto, pueden servir como unión neutra entre la secuencia SS y/o TMB y los polipéptidos descritos en el presente documento. En determinadas realizaciones, el conector es SGS o GSG.

Otros conectores a modo de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, las siguientes secuencias de aminoácidos: GGG; DGGGS (SEQ ID NO: 254); TGEKP (SEQ ID NO: 255) (Liu et al. Proc. Natl. Acad. Sci. 94: 5525-5530. 1997); GGRR (SEQ ID NO: 256); (GGGGS)_n (SEQ ID NO: 257), en donde n = 1, 2, 3, 4 o 5 (Kim et al. Proc. Natl. Acad. Sci. 93: 1156-1160. 1996); EGKSSGSGSESKVD (SEQ ID NO: 258) (Chaudhary et al. Proc. Natl. Acad. Sci. 87: 1066-1070. 1990); KESGSVSSEQLAQFRSLD (SEQ ID NO: 259) (Bird et al., *Science*. 242:423-426. 1988), GGRRGGGS (SEQ ID NO: 260); LRQRDGERP (SEQ ID NO: 261); LRQKDGGGSERP (SEQ ID NO: 262); y GSTSGSGKPGSGEGSTKG (SEQ ID NO: 263) (Cooper et al., *Blood*. 101(4): 1637-1644. 2003). Los conectores preferidos son más cortos, p. ej., consistentes en 3, 4 o 5 aminoácidos.

Se proporcionan ejemplos adicionales de conectores en Chen et al. (*Adv Drug Deliv Rev*. 65(10): 1357–1369. 2013), incorporado al presente documento por referencia.

Composiciones – ácido nucleico y polipéptido

La invención proporciona una composición que comprende uno o más ácidos nucleicos de la divulgación. La invención también proporciona una composición que comprende uno o más polipéptidos de la divulgación. Una composición de la invención puede ser una composición farmacéutica, p. ej., que comprende un portador, excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable. En determinadas realizaciones, la composición de la invención es una composición inmunógena. Una "composición inmunogénica" significa una composición que comprende un ácido nucleico o una proteína que, cuando se administra a un sujeto, provoca una respuesta inmunitaria, por ejemplo, una respuesta inmunitaria específica de

antígeno. La respuesta inmunitaria puede ser una respuesta inmunitaria humoral (anticuerpo) o una respuesta inmunitaria celular. La composición de la invención puede ser una composición de vacuna. Las composiciones inmunógenas (p. ej., composiciones de vacuna) pueden inducir inmunidad (p. ej., respuesta de anticuerpos) contra la infección por *C. acnes*. La respuesta de anticuerpos puede incluir anticuerpos que se unen a la superficie de bacterias *C. acnes* y reclutan células efectoras inmunitarias (p. ej., células efectoras del sistema inmunitario tales como fagocitos). Los anticuerpos pueden ser capaces de inducir la muerte opsonofagocítica *in vitro*. Los anticuerpos pueden presentar reactividad cruzada con una serie de cepas *C. acnes*. Los anticuerpos pueden disminuir o neutralizar la inflamación mediada por CAMP2.

“Inmunidad protectora” o una “respuesta inmunitaria protectora”, como se utiliza en el presente documento, se refiere a la inmunidad o a inducir una respuesta inmunitaria contra un agente infeccioso (p. ej., *C. acnes*), que está presente en un sujeto, que previene o mejora una infección o reduce al menos un síntoma de esta. Específicamente, la inducción de inmunidad protectora o una respuesta inmunitaria protectora debida a la administración de una composición de la invención es evidente por la eliminación o reducción de la presencia de uno o más síntomas de la infección por *C. acnes*. Como se utiliza en el presente documento, la expresión “respuesta inmunitaria” se refiere tanto a la respuesta inmunitaria humoral como a la respuesta inmunitaria mediada por células. En algunas realizaciones, el tratamiento con una composición de la invención como se describe en el presente documento proporciona inmunidad protectora contra la infección por *C. acnes*.

Composiciones de ácido nucleico

En un aspecto, la invención proporciona una composición que comprende un ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* como se describe en el presente documento.

En otro aspecto, la invención proporciona una composición que comprende un ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende una

secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado como se describe en el presente documento.

En otro aspecto, la invención proporciona una composición que comprende un ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende una
5 secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1 de *C. acnes* como se describe en el presente documento.

En otro aspecto, la invención proporciona una composición que comprende un ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende una
10 secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA2 de *C. acnes* como se describe en el presente documento.

En otro aspecto, la invención proporciona una composición que comprende un ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende una
15 secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido P1TP de *C. acnes* como se describe en el presente documento.

En otro aspecto, la invención proporciona una composición que comprende un ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende una
20 secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico como se describe en el presente documento.

En otro aspecto, la invención proporciona una composición que comprende un ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende una
25 secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1/DsA2/P1TP de *C. acnes* quimérico como se describe en el presente documento.

En otro aspecto, la invención proporciona una composición que comprende un ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende una
30 secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1/DsA2/P1TP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico como se describe en el presente documento.

Cualquiera de las composiciones descritas en el presente documento puede comprender uno o más ácidos nucleicos que codifican uno o más antígenos como se describen en el documento WO2021/165543 (incorporado al presente
documento por referencia).

Composiciones de CAMP2

En un aspecto, la invención proporciona una composición que comprende un ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* como se describe en el presente documento.

En otro aspecto, la invención proporciona una composición inmunógena que comprende un ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* como se describe en el presente documento y en donde el ácido nucleico es un ARNm.

En otro aspecto, la invención proporciona una composición que comprende un ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* como se describe en el presente documento y en donde la composición comprende además una LNP.

Una composición que comprende un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* para el uso en la presente invención, p. ej., suministrado como un ARNm y/o en forma de una composición que comprende una LNP, puede inducir anticuerpos en un sujeto. Tales anticuerpos pueden neutralizar la actividad biológica del polipéptido CAMP2, tal como la actividad inflamatoria de CAMP2. Tales anticuerpos pueden neutralizar la actividad cohemolítica del polipéptido CAMP2.

En algunas realizaciones, cualesquiera de las composiciones descritas en el presente documento que comprenden (a) un ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* comprenden además uno o más de (b)(i) un ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1 de *C. acnes*, (b)(ii) un ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA2 de *C. acnes*, (b)(iii) un ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende una secuencia

de nucleótidos que codifica un polipéptido PITP de *C. acnes*, (b)(iv) un ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico y (b)(v) un ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico. En algunas realizaciones, la composición comprende el ácido nucleico de (b)(i), el ácido nucleico de (b)(ii) y el ácido nucleico de (b)(iii). En algunas realizaciones, la composición comprende el ácido nucleico de (b)(v). En realizaciones preferidas, la composición comprende el ácido nucleico de (b)(iii); y el ácido nucleico de (b)(iv).

En algunas realizaciones, dos o más ácidos nucleicos cualesquiera de (a) y (b)(i)-(v) están ubicados en la misma molécula de ácido nucleico o en moléculas de ácido nucleico diferentes (p. ej., en donde todos los ácidos nucleicos en la composición están en la misma molécula de ácido nucleico o en donde todos los ácidos nucleicos en la composición son moléculas de ácido nucleico individuales). En algunas realizaciones, el ácido nucleico de (a), el ácido nucleico de (b)(iii) y el ácido nucleico de (b)(iv) están ubicados en la misma molécula de ácido nucleico o moléculas de ácido nucleico separadas. En algunas realizaciones, el ácido nucleico de (a) y el ácido nucleico de (b)(v) están ubicados en la misma molécula de ácido nucleico o moléculas de ácido nucleico separadas. En algunas realizaciones, la composición comprende proporciona un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico como se describe en el presente documento. Normalmente, el ácido nucleico de (a), el ácido nucleico de (b)(iii) y el ácido nucleico de (b)(iv) son proporcionados por moléculas de ácido nucleico separadas.

Composiciones de CAMP2 modificado

En otro aspecto, la invención proporciona una composición que comprende un ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado como se describe en el presente documento.

En algunas realizaciones, la composición comprende además uno o más de (i) un ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1 de *C. acnes*, (ii) un ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA2 de *C. acnes*, (iii) un ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido PITP de *C. acnes*, (iv) un ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico y (v) un ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico.

En algunas realizaciones, la composición comprende el ácido nucleico de (i), el ácido nucleico de (ii) y el ácido nucleico de (iii). En alguna realización, la composición comprende el ácido nucleico de (v). En realizaciones preferidas, la composición comprende el ácido nucleico de (iii); y el ácido nucleico de (iv).

Composiciones de DsA1, DsA2 y PITP

En otro aspecto, la invención proporciona una composición que comprende un ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende uno o más de (i) un ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1 de *C. acnes*, (ii) un ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA2 de *C. acnes*, (iii) un ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido PITP de *C. acnes*, (iv) un ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico (v) un ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido quimérico DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* y (vi) un ácido nucleico como

se describe en el presente documento que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido quimérico DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes*.

La combinación de polipéptidos DsA1, DsA2 y PITP de *C. acnes* puede inducir una respuesta inmunitaria contra un número mayor de filotipos de *C. acnes* en comparación con el uso de antígenos individuales. El uso de una combinación de DsA1 y/o DsA2 con PITP puede inducir una mezcla de anticuerpos que presentan reactividad cruzada con un número mayor de cepas de *C. acnes* en comparación con el uso de antígenos individuales. Preferentemente, se proporcionan polipéptidos DsA1 y DsA2 de *C. acnes* como un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico. Un polipéptido PITP de *C. acnes* puede proporcionarse como una molécula de polipéptido independiente, como parte de un polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes quimérico* o como parte de un polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico. Normalmente, se proporciona un polipéptido PITP de *C. acnes* como una molécula polipeptídica separada.

En algunas realizaciones, la composición comprende el ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido DsA1 de *C. acnes*, el ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido DsA2 de *C. acnes* y el ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido PITP de *C. acnes*.

En algunas realizaciones, la composición comprende el ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico como se describe en el presente documento y el ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido PITP de *C. acnes* como se describe en el presente documento. Normalmente, el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 70, o una secuencia que

tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (p. ej., al menos un 90 % o al menos un 95 %) de identidad con esta, y el polipéptido PITP de *C. acnes* comprende la secuencia de acuerdo con la SEQ ID NO: 73, o una secuencia que tiene al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 86 %, al menos un 87 %, al menos un 88 %, al menos un 89 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (p. ej., al menos un 90 % o al menos un 95 %) de identidad con esta. En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 70 y el polipéptido PITP de *C. acnes* comprende la secuencia de acuerdo con la SEQ ID NO: 73. En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico consiste en una secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 70 y el polipéptido PITP de *C. acnes* consiste en una secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 73.

En algunas realizaciones, el ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de nucleótidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 179, o una secuencia que tiene al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99% (p. ej., un 85 %) de identidad con esta, y el ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido PITP de *C. acnes* comprende una secuencia de nucleótidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 182, o una secuencia que tiene al menos un 50 %, al menos un 55 %, al menos un 60 %, al menos un 65 %, al menos un 70 %, al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos

un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (p. ej., un 75 %) de identidad con esta.

En algunas realizaciones, el ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico
5 consiste en una secuencia de nucleótidos que codifica una secuencia de péptido señal de secreción (p. ej., una secuencia de péptido señal de secreción vírica descrita en el presente documento) y una secuencia de acuerdo con la SEQ ID NO: 179, o una secuencia que tiene al menos un 85 % de identidad con esta, y el ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido
10 PTP de *C. acnes* consiste en una secuencia de nucleótidos que codifica una secuencia de péptido señal de secreción (p. ej., una secuencia de péptido señal de secreción vírica descrita en el presente documento) y una secuencia de acuerdo con la SEQ ID NO: 182, o una secuencia que tiene al menos un 75 % de identidad con esta.

Una cualquiera de las composiciones de la invención puede comprender una combinación como se describe en el presente documento de los ácidos nucleicos como se describen en el presente documento (p. ej., pueden formularse en la misma
15 composición). Las combinaciones como se describen en el presente documento de los ácidos nucleicos como se describen en el presente documento pueden estar, como alternativa, en dos o más composiciones separadas (p. ej., como una combinación de composiciones para la administración simultánea, por separado o
20 secuencial (p. ej., en un uso terapéutico o profiláctico como se describe en el presente documento)).

Una composición de la presente divulgación que comprende uno o más
25 ácidos nucleicos de la presente divulgación también puede incluir uno o más componentes adicionales tales como inmunopotenciadores tradicionales (p. ej., agonistas de TLR). Una composición de la presente divulgación también puede incluir un sistema de suministro para un ácido nucleico descrito en el presente documento (p. ej., ARN), tal como un liposoma, una emulsión de aceite en agua o
30 una micropartícula. En algunas realizaciones, la composición comprende una

nanopartícula lipídica (LNP). En determinadas realizaciones, la composición comprende una molécula de ácido nucleico de la invención encapsulada dentro de una LNP.

En algunas realizaciones, una composición como se describe en el presente documento está en una forma líquida congelada. En algunas realizaciones, una composición como se describe en el presente documento está en una forma liofilizada (por ejemplo, en una forma liofilizada).

Composiciones polipeptídicas

En un aspecto, la invención proporciona una composición que comprende un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* como se describe en el presente documento.

En otro aspecto, la invención proporciona una composición que comprende un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado como se describe en el presente documento.

En otro aspecto, la invención proporciona una composición que comprende un polipéptido DsA1 de *C. acnes* como se describe en el presente documento.

En otro aspecto, la invención proporciona una composición que comprende un polipéptido DsA2 de *C. acnes* como se describe en el presente documento.

En otro aspecto, la invención proporciona una composición que comprende un polipéptido PITP de *C. acnes* como se describe en el presente documento.

En otro aspecto, la invención proporciona una composición que comprende un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico como se describe en el presente documento.

En otro aspecto, la invención proporciona una composición que comprende un polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico como se describe en el presente documento.

En otro aspecto, la invención proporciona una composición que comprende un polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico como se describe en el presente documento.

Cualquiera de las composiciones descritas en el presente documento puede comprender cualquiera de los antígenos polipeptídicos como se describen en el documento WO2021/165543.

Composiciones de CAMP2

5 En un aspecto, la invención proporciona una composición que comprende un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* como se describe en el presente documento.

 En algunas realizaciones, la composición que comprende (a) un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* como se describe en el presente documento comprende además uno o más de (b)(i) un polipéptido DsA1 de *C. acnes* como se describe en
10 el presente documento, (b)(ii) un polipéptido DsA2 de *C. acnes* como se describe en el presente documento, (b)(iii) un polipéptido PITP de *C. acnes* como se describe en el presente documento, (b)(iv) un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico como se describe en el presente documento y (b)(v) un polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico como se describe en el presente documento. En algunas
15 realizaciones, la composición comprende el polipéptido de (b)(i), el polipéptido de (b)(ii) y el polipéptido de (b)(iii). En algunas realizaciones, la composición comprende el polipéptido de (b)(v). En realizaciones preferidas, la composición comprende el polipéptido de (b)(iii); y el polipéptido de (b)(iv).

 En algunas realizaciones, los polipéptidos de (a), (b)(iii) y (b)(iv) se
20 proporcionan como un polipéptido quimérico, por ejemplo, un polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico como se describe en el presente documento. En algunas realizaciones, los polipéptidos de (a) y (b)(v) se proporcionan como un polipéptido quimérico, por ejemplo, un polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico como se describe en el
25 presente documento. Normalmente, los polipéptidos de (a), (b)(iii) y (b)(iv) se proporcionan como polipéptidos separados.

Composiciones de CAMP2 modificado

 En otro aspecto, la invención proporciona una composición que comprende un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado como se describe en el presente
30 documento.

En algunas realizaciones, la composición que comprende un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado como se describe en el presente documento comprende además uno o más de (i) un polipéptido DsA1 de *C. acnes* como se describe en el presente documento, (ii) un polipéptido DsA2 de *C. acnes* como se describe en el presente documento, (iii) un polipéptido PITP de *C. acnes* como se describe en el presente documento, (iv) un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico como se describe en el presente documento y (v) un polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico como se describe en el presente documento.

En algunas realizaciones, la composición comprende el polipéptido de (i), el polipéptido de (ii) y el polipéptido de (iii). En algunas realizaciones, la composición comprende el polipéptido de (v). En realizaciones preferidas, la composición comprende el polipéptido de (iii); y el polipéptido de (iv).

Composiciones de DsA1, DsA2 y PITP

En otro aspecto, la invención proporciona una composición que comprende uno o más de (i) un polipéptido DsA1 de *C. acnes* como se describe en el presente documento, (ii) un polipéptido DsA2 de *C. acnes* como se describe en el presente documento, (iii) un polipéptido PITP de *C. acnes* como se describe en el presente documento, (iv) un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico como se describe en el presente documento (v) un polipéptido quimérico DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* como se describe en el presente documento, y (vi) un polipéptido quimérico DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 como se describe en el presente documento.

En algunas realizaciones, la composición comprende el polipéptido DsA1 de *C. acnes* como se describe en el presente documento, el polipéptido DsA2 de *C. acnes* como se describe en el presente documento y el polipéptido PITP de *C. acnes* como se describe en el presente documento.

En algunas realizaciones, la composición comprende el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico como se describe en el presente documento y el polipéptido PITP de *C. acnes* como se describe en el presente documento.

Normalmente, el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico comprende una

secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 70, o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (p. ej., al menos un 90 % o al menos un 95 %) de identidad con esta, y el polipéptido PITP de *C. acnes* comprende la secuencia de acuerdo con la SEQ ID NO: 73, o una secuencia que tiene al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 86 %, al menos un 87 %, al menos un 88 %, al menos un 89 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (p. ej., al menos un 90 % o al menos un 95 %) de identidad con esta. En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 70 y el polipéptido PITP de *C. acnes* comprende la secuencia de acuerdo con la SEQ ID NO: 73. En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico consiste en una secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 70 y el polipéptido PITP de *C. acnes* consiste en una secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 73.

Una cualquiera de las composiciones de la invención puede comprender una combinación como se describe en el presente documento de los polipéptidos como se describen en el presente documento (p. ej., pueden formularse en la misma composición). Las combinaciones como se describen en el presente documento de los polipéptidos como se describen en el presente documento pueden estar, como alternativa, en dos o más composiciones separadas (p. ej., como una combinación de composiciones para la administración simultánea, por separado o secuencial (p. ej., en un uso terapéutico o profiláctico como se describe en el presente documento)).

Una composición de la presente divulgación que comprende uno o más polipéptidos de la presente divulgación puede comprender un adyuvante como se describe en el presente documento. Tal como se utiliza en el presente documento, un "adyuvante" se refiere a una sustancia o vehículo que mejora la respuesta

inmunitaria a un antígeno. Los adyuvantes pueden incluir, sin limitación, una suspensión de minerales (p. ej., alumbre, hidróxido de aluminio o fosfato) en la cual se adsorbe el antígeno; una emulsión de agua en aceite o de aceite en agua en la que la solución de antígeno se emulsiona en aceite mineral o en agua (p. ej., adyuvante incompleto de Freund). En ocasiones se incluyen micobacterias muertas (p. ej., adyuvante completo de Freund) para potenciar adicionalmente la antigenicidad. Los adyuvantes pueden incluir adyuvantes de emulsión de aceite en agua escualénicos (p. ej., AF03, p. ej., como se describe en el documento WO2007006939 y la Patente de los EE. UU. N.º 8 703 095; AS03, p. ej., como se describe en los documentos WO1995017209, WO1995017210 y las Patentes de los EE. UU. N.º 6 623 739, 7 029 678 y 7 510 698; y MF59, p. ej., como se describe en el documento WO1990014837 y las Patentes de los EE. UU. N.º 6 299 884 y 6 451 325). También se pueden utilizar oligonucleótidos inmunoestimuladores (p. ej., un motivo CpG) como adyuvantes (p. ej., véanse las Patentes de los EE. UU. N.º 6 194 388; 6 207 646; 6 214 806; 6 218 371; 6 239 116; 6 339 068; 6 406 705; y 6 429 199). Los adyuvantes también pueden incluir moléculas biológicas, tales como agonistas de receptores de tipo Toll (TLR, por sus siglas en inglés) (p. ej., AS01, p. ej., como se describe en el documento WO2007068907 y en las Patentes de los EE. UU. N.º 10 039 823 y 10 143 745; SPA14, p. ej., como se describe en el documento WO2022090359; y LEQ, p. ej., como se describe en el documento WO2023056089) y moléculas coestimuladoras.

En algunas realizaciones, el adyuvante se selecciona del grupo que consiste en: Adyuvantes de aluminio (p. ej., AIOOH), adyuvantes de emulsión de aceite en agua escualénicos (p. ej., AF03, AS03, MF59) y adyuvantes liposómicos que comprenden una saponina y un agonista de TLR4 (p. ej., SPA14, LEQ, AS01).

En realizaciones preferidas, el adyuvante se selecciona del grupo que consiste en AIOOH, AF03 y SPA14.

En algunas realizaciones, una composición como se describe en el presente documento está en una forma líquida congelada. En algunas realizaciones, una

composición como se describe en el presente documento está en una forma liofilizada.

Combinaciones – ácido nucleico y polipéptido

Combinaciones de ácidos nucleicos

5 La invención proporciona combinaciones que comprenden uno o más ácidos nucleicos de la invención.

Combinaciones de CAMP2

En algunos aspectos, la invención proporciona una combinación que comprende un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido CAMP2 de *C. acnes*; y uno o más de: (i) un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1 de *C. acnes*; (ii) un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA2 de *C. acnes*; (iii) un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido PITP de *C. acnes*; (iv) un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico; y (v) un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico.

En algunas realizaciones, la combinación comprende el ácido nucleico de (i), el ácido nucleico de (ii) y el ácido nucleico de (iii). En algunas realizaciones, la composición comprende el ácido nucleico de (v). En realizaciones preferidas, la composición comprende el ácido nucleico de (iii); y el ácido nucleico de (iv). En algunas realizaciones, la combinación comprende el ácido nucleico de (v). En realizaciones preferidas, la combinación comprende el ácido nucleico de (iii), y el ácido nucleico de (iv).

En algunas realizaciones, la combinación comprende un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido CAMP2 de *C. acnes*, el ácido nucleico de (iii) y el ácido nucleico de (iv). En algunas realizaciones, la combinación comprende un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* y el ácido nucleico de

(v). En algunas realizaciones, dichas combinaciones se proporcionan como un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico como se describe en el presente documento. Normalmente, el ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido CAMP2 de *C. acnes*, el ácido nucleico de (iii) y el ácido nucleico de (iv) son proporcionados por moléculas de ácido nucleico separadas.

Combinaciones de CAMP2 modificado

En otro aspecto, la invención proporciona una combinación que comprende un ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado como se describe en el presente documento y uno o más de (i) un ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1 de *C. acnes*, (ii) un ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA2 de *C. acnes*, (iii) un ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido PITP de *C. acnes*, (iv) un ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico y (v) un ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico.

En algunas realizaciones, la combinación comprende el ácido nucleico de (i), el ácido nucleico de (ii) y el ácido nucleico de (iii). En alguna realización, la combinación comprende el ácido nucleico de (v). En realizaciones preferidas, la combinación comprende el ácido nucleico de (iii); y el ácido nucleico de (iv).

Combinaciones de DsA1, DsA2 y PITP

En un aspecto, la invención proporciona una combinación que comprende uno o más de: (i) un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos

que codifica un polipéptido DsA1 de *C. acnes*; (ii) un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA2 de *C. acnes*; (iii) un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido PITP de *C. acnes*; (iv) un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico; y (v) un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico.

En algunas realizaciones, la combinación comprende el ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido DsA1 de *C. acnes*, el ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido DsA2 de *C. acnes* y el ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido PITP de *C. acnes*.

En algunas realizaciones, la combinación comprende el ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico como se describe en el presente documento y el ácido nucleico como se describe en el presente documento que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido PITP de *C. acnes* como se describe en el presente documento. Normalmente, el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 70, o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (p. ej., al menos un 90 % o al menos un 95 %) de identidad con esta, y el polipéptido PITP de *C. acnes* comprende la secuencia de acuerdo con la SEQ ID NO: 73, o una secuencia que tiene al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 86 %, al menos un 87 %, al menos un 88 %, al menos un 89 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al

menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (p. ej., al menos un 90 % o al menos un 95 %) de identidad con esta. En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 70 y el polipéptido PITP de *C. acnes* comprende la secuencia de acuerdo con la SEQ ID NO: 73. En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico consiste en una secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 70 y el polipéptido PITP de *C. acnes* consiste en una secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 73.

En algunas realizaciones, el ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de nucleótidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 179, o una secuencia que tiene al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99% (p. ej., un 85 %) de identidad con esta, y el ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido PITP de *C. acnes* comprende una secuencia de nucleótidos de acuerdo con una cualquiera de la SEQ ID NO: 182, o una secuencia que tiene al menos un 50 %, al menos un 55 %, al menos un 60 %, al menos un 65 %, al menos un 70 %, al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (p. ej., un 75 %) de identidad con esta.

En algunas realizaciones, el ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico consiste en una secuencia de nucleótidos que codifica una secuencia de péptido señal de secreción (p. ej., una secuencia de péptido señal de secreción vírica descrita en el presente documento) y una secuencia de acuerdo con la SEQ ID NO: 179, o una secuencia que tiene al menos un 85 % de identidad con esta, y el ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido

PITP de *C. acnes* consiste en una secuencia de nucleótidos que codifica una secuencia de péptido señal de secreción (p. ej., una secuencia de péptido señal de secreción vírica descrita en el presente documento) y una secuencia de acuerdo con la SEQ ID NO: 182, o una secuencia que tiene al menos un 75 % de identidad con esta.

Combinaciones de polipéptidos

La invención proporciona combinaciones que comprenden dos o más polipéptidos de la invención.

Combinaciones de CAMP2

En algunos aspectos, la invención proporciona una combinación que comprende un polipéptido CAMP2 de *C. acnes*; y uno o más de: (i) un polipéptido DsA1 de *C. acnes* como se describe en el presente documento, (ii) un polipéptido DsA2 de *C. acnes* como se describe en el presente documento, (iii) un polipéptido PITP de *C. acnes* como se describe en el presente documento, (iv) un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico como se describe en el presente documento y (v) un polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico como se describe en el presente documento.

En algunas realizaciones, la combinación comprende el polipéptido de (i), el polipéptido de (ii) y el polipéptido de (iii). En algunas realizaciones, la combinación comprende el polipéptido de (v). En realizaciones preferidas, la combinación comprende el polipéptido de (iii); y el polipéptido de (iv). En algunas realizaciones, dichas combinaciones se proporcionan como un polipéptido quimérico, por ejemplo, un polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico como se describe en el presente documento. Normalmente, el polipéptido CAMP2 de *C. acnes*, el polipéptido de (iii) y el polipéptido de (iv) se proporcionan como polipéptidos separados.

Combinaciones de CAMP2 modificado

En otro aspecto, la invención proporciona una combinación que comprende un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado como se describe en el presente documento y uno o más de (i) un polipéptido DsA1 de *C. acnes* como se describe

en el presente documento, (ii) un polipéptido DsA2 de *C. acnes* como se describe en el presente documento, (iii) un polipéptido PITP de *C. acnes* como se describe en el presente documento, (iv) un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico como se describe en el presente documento y (v) un polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico como se describe en el presente documento.

En algunas realizaciones, la combinación comprende el polipéptido de (i), el polipéptido de (ii) y el polipéptido de (iii). En algunas realizaciones, la combinación comprende el polipéptido de (v). En realizaciones preferidas, la combinación comprende el polipéptido de (iii); y el polipéptido de (iv).

Composiciones de DsA1, DsA2 y PITP

En un aspecto, la invención proporciona una combinación que comprende uno o más de (i) un polipéptido DsA1 de *C. acnes* como se describe en el presente documento, (ii) un polipéptido DsA2 de *C. acnes* como se describe en el presente documento, (iii) un polipéptido PITP de *C. acnes* como se describe en el presente documento, (iv) un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico como se describe en el presente documento y (v) un polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico como se describe en el presente documento.

En algunas realizaciones, la combinación comprende el polipéptido DsA1 de *C. acnes* como se describe en el presente documento, el polipéptido DsA2 de *C. acnes* como se describe en el presente documento y el polipéptido PITP de *C. acnes* como se describe en el presente documento.

En algunas realizaciones, la composición comprende el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico como se describe en el presente documento y el polipéptido PITP de *C. acnes* como se describe en el presente documento.

Normalmente, el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 70, o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (p. ej., al menos un 90 % o al menos un 95 %) de identidad con esta, y el polipéptido PITP de *C. acnes* comprende la secuencia

de acuerdo con la SEQ ID NO: 73, o una secuencia que tiene al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 86 %, al menos un 87 %, al menos un 88 %, al menos un 89 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (p. ej., al menos un 90 % o al menos un 95 %) de identidad con esta. En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 70 y el polipéptido PITP de *C. acnes* comprende la secuencia de acuerdo con la SEQ ID NO: 73. En algunas realizaciones, el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico consiste en una secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 70 y el polipéptido PITP de *C. acnes* consiste en una secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 73.

LNP

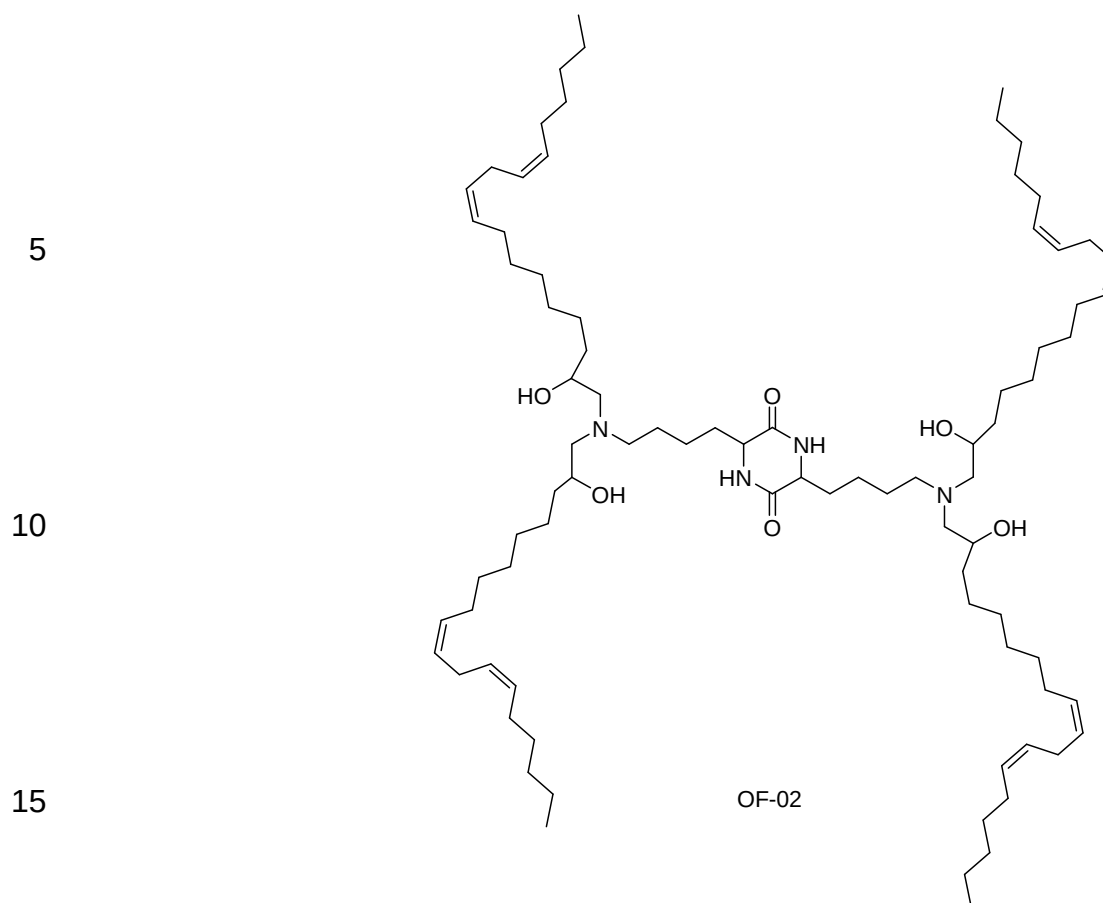
En determinadas realizaciones, la composición de la invención (p. ej., la composición que comprende un ácido nucleico de la invención) comprende además una nanopartícula lipídica (LNP). En determinadas realizaciones, el ácido nucleico de la invención se encapsula en la LNP.

Las LNP de la divulgación pueden comprender cuatro categorías de lípidos: (i) un lípido ionizable (p. ej., un lípido catiónico); (ii) un lípido PEGilado; (iii) un lípido de colesterol y (iv) un lípido auxiliar.

A. Lípidos ionizables

Un lípido ionizable facilita la encapsulación del ARNm y puede ser un lípido catiónico. Un lípido catiónico proporciona un entorno cargado positivamente a un pH bajo para facilitar la encapsulación eficaz de la sustancia farmacéutica de ARNm cargada negativamente.

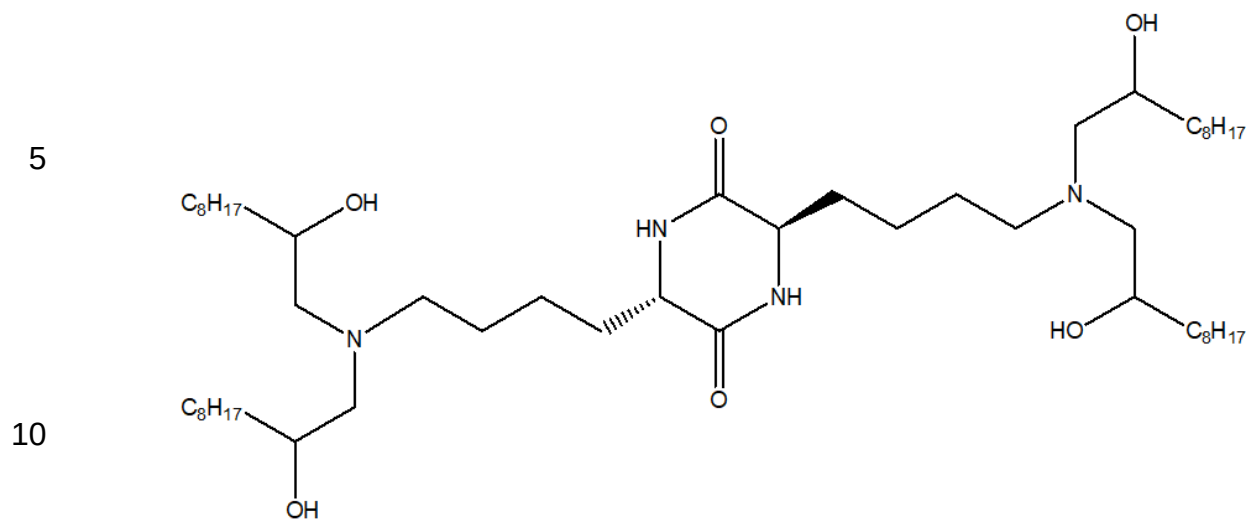
En algunas realizaciones, el lípido catiónico es OF-02:



Fórmula (I)

OF-02 es un análogo estructural no degradable de OF-Deg-Lin. OF-Deg-Lin contiene uniones de éster degradables para unir el núcleo de dicetopiperazina y las colas doblemente insaturadas, mientras que OF-02 contiene uniones de 1,2-aminoalcohol no degradables para unir el mismo núcleo de dicetopiperazina y las colas doblemente insaturadas (Fenton *et al.*, *Adv Mater.* (2016) 28:2939; Patente de los EE. UU. 10 201 618). Una formulación de LNP a modo de ejemplo del presente documento, el Lípido A, contiene OF-2.

En algunas realizaciones, el lípido catiónico es cKK-E10 (Dong *et al.*, *PNAS* (2014) 111(11):3955-60; Patente de los EE. UU. 9 512 073):

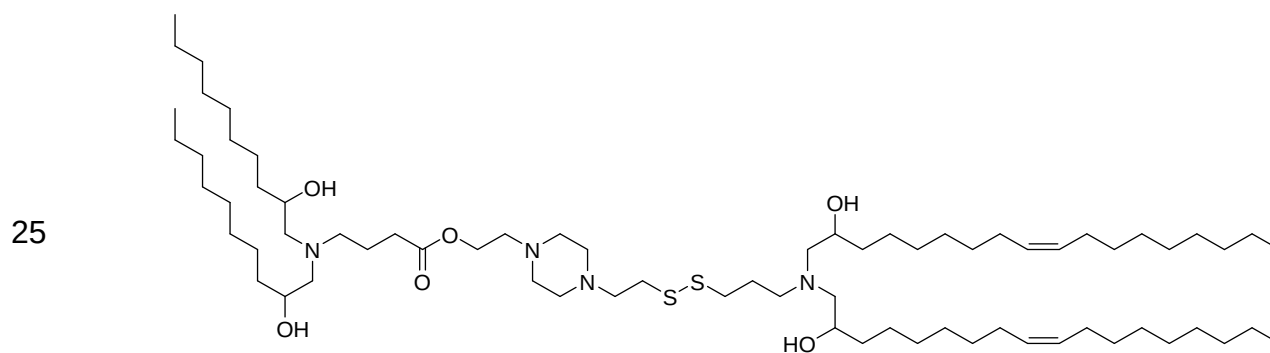


cKK-E10

Fórmula (II)

15 Una formulación de LNP a modo de ejemplo del presente documento, el Lípido B, contiene cKK-E10.

20 En algunas realizaciones, el lípido catiónico es GL-HEPES-E3-E10-DS-3-E18-1 ((4-(bis(2-hidroxidecil)amino)butanoato de 2-(4-(2-((3-(bis((Z)-2-hidroxiocetadec-9-en-1-il)amino)propil)disulfaneil)etil)piperazin-1-il)etil)), que es un lípido catiónico disulfurado de HEPES con un núcleo de piperazina, que tiene la Fórmula III:

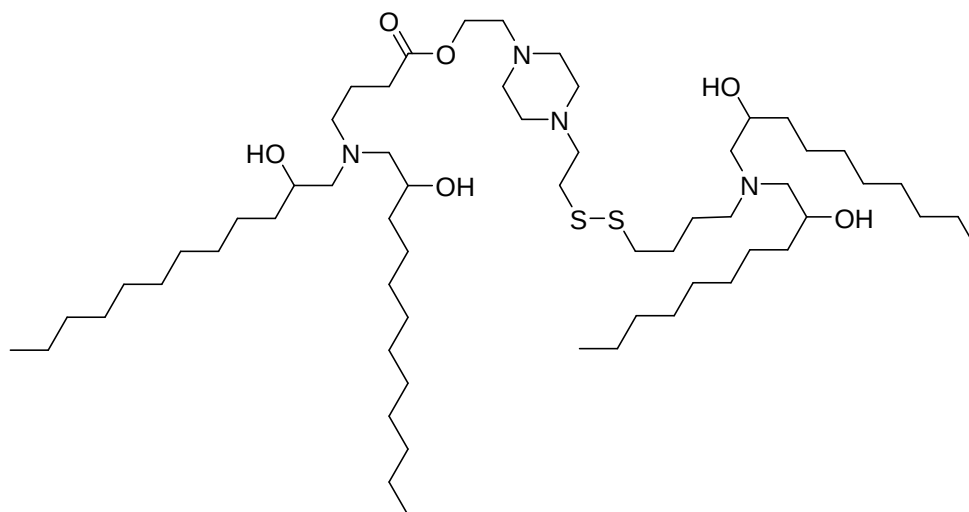


Fórmula (III)

30 Una formulación de LNP a modo de ejemplo del presente documento, el Lípido C, contiene GL-HEPES-E3-E10-DS-3-E18-1. El Lípido C tiene la misma

composición que el Lípido A o el Lípido B, salvo por la diferencia en el lípido catiónico.

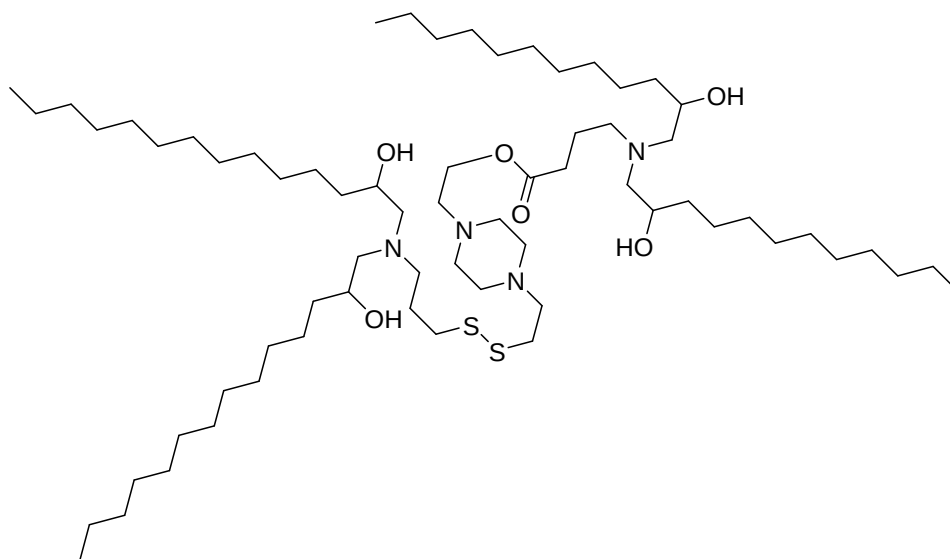
Normalmente, el lípido catiónico es GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10 (4-(bis(2-hidroxidodecil)amino)butanoato de 2-(4-(2-((3-(bis(2-hidroxidecil)amino)butil)disulfaneil)etil)piperazin-1-il)etilo), que es un lípido catiónico disulfurado de HEPES con un núcleo de piperazina, que tiene la Fórmula IV:



Fórmula (IV)

Una formulación de LNP a modo de ejemplo del presente documento, el Lípido D, contiene GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10. El lípido D tiene la misma composición que el lípido A o el lípido B, salvo por la diferencia en el lípido catiónico.

En algunas realizaciones, el lípido catiónico es GL-HEPES-E3-E12-DS-3-E14 (4-(bis(2-hidroxidodecil)amino)butanoato de 2-(4-(2-((3-(bis(2-hidroxitetradecil)amino)propil)disulfaneil)etil)piperazin-1-il)etilo), que es un lípido catiónico disulfurado de HEPES con un núcleo de piperazina, que tiene la Fórmula V:

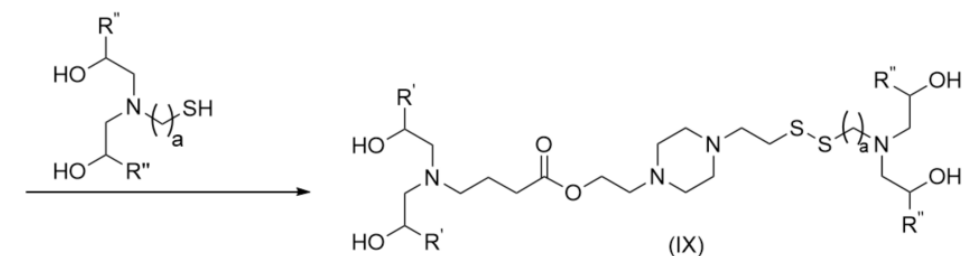
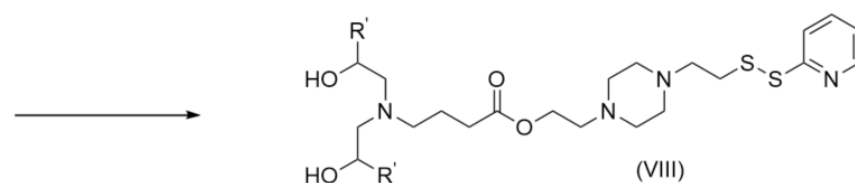
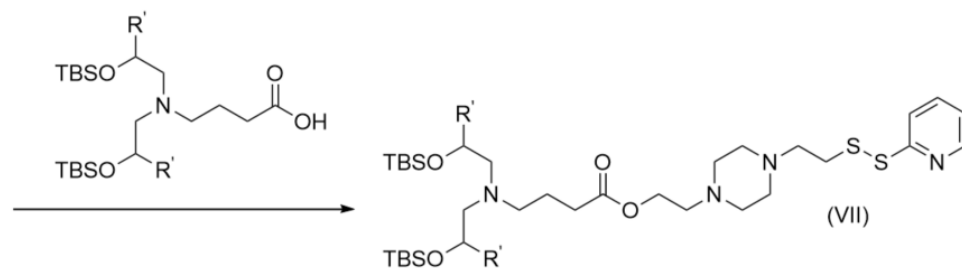
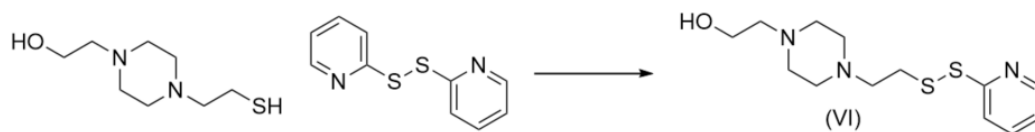


Fórmula (V)

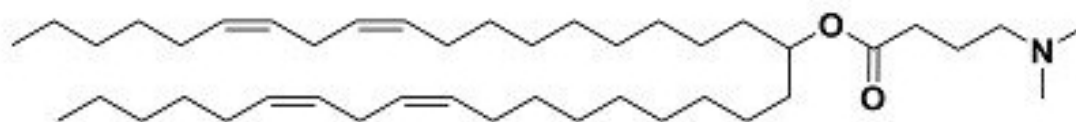
Una formulación de LNP a modo de ejemplo del presente documento, el Lípido E, contiene GL-HEPES-E3-E12-DS-3-E14. El Lípido E tiene la misma composición que el Lípido A o el Lípido B, salvo por la diferencia en el lípido catiónico.

Los lípidos catiónicos GL-HEPES-E3-E10-DS-3-E18-1 (III), GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10 (IV) y GL-HEPES-E3-E12-DS-3-E14 (V) se pueden sintetizar de acuerdo con el procedimiento general que se expone en el Esquema 1:

Esquema 1: Esquema de síntesis general para lípidos de Fórmulas (III), (IV) y (V)

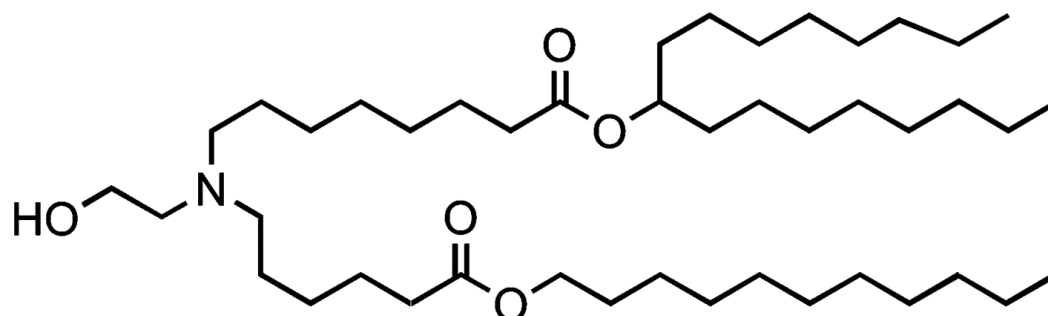


En algunas realizaciones, el lípido catiónico es MC3, que tiene la Formula VI:



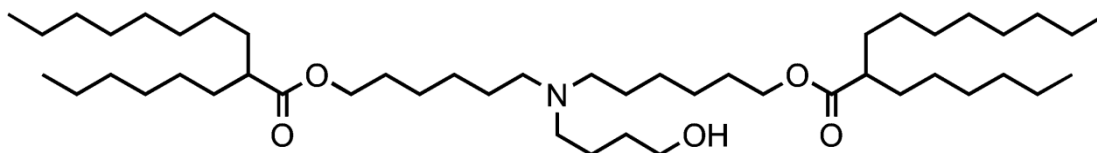
Fórmula (VI)

En algunas realizaciones, el lípido catiónico es SM-102 (8-((2-hidroxiethyl)[6-oxo-6-(undeciloxi)hexil]amino)octanoato de 9-heptadecanilo), que tiene la Fórmula VII:



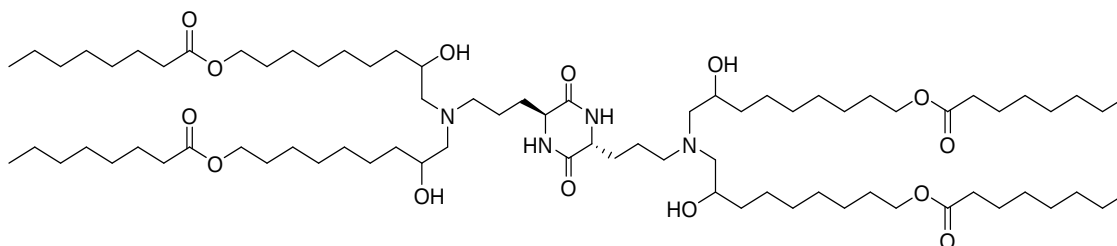
Fórmula (VII)

En algunas realizaciones, el lípido catiónico es ALC-0315 [bis(2-hexildecanoato de (4-hidroxibutil)azanodiil)di(hexano-6,1-diilo)], que tiene la



Fórmula (VIII)

En algunas realizaciones, el lípido catiónico es cOrn-EE1, que tiene la

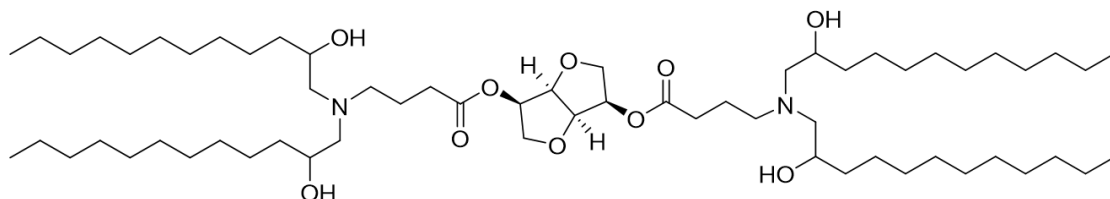


Fórmula (IX)

En algunas realizaciones, el lípido catiónico puede seleccionarse del grupo que comprende cKK-E10; OF-02; 4-(dimetilamino)butanoato de [(6Z,9Z,28Z,31Z)-heptatriaconta-6,9,28,31-tetraen-19-ilo] (D-Lin-MC3-DMA); 2,2-dilinoil-4-dimetilaminoetil-[1,3]-dioxolano (dLin-KC2-DMA); 1,2-dilinoiloxi-N,N-dimetil-3-aminopropano (dLin-DMA); 9-((4-(dimetilamino)butanoil)oxi)heptadecanodioato de di((Z)-non-2-en-1-ilo) (L319); 8-((2-hidroxietil)[6-oxo-6-(undeciloxi)hexil]amino)octanoato de 9-heptadecanilo (SM-102); bis(2-

hexildecanoato) de [(4-hidroxibutil)azanodiil]di(hexano-6,1-diilo) (ALC-0315); (Z)-octadec-9-enoato de [3-(dimetilamino)-2-[(Z)-octadec-9-enoil]oxipropilo] (DODAP); 2,5-bis(3-aminopropilamino)-N-[2-[di(heptadecil)amino]-2-oxoetil]pentanamida (DOGS); N-[2-(dimetilamino)etil]carbamato de [(3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-10,13-dimetil-17-[(2R)-6-metilheptan-2-il]-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahidro-1H-ciclopenta[a]fenantren-3-ilo] (DC-Chol); 3,3',3'',3'''-(((metilazanodiil)bis(propano-3,1-diil))bis(azanotriil))tetrapropionato de tetraquis(8-metilnonilo) (306Oi10); (2-(dioctilamonio)etil)fosfato de decilo (9A1P9); 5,5-di((Z)-heptadec-8-en-1-il)-1-(3-(pirrolidin-1-il)propil)-2,5-dihidro-1H-imidazol-2-carboxilato de etilo (A2-Iso5-2DC18); 3,3'-((3-metil-9-oxo-10-oxa-13,14-ditia-3,6-diazahexacosil)azanodiil)dipropionato de bis(2-(dodecildisulfanil)etilo) (BAME-O16B); 1,1'-((2-(4-(2-((2-bis(2-hidroxidodecil)amino)etil)(2-hidroxidodecil)amino)etil)piperazin-1-il)etil)azanodiil)bis(dodecan-2-ol) (C12-200); 3,6-bis(4-(bis(2-hidroxidodecil)amino)butil)piperazin-2,5-diona (cKK-E12); 9,9',9'',9''',9''''-((((benceno-1,3,5-tricarbonil)tris(azanodiil))tris(propano-3,1-diil))tris(azanotriil))hexanonanoato de hexa(octan-3-ilo) (FTT5); (9Z,9'Z,9''Z,9'''Z,12Z,12'Z,12''Z,12'''Z)-tetraquis (octadeca-9,12-dienoato) de (((3,6-dioxopiperazin-2,5-diil)bis(butano-4,1-diil))bis(azanotriil))tetraquis(etano-2,1-diilo) (OF-Deg-Lin); TT3; N1,N3,N5-tris(3-(didodecilamino)propil)benceno-1,3,5-tricarboxamida; N1-[2-((1S)-1-[(3-aminopropil)amino]-4-[di(3-aminopropil)amino]butilcarboxamido)etil]-3,4-di[oleiloxi]-benzamida (MVL5); 8-((2-hidroxietil)(8-(noniloxi)-8-oxooctil)amino)octanoato de heptadecan-9-ilo (Lípido 5); GL-HEPES-E3-E10-DS-3-E18-1; GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10; GL-HEPES-E3-E12-DS-3-E14; y combinaciones de estos.

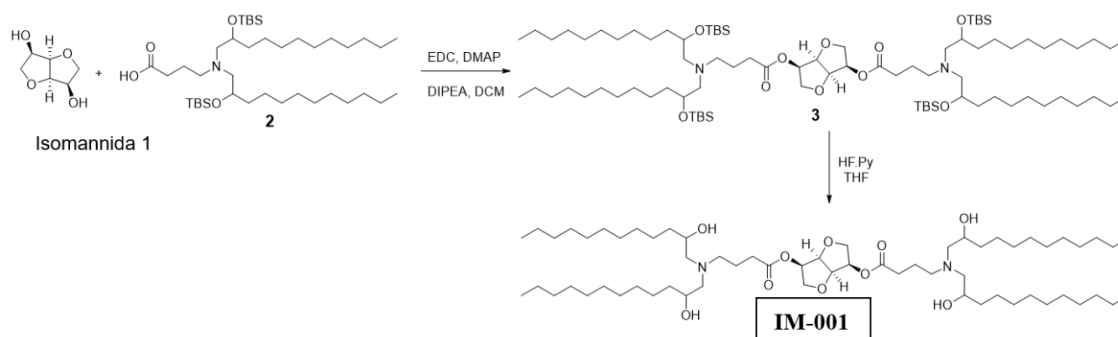
En algunas realizaciones, el lípido catiónico es IM-001, que tiene la Fórmula X (EP23306049.0):



Fórmula (X)

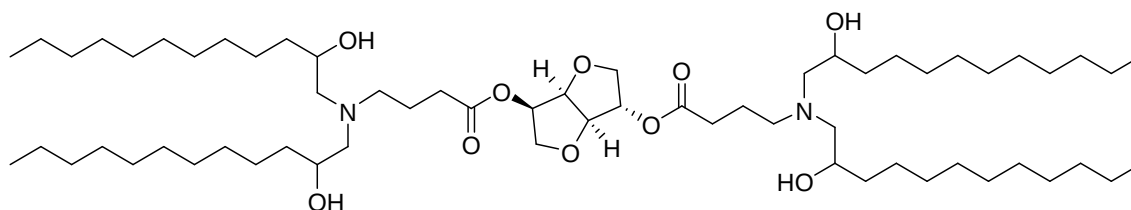
Una formulación de LNP a modo de ejemplo del presente documento, el Lípido G, contiene IM-001. El Lípido F tiene la misma composición que el Lípido A o el Lípido B, salvo por la diferencia en el lípido catiónico.

El lípido catiónico IM-001 (X) se puede sintetizar de acuerdo con el procedimiento general que se expone en el Esquema 2:

Esquema 2: Esquema de síntesis general para el lípido de Fórmula (X)

El Esquema 2 se puede realizar como se describe en el Ejemplo 12.

En algunas realizaciones, el lípido catiónico es IS-001, que tiene la formula X (EP23306049.0):

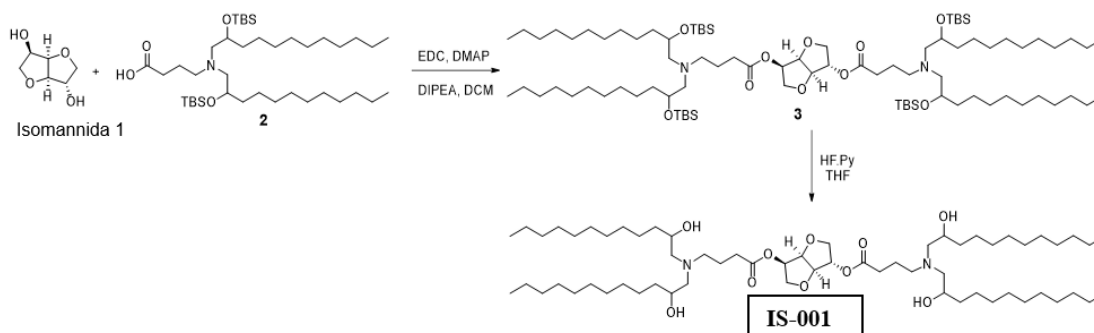


Formula (XI)

Una formulación de LNP ilustrativa en el presente documento, el lípido G, contiene IS-001. El lípido G tiene la misma composición que el lípido A o el lípido B, pero con la diferencia en el lípido catiónico.

El lípido catiónico IS-001 (XI) se puede sintetizar de acuerdo con el procedimiento general establecido en el esquema 3:

Esquema 3: Esquema sintético general para el lípido de Fórmula (XI)



El Esquema 3 se puede realizar como se describe en el Ejemplo 14.

En algunas realizaciones, el lípido catiónico es biodegradable.

En algunas realizaciones, el lípido catiónico no es biodegradable.

En algunas realizaciones, el lípido catiónico es escindible.

En algunas realizaciones, el lípido catiónico no es escindible.

Los lípidos catiónicos se describen en más detalle en Dong *et al.* (*PNAS*. 111(11):3955-60. 2014); Fenton *et al.* (*Adv Mater.* 28:2939. 2016); Patente de los EE. UU. N.º 9 512 073; y Patente de los EE. UU. N.º 10 201 618, cada uno de los cuales se incorpora al presente documento por referencia.

B. Lípidos PEGilados

El componente lipídico PEGilado proporciona control sobre el tamaño de las partículas y la estabilidad de la nanopartícula. La adición de tales componentes puede prevenir la agregación compleja y proporcionar un medio para aumentar la vida útil en circulación y aumentar el suministro de la composición farmacéutica de lípidos y ácidos nucleicos a los tejidos diana (Klibanov *et al.* *FEBS Letters* 268(1):235-7. 1990). Estos componentes pueden seleccionarse para intercambiarse rápidamente fuera de la composición farmacéutica *in vivo* (véase, p. ej., la Patente de los EE. UU. N.º 5 885 613).

Los lípidos PEGilados contemplados incluyen, pero no se limitan a, una cadena de polietilenglicol (PEG) con una longitud de hasta 5 kDa unida covalentemente a un lípido con una o más cadenas alquílicas con una longitud de

C₆-C₂₀ (p. ej., C₈, C₁₀, C₁₂, C₁₄, C₁₆ o C₁₈), tal como una ceramida derivatizada (p. ej., *N*-octanoil-esfingosina-1-[succinil(metoxipolietilenglicol)] (ceramida C8-PEG)). En algunas realizaciones, el lípido PEGilado es 1,2-dimiristoil-*rac*-glicero-3-metoxipolietilenglicol (DMG-PEG); 1,2-diestearoil-*sn*-glicero-3-fosfoetanolamina-polietilenglicol (DSPE-PEG); 1,2-dilauroil-*sn*-glicero-3-fosfoetanolamina-polietilenglicol (DLPE-PEG); o 1,2-diestearoil-*rac*-glicero-polietilenglicol (DSG-PEG), PEG-DAG; PEG-PE; PEG-S-DAG; PEG-S-DMG; PEG-cer; un PEG-dialquioxipropilcarbamato; 2-[(polietilenglicol)-2000]-*N,N*-ditetradecilacetamida (ALC-0159); y combinaciones de estos.

En determinadas realizaciones, el PEG tiene un peso molecular alto, p. ej., 2000-2400 g/mol. En determinadas realizaciones, el PEG es PEG2000 (o PEG-2K). En determinadas realizaciones, el lípido PEGilado del presente documento es DMG-PEG2000, DSPE-PEG2000, DLPE-PEG2000, DSG-PEG2000, C8 PEG2000 o ALC-0159 (2-[(polietilenglicol)-2000]-*N,N*-ditetradecilacetamida). En determinadas realizaciones, el lípido PEGilado del presente documento es DMG-PEG2000.

C. Lípidos de colesterol

El componente de colesterol proporciona estabilidad a la estructura de la bicapa lipídica dentro de la nanopartícula. En algunas realizaciones, las LNP comprenden uno o más lípidos de colesterol. Los lípidos de colesterol adecuados incluyen, por ejemplo: DC-Choi (*N,N*-dimetil-*N*-etilcarboxamidocolesterol), 1,4-bis(3-*N*-oleilaminopropil)piperazina (Gao *et al.*, *Biochem Biophys Res Comm.* (1991) 179:280; Wolf *et al.*, *BioTechniques* (1997) 23:139; Pat. de los EE.UU. 5,744,335), éster de colesterol imidazol ("ICE"; documento WO2011/068810), sitosterol (22,23-dihidrostigmasterol), β -sitosterol, sitostanol, fucosterol, estigmasterol (estigmasterol 5,22-dien-3-ol), ergosterol; desmosterol (3 β -hidroxi-5,24-colestadieno); lanosterol (8,24-lanostadien-3 β -ol); 7-deshidrocolesterol (Δ 5,7-colesterol); dihidrolanosterol (24,25-dihidrolanosterol); zimosterol (5 α -colest-8,24-dien-3 β -ol); latosterol (5 α -colest-7-en-3 β -ol); diosgenina ((3 β ,25R)-spirost-5-en-3-ol); campesterol (campesterol 5-en-3 β -ol); campestanol (5 α -campestan-3 β -ol); colesterol 24-metilen (5,24(28)-colestadien-24-metilen-3 β -ol); margarato de colesterilo (heptadecanoato de colest-

5-en-3 β -ilo); oleato de colestero; estearato de colestero y otras formas modificadas de colestero. En algunas realizaciones, el lípido de colestero utilizado en las LNP es colestero.

D. Lípidos auxiliares

5 Un lípido auxiliar mejora la estabilidad estructural de la LNP y ayuda a la LNP a escapar de los endosomas. Mejora la captación y la liberación de la carga farmacactiva de ARNm. En algunas realizaciones, el lípido auxiliar es un lípido dipolar, que tiene propiedades fusog nicas para aumentar la captación y la liberación de la carga farmacactiva. Son ejemplos de lípidos auxiliares la 1,2-
10 dioleoil-*sn*-glicero-3-fosfoetanolamina (DOPE); 1,2-diestearoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (DSPC); 1,2-dioleoil-*sn*-glicero-3-fosfo-L-serina (DOPS); 1,2-dilauidoil-*sn*-glicero-3-fosfoetanolamina (DEPE); y 1,2-dioleoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (DPOC), dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC), DMPC, 1,2-dilauidoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (DLPC), 1,2-diestearoilfosfatidiletanolamina (DSPE) y 1,2-dilauidoil-*sn*-
15 glicero-3-fosfoetanolamina (DLPE).

Otros lípidos auxiliares a modo de ejemplo son dioleoilfosfatidilcolina (DOPC), dioleoilfosfatidilglicerol (DOPG), dipalmitoilfosfatidilglicerol (DPPG), palmitoiloleoilfosfatidilcolina (POPC), palmitoiloleoilfosfatidiletanolamina (POPE), 4-
(*N*-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato de dioleoilfosfatidiletanolamina
20 (DOPE-mal), dipalmitoilfosfatidiletanolamina (DPPE), dimiristoilfosfoetanolamina (DMPE), fosfatidilserina, esfingolípidos, esfingomielinas, ceramidas, cerebrósidos, gangliósidos, 16-O-monometil PE, 16-O-dimetil PE, 18-1-trans PE, 1-estearoil-2-oleoilfosfatidietanolamina (SOPE) o una combinación de estos. En determinadas realizaciones, el lípido auxiliar es DOPE. En determinadas realizaciones, el lípido
25 auxiliar es DSPC.

En diversas realizaciones, las presentes LNP comprenden (i) un lípido catiónico seleccionado de OF-02, cKK-E10, GL-HEPES-E3-E10-DS-3-E18-1, GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10, GL-HEPES-E3-E12-DS-3-E14, IM-001 o IS-001; (ii) DMG-PEG2000; (iii) colestero; y (iv) DOPE.

En otras realizaciones, las LNP del presente documento comprenden (i) SM-102; (ii) DMG-PEG2000; (iii) colesterol; y (iv) DSPC.

En otras realizaciones más, las LNP del presente documento comprenden (i) ALC-0315; (ii) ALC-0159; (iii) colesterol; y (iv) DSPC.

5

E. Proporciones molares de los componentes lipídicos

Las proporciones molares de los componentes anteriores son importantes para la eficacia de las LNP en el suministro de ARNm. La relación molar del lípido catiónico, el lípido PEGilado, el lípido de colesterol y el lípido auxiliar es A: B: C: D, donde $A + B + C + D = 100 \%$. En algunas realizaciones, la relación molar del lípido catiónico en las LNP con respecto a los lípidos totales (es decir, A) es del 35-55 %, tal como el 35-50 % (p. ej., el 38-42 %, tal como el 40 %, o el 45-50%). En algunas realizaciones, la relación molar del componente lipídico PEGilado con respecto a los lípidos totales (es decir, B) es del 0.25-2.75 % (p. ej., el 1-2 %, tal como el 1.5 %). En algunas realizaciones, la relación molar del lípido de colesterol con respecto a los lípidos totales (es decir, C) es del 20-50 % (p. ej., el 27-30 %, tal como el 28.5 %, o el 38-43 %). En algunas realizaciones, la relación molar del lípido auxiliar con respecto a los lípidos totales (es decir, D) es del 5-35 % (p. ej., el 28-32 %, tal como el 30 %, o el 8-12 %, tal como el 10 %). En algunas realizaciones, los componentes (lípido PEGilado + colesterol) tienen la misma cantidad molar que el lípido auxiliar. En algunas realizaciones, las LNP contienen una relación molar del lípido catiónico respecto al lípido auxiliar que es superior a 1.

En determinadas realizaciones, el LNP de la divulgación comprende:

un lípido catiónico en una relación molar del 35 % al 55 % o del 40 % al 50 % (p. ej., un lípido catiónico en una relación molar del 35 %, 36 %, 37 %, 38 %, 39 %, 40 %, 41 %, 42 %, 43 %, 44 %, 45 %, 46 %, 47 %, 48 %, 49 %, 50 %, 51 %, 52 %, 53 %, 54 % o 55 %);

un lípido conjugado con polietilenglicol (PEG) (PEGilado) en una relación molar del 0.25 % al 2.75 % o del 1.00 % al 2.00 % (p. ej., un lípido PEGilado en una relación molar del 0.25 %, 0.50 %, 0.75 %, 1.00 %, 1.25 %, 1.50 %, 1.75 %, 2.00 %, 2.25 %, 2.50 % o 2.75 %);

un lípido basado en colesterol en una relación molar del 20 % al 50 %, del 25 % al 45 % o del 28.5 % al 43 % (p. ej., un lípido basado en colesterol en una relación molar del 20 %, 21 %, 22 %, 23 %, 24 %, 25 %, 26 %, 27 %, 28 %, 29 %, 30 %, 31 %, 32 %, 33 %, 34 %, 35 %, 36 %, 37 %, 38 %, 39 %, 40 %, 41 %, 42 %, 43 %, 44 %, 45 %, 46 %, 47 %, 48 %, 49 % o 50 %); y

un lípido auxiliar en una relación molar del 5 % al 35 %, del 8 % al 30 % o del 10 % al 30 % (p. ej., un lípido auxiliar en una relación molar del 5 %, 6 %, 7 %, 8 %, 9 %, 10 %, 11 %, 12 %, 13 %, 14 %, 15 %, 16 %, 17 %, 18 %, 19 %, 20 %, 21 %, 22 %, 23 %, 24 %, 25 %, 26 %, 27 %, 28 %, 29 %, 30 %, 31 %, 32 %, 33 %, 34 % o 35 %),

en donde todas las relaciones molares son respecto al contenido total de lípidos de la LNP.

En determinadas realizaciones, la LNP comprende: un lípido catiónico en una relación molar del 40 %; un lípido PEGilado en una relación molar del 1.5 %; un lípido de colesterol en una relación molar del 28.5 %; y un lípido auxiliar en una relación molar del 30 %.

En determinadas realizaciones, la LNP de la divulgación comprende: un lípido catiónico en una relación molar del 45 al 50 %; un lípido PEGilado en una relación molar del 1.5 al 1.7 %; un lípido de colesterol en una relación molar del 38 al 43 %; y un lípido auxiliar en una relación molar del 9 al 10 %.

En determinadas realizaciones, el lípido PEGilado es dimiristol-PEG2000 (DMG-PEG2000).

En diversas realizaciones, el lípido de colesterol es colesterol.

En algunas realizaciones, el lípido auxiliar es 1,2-dioleoil-*sn*-glicero-3-fosfoetanolamina (DOPE).

En determinadas realizaciones, la LNP comprende: OF-02 en una relación molar del 35 % al 55 %; DMG-PEG2000 en una relación molar del 0.25 % al 2.75 %; colesterol en una relación molar del 20 % al 50 %; y DOPE en una relación molar del 5 % al 35 %.

En determinadas realizaciones, la LNP comprende: cKK-E10 en una relación molar del 35 % al 55 %; DMG-PEG2000 en una relación molar del 0.25 % al 2.75 %; colesterol en una relación molar del 20 % al 50 %; y DOPE en una relación molar del 5 % al 35 %.

5 En determinadas realizaciones, la LNP comprende: GL-HEPES-E3-E10-DS-3-E18-1 en una relación molar del 35 % al 55 %; DMG-PEG2000 en una relación molar del 0.25 % al 2.75 %; colesterol en una relación molar del 20 % al 50 %; y DOPE en una relación molar del 5 % al 35 %.

10 En determinadas realizaciones, la LNP comprende: GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10 en una relación molar del 35 % al 55 %; DMG-PEG2000 en una relación molar del 0.25 % al 2.75 %; colesterol en una relación molar del 20 % al 50 %; y DOPE en una relación molar del 5 % al 35 %.

15 En determinadas realizaciones, la LNP comprende: GL-HEPES-E3-E12-DS-3-E14 en una relación molar del 35 % al 55 %; DMG-PEG2000 en una relación molar del 0.25 % al 2.75 %; colesterol en una relación molar del 20 % al 50 %; y DOPE en una relación molar del 5 % al 35 %.

20 En determinadas realizaciones, la LNP comprende: SM-102 en una relación molar del 35 % al 55 %; DMG-PEG2000 en una relación molar del 0.25 % al 2.75 %; colesterol en una relación molar del 20 % al 50 %; y DSPC en una relación molar del 5 % al 35 %.

En determinadas realizaciones, la LNP comprende: ALC-0315 en una relación molar del 35 % al 55 %; ALC-0159 en una relación molar del 0.25 % al 2.75 %; colesterol en una relación molar del 20 % al 50 %; y DSPC en una relación molar del 5 % al 35 %.

25 En determinadas realizaciones, la LNP comprende: OF-02 en una relación molar del 40 %; DMG-PEG2000 en una relación molar del 1.5 %; colesterol en una relación molar del 28.5 %; y DOPE en una relación molar del 30 %. En el presente documento, esta formulación de LNP se denomina "Lípido A".

30 En determinadas realizaciones, la LNP comprende: cKK-E10 en una relación molar del 40 %; DMG-PEG2000 en una relación molar del 1.5 %; colesterol en una

relación molar del 28.5 %; y DOPE en una relación molar del 30 %. En el presente documento esta formulación de LNP se denomina "Lípido B".

En determinadas realizaciones, la LNP comprende: GL-HEPES-E3-E10-DS-3-E18-1 en una relación molar del 40 %; DMG-PEG2000 en una relación molar del 1.5 %; colesterol en una relación molar del 28.5 %; y DOPE en una relación molar del 30 %. En el presente documento esta formulación de LNP se denomina "Lípido C".

Normalmente, la LNP comprende: GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10 en una relación molar del 40 %; DMG-PEG2000 en una relación molar del 1.5 %; colesterol en una relación molar del 28.5 %; y DOPE en una relación molar del 30 %. En el presente documento esta formulación de LNP se denomina "Lípido D".

En determinadas realizaciones, la LNP comprende: GL-HEPES-E3-E12-DS-3-E14 en una relación molar del 40 %; DMG-PEG2000 en una relación molar del 1.5 %; colesterol en una relación molar del 28.5 %; y DOPE en una relación molar del 30 %. En el presente documento esta formulación de LNP se denomina "Lípido E".

En determinadas realizaciones, la LNP comprende: IM-001 en una relación molar del 40 %; DMG-PEG2000 en una relación molar del 1.5 %; colesterol en una relación molar del 28.5 %; y DOPE en una relación molar del 30 %. En el presente documento esta formulación de LNP se denomina "Lípido F".

En determinadas realizaciones, la LNP comprende: IS-001 en una relación molar del 40 %; DMG-PEG2000 en una relación molar del 1.5 %; colesterol en una relación molar del 28.5 %; y DOPE en una relación molar del 30 %. En el presente documento esta formulación de LNP se denomina "Lípido G".

En determinadas realizaciones, la LNP comprende: 8-[(2-hidroxietil)[6-oxo-6-(undeciloxi)hexil]amino]octanoato de 9-heptadecanilo (SM-102) en una relación molar del 50 %; 1,2-diestearoil-*sn*-glicerol-3-fosfolina (DSPC) (DSPC) en una relación molar del 10 %; colesterol en una relación molar del 38.5 %; y 1,2-dimiristoil-*rac*-glicerol-3-metoxipoli(etilenglicol)-2000 (DMG-PEG2000) en una relación molar del 1.5 %.

En determinadas realizaciones, la LNP comprende: bis(2-hexildecanoato) de (4-hidroxibutil)azanodiil]di(hexano-6,1-diilo) (ALC-0315) en una relación molar del 46.3 %; 1,2-diestearoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (DSPC) en una relación molar del 9.4 %; colesterol en una relación molar del 42.7 %; y 2-[(polietilenglicol)-2000]-*N,N*-ditetradecilacetamida (ALC-0159) en una relación molar del 1.6 %.

En determinadas realizaciones, la LNP comprende: bis(2-hexildecanoato) de (4-hidroxibutil)azanodiil]di(hexano-6,1-diilo) (ALC-0315) en una relación molar del 47.4 %; 1,2-diestearoil-*sn*-glicero-3-fosfocolina (DSPC) en una relación molar del 10 %; colesterol en una relación molar del 40.9 %; y 2-[(polietilenglicol)-2000]-*N,N*-ditetradecilacetamida (ALC-0159) en una relación molar del 1.7 %.

Para calcular la cantidad exacta de cada lípido que se ha de emplear en una formulación de LNP, se determina primero la cantidad molar del lípido catiónico en función de una relación N/P deseada, donde N es el número de átomos de nitrógeno en el lípido catiónico y P es el número de grupos fosfato en el ARNm que la LNP ha de transportar. A continuación, se calcula la cantidad molar de cada uno de los otros lípidos en función de la cantidad molar del lípido catiónico y la relación molar seleccionada. Estas cantidades molares se convierten después en pesos utilizando el peso molecular de cada lípido.

F. Ácidos nucleicos dentro de las LNP

Las composiciones de LNP descritas en el presente documento pueden comprender un ácido nucleico (p. ej., un ARNm) de la presente invención.

Cuando se desee, la LNP puede ser multivalente. En algunas realizaciones, la LNP puede portar ácidos nucleicos, tales como ARNm, que codifican más de un polipéptido (antígeno), tal como dos, tres, cuatro, cinco o seis polipéptidos (antígenos). Por ejemplo, la LNP puede portar varios ácidos nucleicos de la presente invención (p. ej., ARNm), codificando cada uno de ellos un polipéptido descrito en la presente invención diferente; o portar un ARNm policistrónico que puede traducirse en más de un polipéptido descrito en el presente documento (p. ej., cada secuencia codificante de antígeno está separada por un conector nucleotídico que codifica un péptido autoescindible, tal como un péptido 2A). Una LNP que porta

diferentes ácidos nucleicos (p. ej., ARNm) normalmente comprende (encapsula) varias copias de cada ácido nucleico. Por ejemplo, una LNP que porta o encapsula dos ácidos nucleicos diferentes normalmente porta varias copias de cada uno de los dos ácidos nucleicos diferentes.

5 Normalmente, se coencapsulan en la misma LNP dos o más (p. ej., dos o tres) ácidos nucleicos (p. ej., ARNm) como se describen en el presente documento que codifican diferentes polipéptidos como se describen en el presente documento. Por ejemplo, las LNP descritas en el presente documento pueden coencapsular un ácido nucleico (p. ej., ARNm) que codifica un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes*
 10 quimérico y un ácido nucleico (p. ej., ARNm) que codifica un polipéptido P1TP de *C. acnes*. Las LNP descritas en el presente documento pueden coencapsular un ácido nucleico (p. ej., ARNm) que codifica un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico y un ácido nucleico (p. ej., ARNm) que codifica un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado (o un polipéptido CAMP2 de *C. acnes*). Las LNP descritas en
 15 el presente documento pueden coencapsular un ácido nucleico (p. ej., ARNm) que codifica un polipéptido P1TP de *C. acnes* y un ácido nucleico (p. ej., ARNm) que codifica un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado (o un polipéptido CAMP2 de *C. acnes*). Puede haber presentes dos ácidos nucleicos (p. ej., dos ARNm) cualesquiera como se describen en el presente documento en una relación en peso de 1:1.
 20

Las LNP descritas en el presente documento pueden coencapsular (i) un ácido nucleico (p. ej., ARNm) que codifica un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico como se describe en el presente documento, (ii) un ácido nucleico (p. ej., ARNm) que codifica un polipéptido P1TP de *C. acnes* como se describe en el
 25 presente documento; y (iii) un ácido nucleico (p. ej., ARNm) que codifica un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado como se describe en el presente documento (o un polipéptido CAMP2 de *C. acnes*). Puede haber presentes tres ácidos nucleicos (p. ej., tres ARNm) como se describen en el presente documento en una relación en peso de 1:1:1.

30 La LNP es como se describe en el presente documento (p. ej., Lípido D).

Como alternativa, se encapsulan dos o más (p. ej., tres) ácidos nucleicos (p. ej., ARNm) cualesquiera que codifican diferentes polipéptidos como se describen en el presente documento en LNP separadas. En algunas realizaciones, una única formulación de LNP puede comprender varios tipos (p. ej., dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez o más) de LNP, portando cada tipo un ácido nucleico (p. ej., ARNm) diferente.

Cuando el ácido nucleico es ARNm, el ARNm puede estar sin modificar (es decir, que contiene sólo los ribonucleótidos naturales A, U, C y/o G unidos por enlaces fosfodiéster) o estar modificado químicamente (p. ej., que incluye análogos de nucleótidos, tales como pseudouridinas (p. ej., N-1-metil pseudouridina), 2'-fluoro ribonucleótidos y 2'-metoxi ribonucleótidos y/o enlaces fosforotioato). La molécula de ARNm puede comprender una caperuza en 5' y una cola poliA.

G. Tampón y otros componentes

Para estabilizar el ácido nucleico y/o las LNP (p. ej., para prolongar la vida útil del producto vacunal), para facilitar la administración de la composición farmacéutica de LNP y/o para mejorar la expresión *in vivo* del ácido nucleico, el ácido nucleico y/o la LNP se pueden formular en combinación con uno o más portadores, ligandos de direccionamiento, reactivos estabilizantes (p. ej., conservantes y antioxidantes) y/u otros excipientes farmacéuticamente aceptables. Son ejemplos de tales excipientes los parabenos, timerosal, tiomersal, clorobutanol, cloruro de benzalconio y quelantes (p. ej., EDTA).

Las composiciones de LNP de la presente divulgación se pueden proporcionar como una forma líquida congelada o una forma liofilizada. Se pueden utilizar numerosos crioprotectores, que incluyen, sin limitaciones, sacarosa, trehalosa, glucosa, manitol, manosa, dextrosa y similares. El crioprotector puede constituir el 5-30 % (p/v) de la composición de LNP. En algunas realizaciones, la composición de LNP comprende trehalosa, p. ej., en una concentración del 5-30 % (p. ej., el 10 %) (p/v). Una vez formuladas con el crioprotector, las composiciones de LNP se pueden congelar (o liofilizar y crioconservar) a de -20 °C a -80 °C.

Las composiciones de LNP se pueden proporcionar a un paciente en una solución tamponada acuosa, descongeladas si se congelaron previamente o, si se liofilizaron previamente, reconstituidas en una solución tamponada acuosa a pie de cama. La solución tamponada es preferentemente isotónica y adecuada para, p. ej., la inyección intramuscular o intradérmica. En algunas realizaciones, la solución tamponada es una solución salina tamponada con fosfato (PBS).

Ácidos nucleicos

Un ácido nucleico de la invención puede ser ARN o ADN. Los ácidos nucleicos de la invención pueden ser monocatenarios o bicatenarios. En determinadas realizaciones, el ácido nucleico es ARN, p. ej., ARNm.

ARNm

En algunas realizaciones, los ácidos nucleicos de la presente invención son ARN mensajeros (ARNm). Los ARNm pueden estar modificados o no modificados. Los ARNm pueden contener una o más regiones codificantes y no codificantes. Una región codificante se denomina, como alternativa, marco de lectura abierto (ORF, por sus siglas en inglés). Las regiones no codificantes en un ARNm incluyen la caperuza en 5', la región no traducida (UTR) en 5', la UTR 3' y una cola poliA. Un ARNm puede purificarse a partir de fuentes naturales, producirse utilizando sistemas de expresión recombinantes (p. ej., transcripción *in vitro*) y, opcionalmente, purificarse o sintetizarse químicamente.

En determinadas realizaciones, el ARNm comprende un ORF que codifica un antígeno de interés. En determinadas realizaciones, el ARN (por ejemplo, ARNm) comprende además al menos una 5'UTR, una 3'UTR, una cola poli(A) y/o una caperuza en 5'. En algunas realizaciones, el ARNm comprende (i) una caperuza en 5' como se define en el presente documento; (ii) una región no traducida (UTR) en 5' como se define en el presente documento; (iii) una región codificante de proteínas; (iv) una 3'UTR como se define en el presente documento; y (v) una cola poliA. Normalmente, el extremo 3' de (i) se une directamente al extremo 5' de (ii) mediante un enlace fosfodiéster de 3' a 5'; el extremo 3' de (ii) se une directamente al extremo 5' de (iii) mediante un enlace fosfodiéster de 3' a 5'; el extremo 3' de (iii) se une

directamente al extremo 5' de (iv) mediante un enlace fosfodiéster de 3' a 5'; y el extremo 3' de (iv) se une directamente al extremo 5' de (v) mediante un enlace fosfodiéster de 3' a 5'.

En determinadas realizaciones, el ARNm comprende al menos uno, al menos dos, al menos tres o más codones de parada, en donde el codón o codones de parada se pueden seleccionar de UAA, UGA y UAG, y en donde los al menos dos, al menos tres o más codones de parada pueden ser idénticos o diferentes. Normalmente, el al menos un codón de parada comprende UAA o UGA (p. ej., UAA). Normalmente, los al menos dos codones de parada comprenden al menos dos codones de parada idénticos, tales como UAA o UGA (p. ej., UAAUAA o UGAUGA) o al menos dos codones de parada diferentes, que pueden seleccionarse en particular de UAA y UGA (p. ej., UGAUAA). Normalmente, los al menos tres codones de parada comprenden UAA, UGA y UAG (p. ej., UGAUAAUAG).

Una secuencia de ARNm se presenta en la dirección 5' a 3' a menos que se indique de otro modo.

Caperuza en 5'

Una caperuza en 5' en el ARNm puede proporcionar resistencia a las nucleasas que se encuentran en la mayoría de las células eucariotas y promover la eficacia de la traducción. Se conocen varios tipos de caperuzas en 5'. Una caperuza de 7-metilguanosina (también denominada "m7G" o "Cap-0") comprende una guanosina que se une a través de un enlace 5' – 5'-trifosfato al primer nucleótido transcrito.

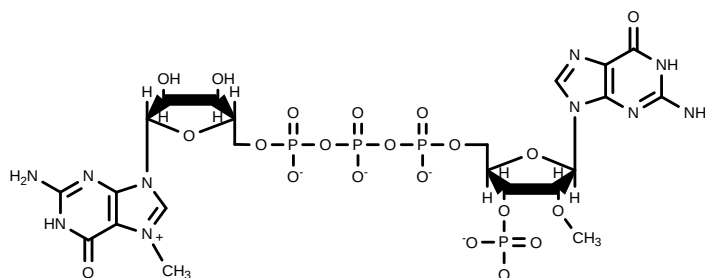
Normalmente, se añade una caperuza en el extremo 5' de la siguiente manera: primero, una fosfatasa terminal de ARN elimina uno de los grupos fosfato terminales del nucleótido en 5', dejando dos fosfatos terminales; después se añade guanosín trifosfato (GTP) a los fosfatos terminales a través de una guanilil transferasa, lo que produce un enlace trifosfato 5'5'5'; y después, una metiltransferasa metila el nitrógeno 7 de la guanina. Ejemplos de estructuras de caperuza incluyen, pero sin limitación, m7G(5')ppp (5'(A,G(5')ppp(5')A y G(5')ppp(5')G. Se describen estructuras de caperuza adicionales en las

publicaciones de EE. UU. N.º US 2016/0032356 y US2018/0125989, que se incorporan en el presente documento por referencia.

La adición de la caperuza en 5' de los polinucleótidos puede completarse de forma simultánea durante la reacción de transcripción *in vitro* utilizando los siguientes análogos químicos de la caperuza de ARN para generar la estructura de caperuza en 5' de guanosina de acuerdo con los protocolos del fabricante: 3'-O-Me-m7G(5')ppp(5')G (la caperuza ARCA); G(5')ppp(5')A; G(5')ppp(5')G; m7G(5')ppp(5')A; m7G(5')ppp(5')G; m7G(5')ppp(5')(2'oMeA)pG; m7G(5')ppp(5')(2'oMeA)pU; m7G(5')ppp(5')(2'oMeG)pG (New England BioLabs, Ipswich, MA; TriLink Biotechnologies). La protección en 5' del ARN modificado se puede completar postranscripcionalmente con una enzima bloqueadora del virus de la variolovacuna para generar la estructura Cap 0: m7G(5')ppp(5')G. La estructura Cap 1 se puede generar tanto con la enzima de protección del virus de la variolovacuna como con una 2'-O metiltransferasa para generar: m7G(5')ppp(5')G-2'-O-metilo. La estructura Cap 2 se puede generar a partir de la estructura Cap 1 seguida de la 2'-O-metilación del antepenúltimo nucleótido en 5' utilizando una 2'-O metiltransferasa. La estructura Cap 3 se puede generar a partir de la estructura Cap 2 seguida de la 2'-O-metilación del preantepenúltimo nucleótido en 5' utilizando una 2'-O metiltransferasa.

En determinadas realizaciones, el ARNm de la divulgación comprende una caperuza en 5' seleccionada del grupo que consiste en 3'-O-Me-m7G(5')ppp(5')G (la caperuza ARCA), G(5')ppp(5')A, G(5')ppp(5')G, m7G(5')ppp(5')A, m7G(5')ppp(5')G, m7G(5')ppp(5')(2'OMeA)pG, m7G(5')ppp(5')(2'OMeA)pU y m7G(5')ppp(5')(2'OMeG)pG.

En determinadas realizaciones, el ARNm de la divulgación comprende una caperuza en 5' de:



Región no traducida (UTR)

En algunas realizaciones, el ARNm de la invención incluye una región no traducida (UTR) en 5' y/o en 3'. En el ARNm, la 5'UTR comienza en el sitio de inicio de la transcripción y continúa hasta el codón de inicio, pero no incluye el codón de inicio. La UTR en 3' comienza inmediatamente después del codón de parada y continúa hasta la señal de terminación de la transcripción.

En algunas realizaciones, el ARNm divulgado en el presente documento puede comprender una UTR en 5' que incluye uno o más elementos que afectan a la estabilidad o traducción de un ARNm. En algunas realizaciones, una UTR en 5' puede tener una longitud de aproximadamente 10 a 5,000 nucleótidos. En algunas realizaciones, una UTR en 5' puede tener una longitud de aproximadamente 50 a 500 nucleótidos. En algunas realizaciones, la UTR 5' tiene al menos aproximadamente 10 nucleótidos de longitud, aproximadamente 20 nucleótidos de longitud, aproximadamente 30 nucleótidos de longitud, aproximadamente 40 nucleótidos de longitud, aproximadamente 50 nucleótidos de longitud, aproximadamente 100 nucleótidos de longitud, aproximadamente 150 nucleótidos de longitud, aproximadamente 200 nucleótidos de longitud, aproximadamente 250 nucleótidos de longitud, aproximadamente 300 nucleótidos de longitud, aproximadamente 350 nucleótidos de longitud, aproximadamente 400 nucleótidos de longitud, aproximadamente 450 nucleótidos de longitud, aproximadamente 500 nucleótidos de longitud, aproximadamente 550 nucleótidos de longitud, aproximadamente 600 nucleótidos de longitud, aproximadamente 650 nucleótidos de longitud, aproximadamente 700 nucleótidos de longitud, aproximadamente 750 nucleótidos de longitud, aproximadamente 800 nucleótidos de longitud,

aproximadamente 850 nucleótidos de longitud, aproximadamente 900 nucleótidos de longitud, aproximadamente 950 nucleótidos de longitud, aproximadamente 1,000 nucleótidos de longitud, aproximadamente 1,500 nucleótidos de longitud, aproximadamente 2,000 nucleótidos de longitud, aproximadamente 2,500 nucleótidos de longitud, aproximadamente 3,000 nucleótidos de longitud, aproximadamente 3,500 nucleótidos de longitud, aproximadamente 4,000 nucleótidos de longitud, aproximadamente 4,500 nucleótidos de longitud o aproximadamente 5,000 nucleótidos en longitud.

En algunas realizaciones, el ARNm divulgado en el presente documento puede comprender una 3'UTR que comprende una o más de una señal de poliadenilación, un sitio de unión para proteínas que afectan la estabilidad de la ubicación del ARNm en una célula, o uno o más sitios de unión para miARN. En algunas realizaciones, una UTR en 3' puede tener una longitud de 50 a 5,000 nucleótidos o más. En algunas realizaciones, una UTR en 3' puede tener una longitud de 50 a 1,000 nucleótidos o más. En algunas realizaciones, la UTR en 3' tiene al menos aproximadamente 50 nucleótidos de longitud, aproximadamente 100 nucleótidos de longitud, aproximadamente 150 nucleótidos de longitud, aproximadamente 200 nucleótidos de longitud, aproximadamente 250 nucleótidos de longitud, aproximadamente 300 nucleótidos de longitud, aproximadamente 350 nucleótidos de longitud, aproximadamente 400 nucleótidos de longitud, aproximadamente 450 nucleótidos de longitud, aproximadamente 500 nucleótidos de longitud, aproximadamente 550 nucleótidos de longitud, aproximadamente 600 nucleótidos de longitud, aproximadamente 650 nucleótidos de longitud, aproximadamente 700 nucleótidos de longitud, aproximadamente 750 nucleótidos de longitud, aproximadamente 800 nucleótidos de longitud, aproximadamente 850 nucleótidos de longitud, aproximadamente 900 nucleótidos de longitud, aproximadamente 950 nucleótidos de longitud, aproximadamente 1,000 nucleótidos de longitud, aproximadamente 1,500 nucleótidos de longitud, aproximadamente 2,000 nucleótidos de longitud, aproximadamente 2,500 nucleótidos de longitud, aproximadamente 3,000 nucleótidos de longitud, aproximadamente 3,500

nucleótidos de longitud, aproximadamente 4,000 nucleótidos de longitud, aproximadamente 4,500 nucleótidos de longitud o aproximadamente 5,000 nucleótidos de longitud.

En algunas realizaciones, el ARNm divulgado en el presente documento puede comprender una UTR en 5' o en 3' que procede de un gen distinto del codificado por el transcrito de ARNm (es decir, la UTR es una UTR heteróloga).

En determinadas realizaciones, las secuencias de UTR en 5' y/o en 3' pueden proceder de ARNm que son estables (p. ej., globina, actina, GAPDH, tubulina, histona o enzimas del ciclo del ácido cítrico) para aumentar la estabilidad del ARNm.

Por ejemplo, una secuencia de UTR en 5' puede incluir una secuencia parcial de un gen 1 temprano inmediato (IE1) de CMV, o un fragmento del mismo, para mejorar la resistencia a nucleasas y/o mejorar la semivida del ARNm. También se contempla la inclusión de una secuencia que codifica la hormona del crecimiento humano (hGH), o un fragmento de la misma, en el extremo 3' o región no traducida del ARNm. Por lo general, estas modificaciones mejoran la estabilidad y/o las propiedades farmacocinéticas (p. ej., la semivida) del ARNm en comparación con sus homólogos no modificados, e incluyen, por ejemplo, modificaciones realizadas para mejorar tal resistencia del ARNm a la digestión con nucleasas *in vivo*.

Las UTR en 5' ilustrativas incluyen una secuencia procedente de un gen 1 temprano inmediato (IE1) de CMV (Publicaciones de los EE. UU. n.º 2014/0206753 y 2015/0157565, cada una de las cuales se incorpora en el presente documento como referencia), o la secuencia GGGAUCCUACC (SEQ ID NO: 264) (Publicación de los EE. UU. N.º 2016/0151409, incorporada al presente documento por referencia).

En diversas realizaciones, la UTR en 5' puede proceder de la UTR en 5' de un gen TOP. Los genes TOP se caracterizan normalmente por la presencia de un cordón de oligopirimidina 5'-terminal (TOP). Además, la mayoría de los genes TOP se caracterizan por una regulación traduccional asociada al crecimiento. Sin embargo, también se conocen genes TOP con una regulación traduccional específica del tejido. En determinadas realizaciones, la UTR en 5' que procede de

la UTR en 5' de un gen TOP carece del motivo TOP en 5' (el cordón de oligopirimidina) (p. ej., publicaciones de los EE. UU. n.º 2017/0029847, 2016/0304883, 2016/0235864 y 2016/0166710, cada una de las cuales se incorpora en el presente documento como referencia).

5 En determinadas realizaciones, la UTR 5' deriva de un gen de la proteína ribosómica Grande 32 (L32) (Publicación de los EE.UU. N.º 2017/0029847, citada anteriormente).

En determinadas realizaciones, la UTR 5' deriva de la UTR 5' de un gen de la hidroxisteroide (17-b) deshidrogenasa 4 (HSD17B4) (Publicación de los EE. UU. N.º 2016/0166710, citada anteriormente).

En determinadas realizaciones, la UTR 5' deriva de la UTR 5' de un gen ATP5A1 (Publicación de los EE. UU. N.º 2016/0166710, citada anteriormente).

En algunas realizaciones, se utiliza un sitio de entrada al ribosoma interno (IRES) en lugar de una 5'UTR.

15 En algunas realizaciones, la UTR 5' comprende una secuencia de ácido nucleico expuesta en la SEQ ID NO: 265 y reproducida a continuación:

GGACAGAUCGCCUGGAGACGCCAUCCACGCUGUUUUGACCUCCAUA
GAAGACACCGGGACCGAUCCAGCCUCCGCGGCCGGGAACGGUGCAUUGGA
ACGCGGAUUCCTCCGUGCCAAGAGUGACUCACCGUCCUUGACACG (SEQ ID
20 NO: 265).

En algunas realizaciones, la 3'UTR comprende una secuencia de ácido nucleico expuesta en la SEQ ID NO: 266 y reproducida a continuación:

CGGGUGGCAUCCCUGUGACCCCUCCCCAGUGCCUCUCCUGGCCUG
GAAGUUGCCACUCCAGUGCCCACCGAGCCUUGUCCUAAUAAAAUUAAGUUGC
25 AUC (SEQ ID NO: 266).

La 5'UTR y la 3'UTR se describen con más detalle en el documento WO2012/075040, incorporado en el presente documento como referencia.

Cola poliadenilada

30 Como se utilizan en el presente documento, las expresiones "secuencia de poli(A)", "cola de poli(A)" y "región de poli(A)" se refieren a una secuencia de

nucleótidos de adenosina en el extremo 3' de la molécula de ARNm. La cola de poli(A) puede conferir estabilidad al ARNm y protegerlo frente a la degradación por exonucleasas. La cola de poli(A) puede mejorar la traducción. En algunas realizaciones, la cola de poli(A) es esencialmente homopolimérica. Por ejemplo, una cola de poli(A) de 100 nucleótidos de adenosina puede tener esencialmente una longitud de 100 nucleótidos. En determinadas realizaciones, la cola de poli(A) puede estar interrumpida por al menos un nucleótido diferente de un nucleótido de adenosina (p. ej., un nucleótido que no es un nucleótido de adenosina). Por ejemplo, una cola de poli(A) de 100 nucleótidos de adenosina puede tener una longitud de más de 100 nucleótidos (que comprende 100 nucleótidos de adenosina y al menos un nucleótido, o un tramo de nucleótidos, que son diferentes de un nucleótido de adenosina). En determinadas realizaciones, la cola poli(A) comprende la secuencia
 AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCAUAUGACUAAAAAAAAAAAAAAAA
 AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
 A (SEQ ID NO: 267).

La "cola de poli(A)", como se utiliza en el presente documento, normalmente se refiere a ARN. Sin embargo, en el contexto de la divulgación, la expresión también se refiere a secuencias correspondientes en una molécula de ADN (p. ej., una "secuencia de poli(T)").

La cola de poli(A) puede comprender de aproximadamente 10 a aproximadamente 500 nucleótidos de adenosina, de aproximadamente 10 a aproximadamente 200 nucleótidos de adenosina, de aproximadamente 40 a aproximadamente 200 nucleótidos de adenosina o de aproximadamente 40 a aproximadamente 150 nucleótidos de adenosina. La longitud de la cola de poli(A) puede tener al menos aproximadamente 10, 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 o 500 nucleótidos de adenosina. En algunas realizaciones, la cola poliA comprende al menos 75 nucleótidos (por ejemplo, aproximadamente 80 nucleótidos de adenosina). En algunas realizaciones, la cola poliA comprende al menos 100 nucleótidos de adenosina (por ejemplo, aproximadamente 115 nucleótidos de

adenosina). Normalmente, la cola de poliA comprende al menos 100 nucleótidos de adenosina.

En algunas realizaciones en las que el ácido nucleico es un ARN, la cola de poli(A) del ácido nucleico se obtiene a partir de un molde de ADN durante la transcripción del ARN *in vitro*. En determinadas realizaciones, la cola de poli(A) se obtiene *in vitro* mediante métodos comunes de síntesis química sin transcribirse a partir de un molde de ADN. En diversas realizaciones, las colas de poli(A) se generan mediante poliadenilación enzimática del ARN (después de la transcripción del ARN *in vitro*) utilizando kits de poliadenilación comercializados y los protocolos correspondientes o, como alternativa, utilizando poli(A)polimerasas inmovilizadas, p. ej., mediante métodos y medios como los que se describen en el documento WO2016/174271.

El ácido nucleico puede comprender una cola de poli(A) obtenida mediante poliadenilación enzimática, en donde la mayoría de las moléculas de ácido nucleico comprenden de aproximadamente 100 (+/-20) a aproximadamente 500 (+/-50) o aproximadamente 250 (+/-20) nucleótidos de adenosina.

En algunas realizaciones, el ácido nucleico puede comprender una cola de poli(A) que proviene de un molde de ADN y puede comprender adicionalmente al menos una cola de poli(A) adicional generada mediante poliadenilación enzimática, p. ej., como se describe en el documento WO2016/091391.

En determinadas realizaciones, el ácido nucleico comprende al menos una señal de poliadenilación.

En diversas realizaciones, el ácido nucleico puede comprender al menos una secuencia de poli(C).

La expresión "secuencia de poli(C)", tal como se utiliza en el presente documento, pretende ser una secuencia de nucleótidos de citosina de hasta aproximadamente 200 nucleótidos de citosina. En algunas realizaciones, la secuencia de poli(C) comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 200 nucleótidos de citosina, de aproximadamente 10 a aproximadamente 100 nucleótidos de citosina, de aproximadamente 20 a aproximadamente 70 nucleótidos

de citosina, de aproximadamente 20 a aproximadamente 60 nucleótidos de citosina o de aproximadamente 10 a aproximadamente 40 nucleótidos de citosina. En algunas realizaciones, la secuencia de poli(C) comprende aproximadamente 30 nucleótidos de citosina.

5 **Modificación química**

El ARNm divulgado en el presente documento puede estar modificado o no modificado. En algunas realizaciones, el ARNm puede comprender al menos una modificación química. En algunas realizaciones, el ARNm divulgado en el presente documento puede contener una o más modificaciones que normalmente mejoran la

10 estabilidad del ARN. Las modificaciones a modo de ejemplo pueden incluir modificaciones de la estructura principal, modificaciones de azúcar o modificaciones de base. En algunas realizaciones, el ARNm divulgado puede sintetizarse a partir de nucleótidos de origen natural y/o análogos de nucleótidos (nucleótidos

15 modificados) que incluyen, pero no se limitan a, purinas (adenina (A) y guanina (G)) o pirimidinas (timina (T), citosina (C) y uracilo (U)). En determinadas realizaciones, el ARNm divulgado se puede sintetizar a partir de análogos de nucleótidos modificados o derivados de purinas y pirimidinas, tales como, por ejemplo, 1-metil-

20 adenina, 2-metil-adenina, 2-metiltio-N-6-isopentenil-adenina, N6-metil-adenina, N6-isopentenil-adenina, 2-tio-citosina, 3-metil-citosina, 4-acetil-citosina, 5-metil-citosina, 2,6-diaminopurina, 1-metil-guanina, 2-metil-guanina, 2,2-dimetil-guanina, 7-metil-guanina, inosina, 1-metil-inosina, pseudouracilo (5-uracilo), dihidrouracilo, 2-

25 tio-uracilo, 4-tio-uracilo, 5-carboximetilaminometil-2-tio-uracilo, 5-(carboxihidroximetil)-uracilo, 5-fluoro-uracilo, 5-bromo-uracilo, 5-carboximetilaminometil-uracilo, 5-metil-2-tio-uracilo, 5-metil-uracilo, éster metílico del ácido N-uracil-5-oxiacético, 5-metilaminometil-uracilo, 5-metoxiaminometil-2-tio-

uracilo, 5'-metoxycarbonilmetil-uracilo, 5-metoxi-uracilo, éster metílico del ácido uracil-5-oxiacético, ácido uracil-5-oxiacético (ν), 1-metil-pseudouracilo, queosina, β -D-manosil-queosina, fosforamidatos, fosfortioatos, nucleótidos peptídicos, metilfosfonatos, 7-desazaguanosina, 5-metilcitosina e inosina.

En algunas realizaciones, el ARNm divulgado puede comprender al menos una modificación química que incluye, pero sin limitación, pseudouridina, N1-metilpseudouridina, 2-tiouridina, 4'-tiouridina, 5-metilcitosina, 2-tio-1-metil-1-deaza-pseudouridina, 2-tio-1-metil-pseudouridina, 2-tio-5-aza-uridina, 2-tio-5

dihidropseudouridina, 2-tio-dihidrouridina, 2-tio-pseudouridina, 4-metoxi-2-tio-pseudouridina, 4-metoxi-pseudouridina, 4-tio-1-metil-pseudouridina, 4-tio-pseudouridina, 5-aza-uridina, dihidropseudouridina, 5-metiluridina, 5-metiluridina, 5-metoxiuridina y 2'-O-metiluridina.

En algunas realizaciones, la modificación química se selecciona del grupo que consiste en pseudouridina, N1-metilpseudouridina, 5-metilcitosina, 5-metoxiuridina y una combinación de estas.

En algunas realizaciones, la modificación química comprende N1-metilpseudouridina. Normalmente, la modificación química comprende N1-metilpseudouridina en lugar de cada uridina, es decir, el 100 % de los residuos de U son N1-metilpseudouridina.

En algunas realizaciones, al menos el 20 %, al menos el 30 %, al menos el 40 %, al menos el 50 %, al menos el 60 %, al menos el 70 %, al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el 90 %, al menos el 95% o el 100 % de los nucleótidos de uracilo en el ARNm están modificados químicamente.

En algunas realizaciones, al menos el 20 %, al menos el 30 %, al menos el 40 %, al menos el 50 %, al menos el 60 %, al menos el 70 %, al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el 90 %, al menos el 95% o el 100% de los nucleótidos de uracilo en el ORF están modificados químicamente.

La preparación de tales análogos se describe, p. ej., en la Patente de los EE. UU. N.º 4 373 071, Patente de los EE. UU. N.º 4 401 796, Patente de los EE. UU. N.º 4 415 732, Patente de los EE. UU. N.º 4 458 066, Patente de los EE. UU. N.º 4 500 707, Patente de los EE. UU. N.º 4 668 777, Patente de los EE. UU. N.º 4 973 679, Patente de los EE. UU. N.º 5 047 524, Patente de los EE. UU. N.º 5 132 418, Patente de los EE. UU. N.º 5 153 319, Patente de los EE. UU. N.º 5 262 530 y Patente de los EE. UU. N.º 5 700 642.

Síntesis de ARNm

Los ARNm divulgados en el presente documento pueden sintetizarse de acuerdo con cualquiera de diversidad de métodos. Por ejemplo, los ARNm de acuerdo con la presente divulgación pueden sintetizarse a través de transcripción *in vitro* (IVT, por sus siglas en inglés). Algunos métodos para la transcripción *in vitro* se describen, p. ej., en Geall *et al.* (2013) *Semin. Immunol.* 25(2): 152-159; Brunelle *et al.* (2013) *Methods Enzymol.* 530:101-14. Resumiendo, la IVT se realiza normalmente con un molde de ADN lineal o circular que contiene un promotor, una mezcla de trifosfatos de ribonucleótido, un sistema de tampón que puede incluir DTT e iones de magnesio, un inhibidor apropiado de ARN·polimerasa (p. ej., ARN·polimerasa de T3, T7 o SP6), desoxirribonucleasa I, pirofosfatasa y/o ribonucleasa. Las condiciones exactas pueden variar según la aplicación específica. La presencia de estos reactivos es generalmente indeseable en un producto de ARNm final y estos reactivos pueden considerarse impurezas o contaminantes que pueden purificarse o eliminarse para proporcionar un ARNm limpio y/u homogéneo que sea adecuado para el uso terapéutico. Si bien el ARNm proporcionado a partir de reacciones de transcripción *in vitro* puede ser deseable en algunas realizaciones, se pueden utilizar otras fuentes de ARNm de acuerdo con la presente divulgación, que incluyen ARNm natural producido a partir de bacterias, hongos, plantas y/o animales.

Procesos para preparar las vacunas de LNP del presente documento

Las LNP del presente documento se pueden preparar mediante diversas técnicas conocidas actualmente en la materia. Por ejemplo, pueden prepararse vesículas multilaminares (VML) de acuerdo con técnicas convencionales, tales como depositar un lípido seleccionado en la pared interior de un recipiente o envase adecuado disolviendo el lípido en un disolvente apropiado y después evaporando el disolvente para dejar una película fina en el interior del envase o secando mediante pulverización. Después, puede añadirse una fase acuosa al recipiente con un movimiento vorticial que da como resultado la formación de las VML. A continuación, pueden formarse vesículas unilaminares (VUL) mediante homogeneización,

sonicación o extrusión de las vesículas multilaminares. Además, las vesículas unilaminares pueden formarse mediante técnicas de eliminación de detergente.

Se describen varios métodos en los documentos US 2011/0244026, US 2016/0038432, US 2018/0153822, US 2018/0125989 y PCT/US2020/043223 (presentada el 23 de julio de 2020), y pueden utilizarse para poner en práctica la presente divulgación. Un proceso a modo de ejemplo implica encapsular ARNm mezclándolo con una mezcla de lípidos, sin preformar los lípidos en nanopartículas lipídicas, como se describe en el documento US 2016/0038432. Otro proceso a modo de ejemplo implica encapsular ARNm mezclando las LNP preformadas con ARNm, como se describe en el documento US 2018/0153822.

En algunas realizaciones, el proceso de preparación de LNP cargadas con ARNm incluye un paso de calentar una o más de las soluciones hasta una temperatura superior a la temperatura ambiente, siendo la una o más soluciones la solución que comprende las nanopartículas lipídicas preformadas, la solución que comprende el ARNm y la solución mezclada que comprende el ARNm encapsulado en LNP. En algunas realizaciones, el proceso incluye el paso de calentar una o ambas de la solución de ARNm y la solución de las LNP preformadas, antes del paso de mezclado. En algunas realizaciones, el proceso incluye calentar una o más de las soluciones que comprenden las LNP preformadas, la solución que comprende el ARNm y la solución que comprende el ARNm encapsulado en LNP, durante el paso de mezclado. En algunas realizaciones, el proceso incluye el paso de calentar el ARNm encapsulado en LNP, después del paso de mezclado. En algunas realizaciones, la temperatura hasta la que se calienta una o más de las soluciones es mayor o igual a aproximadamente 30 °C, 37 °C, 40 °C, 45 °C, 50 °C, 55 °C, 60 °C, 65 °C o 70 °C. En algunas realizaciones, la temperatura a la que se calienta una o más de las soluciones varía de aproximadamente 25-70 °C, aproximadamente 30-70 °C, aproximadamente 35-70 °C, aproximadamente 40-70 °C, aproximadamente 45-70 °C, aproximadamente 50-70 °C o aproximadamente 60-70 °C. En algunas realizaciones, la temperatura es de aproximadamente 65 °C.

Para preparar una solución de ARNm adecuada para la presente divulgación, pueden utilizarse varios métodos. En algunas realizaciones, el ARNm puede disolverse directamente en una solución tampón descrita en el presente documento. En algunas realizaciones, una solución de ARNm puede generarse mezclando una solución madre de ARNm con una solución tampón antes de mezclarla con una solución de lípidos para la encapsulación. En algunas realizaciones, una solución de ARNm puede generarse mezclando una solución madre de ARNm con una solución tampón justo antes de mezclarla con una solución de lípidos para la encapsulación. En algunas realizaciones, una solución madre de ARNm adecuada puede contener ARNm en agua o un tampón en una concentración mayor o igual a aproximadamente 0.2 mg/ml, 0.4 mg/ml, 0.5 mg/ml, 0.6 mg/ml, 0.8 mg/ml, 1.0 mg/ml, 1.2 mg/ml, 1.4 mg/ml, 1.5 mg/ml, 1.6 mg/ml, 2.0 mg/ml, 2.5 mg/ml, 3.0 mg/ml, 3.5 mg/ml, 4.0 mg/ml, 4.5 mg/ml o 5.0 mg/ml.

En algunas realizaciones, una solución madre de ARNm se mezcla con una solución tampón utilizando una bomba. Las bombas a modo de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, bombas de engranaje, bombas peristálticas y bombas centrífugas. Normalmente, la solución tampón se mezcla en una tasa mayor que la de la solución madre de ARNm. Por ejemplo, la solución tampón puede mezclarse en una tasa que es al menos 1x, 2x, 3x, 4x, 5x, 6x, 7x, 8x, 9x, 10x, 15x o 20x superior a la tasa de la solución madre de ARNm. En algunas realizaciones, una solución tampón se mezcla en una tasa de flujo que varía entre aproximadamente 100-6000 ml/minuto (p. ej., aproximadamente 100-300 ml/minuto, 300-600 ml/minuto, 600-1200 ml/minuto, 1200-2400 ml/minuto, 2400-3600 ml/minuto, 3600-4800 ml/minuto, 4800-6000 ml/minuto o 60-420 ml/minuto). En algunas realizaciones, una solución tampón se mezcla en una tasa de flujo mayor o igual a aproximadamente 60 ml/minuto, 100 ml/minuto, 140 ml/minuto, 180 ml/minuto, 220 ml/minuto, 260 ml/minuto, 300 ml o más. /minuto, 340 ml/minuto, 380 ml/minuto, 420 ml/minuto, 480 ml/minuto, 540 ml/minuto, 600 ml/minuto, 1200 ml/minuto, 2400 ml/minuto, 3600 ml/minuto, 4800 ml /minuto o 6000 ml/minuto.

En algunas realizaciones, una solución madre de ARNm se mezcla en una tasa de flujo que varía entre aproximadamente 10-600 ml/minuto (p. ej., aproximadamente 5-50 ml/minuto, aproximadamente 10-30 ml/minuto, aproximadamente 30-60 ml/minuto, aproximadamente 60-120 ml/minuto, aproximadamente 120-240 ml/minuto, aproximadamente 240-360 ml/minuto, aproximadamente 360-480 ml/minuto o aproximadamente 480-600 ml/minuto). En algunas realizaciones, una solución madre de ARNm se mezcla en una tasa de flujo mayor o igual a aproximadamente 5 ml/minuto, 10 ml/minuto, 15 ml/minuto, 20 ml/minuto, 25 ml/minuto, 30 ml/minuto, 35 ml/minuto o superior 40 ml/minuto, 45 ml/minuto, 50 ml/minuto, 60 ml/minuto, 80 ml/minuto, 100 ml/minuto, 200 ml/minuto, 300 ml/minuto, 400 ml/minuto, 500 ml/minuto o 600 ml/minuto.

El proceso de incorporación de un ARNm deseado en una nanopartícula lipídica se denomina "carga". Se describen métodos a modo de ejemplo en Lasic *et al.*, *FEBS Lett.* (1992) 312:255-8. Los ácidos nucleicos incorporados en LNP pueden estar total o parcialmente ubicados en el espacio interior de la nanopartícula lipídica, dentro de la membrana bicapa de la nanopartícula lipídica o asociados a la superficie exterior de la membrana de la nanopartícula lipídica. La incorporación de un ARNm en nanopartículas lipídicas también se denomina en el presente documento "encapsulación", en donde el ácido nucleico está total o sustancialmente contenido en el espacio interior de la nanopartícula lipídica.

Las LNP adecuadas pueden fabricarse en varios tamaños. En algunas realizaciones, un tamaño reducido de las nanopartículas lipídicas se asocia con un suministro más eficaz del ARNm. La selección de un tamaño de LNP apropiado puede tener en cuenta el sitio de la célula o tejido diana y, en cierta medida, la aplicación para la que se fabrique la nanopartícula lipídica.

Se dispone de diversidad de métodos conocidos en la técnica para determinar el tamaño de una población de nanopartículas lipídicas. Los métodos preferidos en el presente documento utilizan Zetasizer Nano ZS (Malvern Panalytical) para medir el tamaño de partícula de las LNP. En un protocolo, se mezclan 10 µl de una muestra de LNP con 990 µl de trehalosa al 10 %. Esta

solución se carga en una cubeta y después se introduce en la máquina Zetasizer. El diámetro promedio z (nm), o la media de los cumulantes, se considera el tamaño promedio de las LNP en la muestra. El aparato Zetasizer también se puede utilizar para medir el índice de polidispersidad (PDI, por sus siglas en inglés) mediante el uso de dispersión dinámica de la luz (DLS, por sus siglas en inglés) y el análisis de cumulantes de la función de autocorrelación. El diámetro promedio de las LNP puede reducirse mediante sonicación de las LNP formadas. Los ciclos de sonicación intermitentes se pueden alternar con una evaluación de la dispersión de la luz cuasielástica (QEELS, por sus siglas en inglés) para guiar la síntesis eficaz de las nanopartículas lipídicas.

En algunas realizaciones, la LNP tiene un diámetro promedio de 30 nm a 200 nm (por ejemplo, un diámetro promedio de 80 nm a 150 nm).

En algunas realizaciones, la mayoría de las LNP purificadas, es decir, más de aproximadamente el 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de las LNP, tienen un tamaño de aproximadamente 70-150 nm (p. ej., aproximadamente 145 nm, aproximadamente 140 nm, aproximadamente 135 nm, aproximadamente 130 nm, aproximadamente 125 nm, aproximadamente 120 nm, aproximadamente 115 nm, aproximadamente 110 nm, aproximadamente 105 nm, aproximadamente 100 nm, aproximadamente 95 nm, aproximadamente 90 nm, aproximadamente 85 nm o aproximadamente 80 nm). En algunas realizaciones, sustancialmente todas (es decir, más del 80 o 90 % de) las nanopartículas lipídicas purificadas tienen un tamaño de aproximadamente 70-150 nm (p. ej., aproximadamente 145 nm, aproximadamente 140 nm, aproximadamente 135 nm, aproximadamente 130 nm, aproximadamente 125 nm, aproximadamente 120 nm, aproximadamente 115 nm, aproximadamente 110 nm, aproximadamente 105 nm, aproximadamente 100 nm, aproximadamente 95 nm, aproximadamente 90 nm, aproximadamente 85 nm o aproximadamente 80 nm).

En algunas realizaciones, las LNP de la composición del presente documento tienen un tamaño promedio inferior a 150 nm, inferior a 120 nm, inferior a 100 nm,

inferior a 90 nm, inferior a 80 nm, inferior a 70 nm, inferior a 60 nm, inferior a 50 nm, inferior a 30 nm o inferior a 20 nm.

En algunas realizaciones, más de aproximadamente el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de las LNP en la composición del presente documento tienen un tamaño que varía de aproximadamente 40-90 nm (p. ej., aproximadamente 45-85 nm, aproximadamente 50-80 nm, aproximadamente 55-75 nm, aproximadamente 60-70 nm) o aproximadamente 50-70 nm (p. ej., 55-65 nm) son particularmente adecuadas para el suministro pulmonar mediante nebulización.

En algunas realizaciones, la dispersión, o medida de la heterogeneidad del tamaño de las moléculas (PDI), de las LNP en una composición farmacéutica proporcionada por la presente divulgación, es inferior a aproximadamente 0.5. En algunas realizaciones, una LNP tiene un PDI inferior a aproximadamente 0.5, inferior a aproximadamente 0.4, inferior a aproximadamente 0.3, inferior a aproximadamente 0.28, inferior a aproximadamente 0.25, inferior a aproximadamente 0.23, inferior a aproximadamente 0.20, inferior a aproximadamente 0.18, inferior a aproximadamente 0.16, inferior a aproximadamente 0.14, inferior a aproximadamente 0.12, inferior a aproximadamente 0.10 o inferior a aproximadamente 0.08. El PDI puede medirse mediante un aparato Zetasizer como se ha descrito anteriormente.

En algunas realizaciones, más de aproximadamente el 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de las LNP purificadas en una composición farmacéutica proporcionada en el presente documento encapsulan un ARNm dentro de cada partícula individual. En algunas realizaciones, sustancialmente todas (p. ej., más del 80 % o 90 %) de las nanopartículas lipídicas purificadas en una composición farmacéutica encapsulan un ARNm dentro de cada partícula individual. En algunas realizaciones, una nanopartícula lipídica tiene una eficacia de encapsulación de entre el 50 % y el 99 %; o superior a aproximadamente el 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 92, 95, 98 o 99 %. Normalmente, las nanopartículas lipídicas para

el uso del presente documento tienen una eficacia de encapsulación de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91, 92, 93, 94 o 95 %).

En algunas realizaciones, una LNP tiene una relación N/P de entre 1 y 10. En algunas realizaciones, una nanopartícula lipídica tiene una relación N/P superior a 1, aproximadamente 1, aproximadamente 2, aproximadamente 3, aproximadamente 4, aproximadamente 5, aproximadamente 6, aproximadamente 7 o aproximadamente 8. En realizaciones adicionales, una LNP típica del presente documento tiene una relación N/P de 4.

En algunas realizaciones, una composición farmacéutica de acuerdo con la presente divulgación contiene al menos aproximadamente 0.5 µg, 1 µg, 5 µg, 10 µg, 100 µg, 500 µg o 1000 µg de ARNm encapsulado. En algunas realizaciones, una composición farmacéutica contiene de aproximadamente 0.1 µg a 1000 µg, al menos aproximadamente 0.5 µg, al menos aproximadamente 0.8 µg, al menos aproximadamente 1 µg, al menos aproximadamente 5 µg, al menos aproximadamente 8 µg, al menos aproximadamente 10 µg, al menos aproximadamente 50 µg, al menos aproximadamente 100 µg, al menos aproximadamente 500 µg o al menos aproximadamente 1000 µg de ARNm encapsulado.

En algunas realizaciones, el ARNm se puede producir mediante síntesis química o mediante transcripción *in vitro* (IVT) de un molde de ADN. En este proceso, en un proceso de IVT, se utiliza un molde de ADNc para producir un transcrito de ARNm y el molde de ADN se degrada con una desoxirribonucleasa. El transcrito se purifica mediante filtración profunda y filtración de flujo tangencial (TFF, por sus siglas en inglés). El transcrito purificado se modifica además mediante la adición de una caperuza y una cola, y el ARN modificado se purifica nuevamente mediante filtración profunda y TFF.

A continuación, el ARNm se prepara en un tampón acuoso y se mezcla con una solución anfifílica que contiene los componentes lipídicos de las LNP. Una solución anfifílica para disolver los cuatro componentes lipídicos de las LNP puede ser una solución de alcohol. En algunas realizaciones, el alcohol es etanol. El

tampón acuoso puede ser, por ejemplo, un tampón de citrato, fosfato, acetato o succinato y puede tener un pH de aproximadamente 3.0-7.0, p. ej., aproximadamente 3.5, aproximadamente 4.0, aproximadamente 4.5, aproximadamente 5.0, aproximadamente 5.5, aproximadamente 6.0 o aproximadamente 6.5. El tampón puede contener otros componentes tales como una sal (p. ej., sales de sodio, potasio y/o calcio). En realizaciones particulares, el tampón acuoso tiene citrato 1 mM, NaCl 150 mM, pH 4.5.

El proceso para preparar una composición que comprende LNP y ARNm implica mezclar una solución de ARNm tamponada con una solución de lípidos en etanol de forma homogénea y controlada, donde la relación de lípidos:ARNm se mantiene durante todo el proceso de mezclado. En este ejemplo ilustrativo, el ARNm se presenta en un tampón acuoso que contiene ácido cítrico monohidratado, citrato trisódico dihidratado y cloruro de sodio. La solución de ARNm se añade a la solución (tampón citrato 1 mM, NaCl 150 mM, pH 4.5). La mezcla lipídica de cuatro lípidos (p. ej., un lípido catiónico, un lípido PEGilado, un lípido de colesterol y un lípido auxiliar) se disuelve en etanol. La solución acuosa de ARNm y la solución lipídica en etanol se mezclan en una proporción en volumen de 4:1 en un mezclador "T" con un sistema de bomba casi "sin pulso". A continuación, la mezcla resultante se somete a purificación posterior e intercambio de tampón. El intercambio de tampón se puede lograr con casetes de diálisis o un sistema de TFF. La TFF se puede utilizar para concentrar y someter a intercambio de tampón la LNP naciente resultante justo después de su formación mediante el proceso de mezcla en T. El proceso de diafiltración es una operación continua, que mantiene el volumen constante mediante la adición del tampón apropiado en la misma tasa que el flujo de permeado.

Vectores

En un aspecto, en el presente documento se divulgan vectores que comprenden las composiciones de ARNm divulgadas en el presente documento. Las secuencias de ARN que codifican una proteína de interés (p. ej., ARNm que codifica un polipéptido divulgado en el presente documento) se pueden clonar en

diversos tipos de vectores. Por ejemplo, los ácidos nucleicos se pueden clonar en un vector que incluye, pero no se limita a, un plásmido, un fagémido, un derivado de fago, un virus de animal y un cósmido. Los vectores de interés particular pueden incluir vectores de expresión, vectores de replicación, vectores de generación de sondas, vectores de secuenciación y vectores optimizados para la transcripción *in vitro*.

En determinadas realizaciones, el vector se puede utilizar para expresar ARNm en una célula hospedadora. En diversas realizaciones, el vector se puede utilizar como molde para IVT. La construcción de ARNm mediante IVT traducido de manera óptima adecuado para el uso terapéutico se divulga en detalle en Sahin, *et al.* (2014). *Nat. Rev. Drug Discov.* 13, 759–780; Weissman (2015). *Expert Rev. Vaccines* 14, 265–281.

En algunas realizaciones, los vectores divulgados en el presente documento pueden comprender al menos lo siguiente, de 5' a 3': un promotor de ARN polimerasa; una secuencia de polinucleótidos que codifica una UTR en 5'; una secuencia de polinucleótidos que codifica un ORF; una secuencia de polinucleótidos que codifica una UTR en 3'; y una secuencia de polinucleótidos que codifica al menos un aptámero de ARN. En algunas realizaciones, los vectores divulgados en el presente documento pueden comprender una secuencia polinucleotídica que codifica una secuencia de poli(A) y/o una señal de poliadenilación.

Se conocen diversos promotores de ARN·polimerasa. En algunas realizaciones, el promotor puede ser un promotor de ARN·polimerasa T7. Otros promotores útiles pueden incluir, pero no se limitan a, promotores de ARN·polimerasa T3 y SP6. Se conocen secuencias de nucleótidos consenso para los promotores T7, T3 y SP6.

También se divulgan en el presente documento células hospedadoras (p. ej., células de mamífero, p. ej., células humanas) que comprenden los vectores o las composiciones de ARN que se divulgan en el presente documento. Una "célula hospedadora" incluye una célula individual o un cultivo celular que puede ser o ha sido un receptor de ácido nucleico exógeno. Las células hospedadoras incluyen la

progenie de una única célula hospedadora, y la progenie puede no ser necesariamente idéntica (en morfología o en complemento de ADN total) por completo a la célula madre original debido a una mutación y/o cambio natural, accidental o deliberado. Las células hospedadoras incluyen células transfectadas o infectadas *in vivo* o *in vitro* con un ácido nucleico o vector divulgado en el presente documento.

Los vectores se pueden introducir en células diana utilizando cualquiera de varios métodos diferentes, por ejemplo, métodos comercializados que incluyen, pero no se limitan a, electroporación (Amaza Nucleofector-II (Amaza Biosystems, Colonia, Alemania)), (ECM 830 (BTX) (Harvard Instruments, Boston, Mass.) o el Gene Pulser II (BioRad, Denver, Colorado), Multiporator (Eppendorf, Hamburgo, Alemania), transfección mediada por liposomas catiónicos mediante lipofección, encapsulación de polímeros, transfección mediada por péptidos, sistemas de suministro de partículas biolísticas tales como “cañones de genes” (véase, por ejemplo, Nishikawa, *et al.* (2001). *Hum Gene Ther.* 12(8):861-70) o el kit de transfección TransIT-RNA (Mirus, Madison, WI).

Los medios químicos para introducir un vector en una célula hospedadora incluyen sistemas de dispersión coloidal, tales como complejos macromoleculares, nanocápsulas, microesferas, perlas y sistemas lipídicos que incluyen emulsiones de aceite en agua, micelas, micelas mixtas y liposomas. Un sistema coloidal a modo de ejemplo para el uso como vehículo de suministro *in vitro* e *in vivo* es un liposoma (p. ej., una vesícula de membrana artificial).

Independientemente del método utilizado para introducir ácidos nucleicos exógenos en una célula hospedadora o exponer de otro modo una célula al inhibidor de la presente divulgación, se pueden realizar diversidad de ensayos para confirmar la presencia de la secuencia de ARNm en la célula hospedadora.

ARN autorreplicante, ARN transreplicante y ARN no replicante

Normalmente, las moléculas de ácido nucleico descritas en el presente documento son ARN no replicantes. Sin embargo, las moléculas de ácido nucleico

descritas en el presente documento pueden ser, como alternativa, ARN autorreplicantes o ARN transreplicantes.

ARN autorreplicante

El ARN autorreplicante (o autoamplificante) puede producirse utilizando elementos de replicación que provenían de, p. ej., alfavirus, y sustituyendo las proteínas víricas estructurales por una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína de interés (p. ej., un polipéptido descrito en el presente documento). Un ARN autorreplicante es normalmente una molécula de cadena positiva que puede traducirse directamente después de su suministro a una célula, y esta traducción proporciona una ARN·polimerasa dependiente de ARN que después produce transcritos tanto de sentido y como de antisentido a partir del ARN suministrado. Por tanto, el ARN suministrado conduce a la producción de múltiples ARN de segunda generación. Estos ARN de segunda generación, así como los transcritos subgenómicos colineales, pueden traducirse ellos mismos para proporcionar la expresión *in situ* de un antígeno codificado, o pueden transcribirse para proporcionar transcritos adicionales con el mismo sentido que el ARN suministrado que se traducen para proporcionar la expresión *in situ* del antígeno. El resultado global de esta secuencia de transcripciones es una gran amplificación en el número de replicones de ARN introducidos y, por tanto, el antígeno codificado se convierte en un producto polipeptídico importante de las células.

Un sistema adecuado para lograr la autorreplicación de esta manera es utilizar un replicón basado en alfavirus. Estos replicones son ARN de cadena positiva (cadena de sentido positivo) que conducen a la traducción de una replicasa (o replicasa-transcriptasa) después de su suministro a una célula. La replicasa se traduce como una poliproteína que se autoescinde para proporcionar un complejo de replicación que crea copias de la cadena genómica del ARN suministrado de cadena positiva. Estos transcritos de cadena negativa (-) pueden transcribirse ellos mismos para dar copias adicionales del ARN original de cadena positiva y también para dar un transcrito subgenómico que codifica el antígeno. La traducción del transcrito subgenómico conduce así a la expresión *in situ* del antígeno por parte de

la célula infectada. Los replicones de alfavirus adecuados pueden utilizar una replicasa de un virus Sindbis, un virus del bosque Semliki, un virus de la encefalitis equina oriental, un virus de la encefalitis equina venezolana, etc. Se pueden utilizar secuencias de virus mutante o natural, p. ej., el mutante TC83 atenuado de VEEV se ha utilizado en replicones, véase la siguiente referencia: el documento WO2005/113782, incorporado al presente documento por referencia.

En una realización, cada ARN autorreplicante descrito en el presente documento codifica (i) una ARN-polimerasa dependiente de ARN que puede transcribir ARN a partir de la molécula de ARN autorreplicante y (ii) un antígeno de proteína de la gripe. La polimerasa puede ser una replicasa de alfavirus, p. ej., que comprende una o más de las proteínas nsP1, nsP2, nsP3 y nsP4 de alfavirus. Mientras que los genomas de alfavirus naturales codifican proteínas viriónicas estructurales además de la poliproteína replicasa no estructural, en determinadas realizaciones, las moléculas de ARN autorreplicantes no codifican proteínas estructurales de alfavirus. Por tanto, el ARN autorreplicante puede conducir a la producción de copias de ARN genómico de sí mismo en una célula, pero no a la producción de viriones que contengan el ARN. La incapacidad de producir estos viriones significa que, a diferencia de un alfavirus natural, la molécula de ARN autorreplicante no puede perpetuarse en forma infecciosa. Las proteínas estructurales de alfavirus que son necesarias para la perpetuación en virus naturales están ausentes en los ARN autorreplicantes de la presente divulgación y su lugar lo ocupan uno o más genes que codifican el inmunógeno de interés, de modo que la transcripción subgenómica codifica el inmunógeno en lugar de las proteínas viriónicas de alfavirus estructurales. Los ARN autorreplicantes se describen en más detalle en el documento WO2011005799, incorporado al presente documento por referencia.

ARN transreplicante

El ARN transreplicante (o transamplificante) posee elementos similares al ARN autorreplicante descrito anteriormente. Sin embargo, con el ARN transreplicante se utilizan dos moléculas de ARN separadas. Una primera molécula

de ARN codifica la ARN·replicasa descrita anteriormente (p. ej., la replicasa de alfavirus) y una segunda molécula de ARN codifica la proteína de interés (p. ej., un polipéptido descrito en el presente documento). La ARN·replicasa puede replicar una o ambas de la primera y segunda molécula de ARN, aumentando así en gran medida el número de copias de las moléculas de ARN que codifican la proteína de interés. Los ARN transreplicantes se describen en más detalle en el documento WO2017162265, incorporado al presente documento por referencia.

ARN no replicante

El ARN no replicante (o no amplificante) es un ARN sin la capacidad de replicarse.

Usos terapéuticos

En otro aspecto, la invención proporciona los polipéptidos, ácidos nucleicos, combinaciones o composiciones de la presente invención para el uso como medicamento. La invención también proporciona el uso de los polipéptidos, ácidos nucleicos, combinaciones o composiciones de la presente invención para la fabricación de un medicamento. El medicamento se puede utilizar para tratar o prevenir una enfermedad como se describe en el presente documento. La invención proporciona además un método de tratamiento o prevención de una enfermedad que comprende administrar los polipéptidos, ácidos nucleicos, combinaciones o composiciones de la presente invención a un sujeto que los necesite. Los polipéptidos, ácidos nucleicos, combinaciones o composiciones de la presente invención pueden, por ejemplo, administrarse en una cantidad eficaz para tratar o prevenir la enfermedad en el sujeto. De este modo pueden administrarse polipéptidos, ácidos nucleicos, combinaciones o composiciones en una cantidad eficaz.

En otro aspecto, la invención proporciona los polipéptidos, ácidos nucleicos, combinaciones o composiciones de la presente invención para el uso en el tratamiento o la prevención de una infección por *C. acnes* en un sujeto (p. ej., un ser humano). La invención también proporciona el uso de los polipéptidos, ácidos nucleicos, combinaciones o composiciones de la presente invención para la

fabricación de un medicamento para tratar o prevenir una infección por *C. acnes* en un sujeto (p. ej., un ser humano). La invención proporciona además un método de tratamiento o prevención de una infección por *C. acnes* en un sujeto (p. ej., un ser humano), comprendiendo el método administrar los polipéptidos, ácidos nucleicos, combinaciones o composiciones de la presente invención al sujeto. Los polipéptidos, ácidos nucleicos, combinaciones o composiciones de la presente invención pueden, por ejemplo, administrarse en una cantidad eficaz para tratar o prevenir una infección por *C. acnes* en el sujeto (es decir, administrarse en una cantidad eficaz). La infección por *C. acnes* puede ser leve, moderada o grave (p. ej., moderada o grave).

Los polipéptidos, ácidos nucleicos, combinaciones o composiciones de la invención pueden utilizarse para inducir una respuesta inmunitaria en un sujeto, p. ej., una respuesta inmunitaria contra una infección por *C. acnes*.

En otro aspecto, la invención proporciona los polipéptidos, ácidos nucleicos, combinaciones o composiciones de la presente invención para el uso en el tratamiento o la prevención del acné (conocido también como acné vulgar) en un sujeto (p. ej., un ser humano). La invención también proporciona el uso de los polipéptidos, ácidos nucleicos, combinaciones o composiciones de la presente invención para la fabricación de un medicamento para tratar o prevenir el acné en un sujeto (p. ej., un ser humano). La invención proporciona además un método de tratamiento o prevención del acné en un sujeto (p. ej., un ser humano), comprendiendo el método administrar los polipéptidos, ácidos nucleicos, combinaciones o composiciones de la presente invención al sujeto. Los polipéptidos, ácidos nucleicos, combinaciones o composiciones de la presente invención pueden, por ejemplo, administrarse en una cantidad eficaz para tratar o prevenir el acné en el sujeto (es decir, administrarse en una cantidad eficaz). El acné puede ser causado por *C. acnes*. El acné puede ser leve, moderado o grave (p. ej., moderado o grave).

En algunas realizaciones, un tratamiento como se describe en el presente documento consigue al menos un 5 %, al menos un 10 %, al menos un 15 %, al

menos un 20 %, al menos un 25 %, al menos un 30 %, al menos un 35 %, al menos un 40 %, al menos un 45 %, al menos un 50 %, al menos un 55 %, al menos un 60 %, al menos un 65 %, al menos un 70 %, al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 % o al menos un 90 % (p. ej., al menos un 50 %) de reducción en el número de lesiones acnéicas inflamatorias con respecto al número de lesiones acnéicas inflamatorias antes del tratamiento, p. ej., a los 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 meses (p. ej., 3 o 6 meses) después de la administración del tratamiento (p. ej., después de la última dosis del tratamiento). En algunas realizaciones, las lesiones acnéicas inflamatorias están en la cara de un sujeto. En algunas realizaciones, las lesiones inflamatorias del acné están en la cara de un sujeto y en otra área del cuerpo (p. ej., pecho o espalda).

En algunas realizaciones, un tratamiento como se describe en el presente documento consigue al menos un 5 %, al menos un 10 %, al menos un 15 %, al menos un 20 %, al menos un 25 %, al menos un 30 %, al menos un 35 %, al menos un 40 %, al menos un 45 %, al menos un 50 %, al menos un 55 %, al menos un 60 %, al menos un 65 %, al menos un 70 %, al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 % o al menos un 90 % (p. ej., al menos un 50 %) de reducción en el número de lesiones acnéicas no inflamatorias con respecto al número de lesiones acnéicas no inflamatorias antes del tratamiento, p. ej., a los 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 meses (p. ej., 3 o 6 meses) después de la administración del tratamiento (p. ej., después de la última dosis del tratamiento). En algunas realizaciones, las lesiones acnéicas no inflamatorias están en la cara de un sujeto. En algunas realizaciones, las lesiones de acné no inflamatorias están en la cara de un sujeto y en otra área corporal (p. ej., pecho o espalda).

En algunas realizaciones, un tratamiento como se describe en el presente documento consigue una reducción en el puntaje de la Evaluación Global del Investigador (IGA, por sus siglas en inglés) para un sujeto con respecto al puntaje antes del tratamiento, p. ej., a los 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 meses (p. ej., 3 o 6 meses) después de la administración del tratamiento (p. ej., después de la última dosis del tratamiento). En algunas realizaciones, un tratamiento como se describe

en el presente documento consigue al menos una mejora de dos grados en el puntaje de la Evaluación Global del Investigador (IGA) para un sujeto con respecto al puntaje antes del tratamiento, p. ej., a los 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 meses (p. ej., 3 o 6 meses) después de la administración del tratamiento (p. ej., después de la última dosis del tratamiento). En algunas realizaciones, la mejora en el puntaje de IGA da como resultado un puntaje de IGA de 0, 1 o 2 (p. ej., 0 o 1), p. ej., a los 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 meses (p. ej., 3 o 6 meses) después de la administración del tratamiento (p. ej., después de la última dosis del tratamiento).

Los polipéptidos, ácidos nucleicos, combinaciones o composiciones de la invención se pueden utilizar para tratar o prevenir la blefaritis crónica asociada con una infección por *C. acnes* y/o la endoftalmitis asociada con una infección por *C. acnes*.

La invención proporciona los polipéptidos, ácidos nucleicos, combinaciones o composiciones de la presente invención para el uso en un método para proporcionar inmunidad protectora contra una infección por *C. acnes* en un sujeto. La invención también proporciona el uso de los polipéptidos, ácidos nucleicos, combinaciones o composiciones de la presente invención para la fabricación de un medicamento para el uso en un método para proporcionar inmunidad protectora contra una infección por *C. acnes* en un sujeto. La invención proporciona además un método para proporcionar inmunidad protectora contra una infección por *C. acnes* en un sujeto, comprendiendo el método administrar los polipéptidos, ácidos nucleicos, combinaciones o composiciones de la presente invención al sujeto. Los polipéptidos, ácidos nucleicos, combinaciones o composiciones de la presente invención pueden, por ejemplo, administrarse en una cantidad eficaz para proporcionar inmunidad protectora contra una infección por *C. acnes* en el sujeto (es decir, administrarse en una cantidad eficaz). La inmunidad protectora puede ser protectora contra el desarrollo de una afección patológica inducida por una infección por *C. acnes* (p. ej., acné). La inmunidad protectora puede prevenir o reducir el desarrollo de una indicación asociada con *C. acnes*.

Los polipéptidos, ácidos nucleicos, combinaciones o composiciones de la invención pueden inducir anticuerpos (p. ej., anticuerpos específicos del antígeno), tales como IgG. Los anticuerpos (antígenos específicos de DsA1, DsA2 y/o PITP) pueden unirse a la superficie de bacterias *C. acnes*. Los anticuerpos (antígenos específicos de DsA1, DsA2 y/o PITP) pueden opsonizar bacterias *C. acnes*. Esto puede permitir el reclutamiento de células efectoras inmunitarias (p. ej., fagocitos) en las bacterias. Las bacterias *C. acnes* pueden ser fagocitadas por las células efectoras inmunitarias reclutadas. Dentro del isotipo IgG, los anticuerpos pueden ser de las subclases IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4. El anticuerpo puede tener una cadena ligera κ o λ . En algunas realizaciones, los polipéptidos, ácidos nucleicos, combinaciones o composiciones de la invención pueden inducir una respuesta de anticuerpos que presenta reactividad cruzada contra dos o más cepas o filotipos de *C. acnes*, p. ej., reactividad cruzada contra dos o más filotipos (p. ej., reactividad cruzada contra los filotipos IA1, IA2, IB IC, II y III).

Los polipéptidos, ácidos nucleicos, combinaciones o composiciones de la invención pueden reducir la inflamación asociada con (p. ej., causada por) una infección por *C. acnes*. Los polipéptidos, ácidos nucleicos, combinaciones o composiciones de la invención pueden reducir la inflamación tisular mediada por *C. acnes*.

Los polipéptidos, ácidos nucleicos, combinaciones o composiciones de la invención pueden inhibir la formación de biopelículas por parte de *C. acnes*. En algunas realizaciones, se puede prevenir la formación de biopelículas. En algunas realizaciones, se puede reducir la formación de biopelículas.

La administración de un polipéptido, ácido nucleico, combinación o composición de la invención a un sujeto puede permitir al sujeto producir una población de linfocitos B de memoria sensibles a antígenos de *C. acnes* tras la exposición a bacterias *C. acnes* o al antígeno de *C. acnes*. Los polipéptidos, ácidos nucleicos, combinaciones o composiciones de la invención se pueden utilizar para inducir una respuesta inmunitaria primaria y/o para reforzar una respuesta inmunitaria.

Los polipéptidos, ácidos nucleicos, combinaciones o composiciones de la invención se pueden utilizar en un esquema de primovacunación-revacunación. Se puede proporcionar inmunidad contra una infección por *C. acnes* de acuerdo con la invención mediante la administración de una primovacuna, que comprende un polipéptido, ácido nucleico, combinaciones o composición de la invención, seguida de una vacuna de refuerzo. La vacuna de refuerzo puede ser la misma que la primovacuna.

En determinadas realizaciones, el sujeto es un vertebrado, p. ej., un mamífero, tal como un ser humano o un mamífero de atención veterinaria (p. ej., gato, perro, caballo, vaca, oveja, ganado vacuno, ciervo, cabra, cerdo, roedores (p. ej., ratones)). En realizaciones preferidas, el sujeto es un ser humano. El sujeto (p. ej., el sujeto humano) puede ser de sexo femenino o masculino. El sujeto puede ser un niño (0-10 años), un adolescente (10-18 años) o un adulto (más de 18 años). En algunas realizaciones, los sujetos humanos pueden tener una edad de 0-30 o 0-45 (p. ej., 5-18, 12-45, 18-45 o 9-45) años. Por ejemplo, el sujeto puede tener una edad de 9-45, 12-45 o 18-45 (p. ej., 9-45) años.

En algunas realizaciones, el sujeto tiene al menos una de las siguientes: (i) puntaje de grado 3 o grado 4 en la escala de IGA; (ii) al menos 25 lesiones no inflamatorias (p. ej., comedones abiertos y/o cerrados) opcionalmente en la cara del sujeto; (iii) al menos 20 lesiones inflamatorias (p. ej., pápulas y/o pústulas) opcionalmente en la cara del sujeto; (iv) 2 o menos lesiones noduloquísticas (p. ej., nódulos y/o quistes) opcionalmente en la cara del sujeto. En algunas realizaciones, el sujeto tiene al menos dos de (i)-(iv). En algunas realizaciones, el sujeto tiene al menos tres de (i)-(iv). Normalmente, el sujeto tiene las cuatro de (i)-(iv). Un sujeto que tiene las cuatro de (i)-(iv) puede tener acné moderado/grave.

El acné vulgar (denominado también en el presente documento acné) se manifiesta con diferentes grados de gravedad: leve, moderado y grave. El acné moderado y grave suponen más de un tercio de todos los casos y necesitan tratamiento médico. En algunas realizaciones, los sujetos pueden tener una infección por *C. acnes* leve, moderada o grave (p. ej., acné moderado o grave). Los

sujetos pueden tener acné leve, moderado o grave (p. ej., acné moderado o grave). En algunas realizaciones, los sujetos presentan acné leve, moderado o grave (por ejemplo, acné moderado o grave).

Modos de administración

5 Los polipéptidos, ácidos nucleicos, combinaciones o composiciones de la presente invención se pueden administrar por vía parenteral (p. ej., por vía intramuscular, intradérmica, subcutánea, intraperitoneal, intravenosa o en el espacio intersticial de un tejido) o mediante administración rectal, oral, vaginal, tópica, transdérmica, intranasal, sublingual, ocular, auricular, pulmonar u otras
10 mucosas. En algunas realizaciones, el suministro es mediante administración mucosa. Normalmente, la administración es intramuscular.

En determinadas realizaciones, los ácidos nucleicos, polipéptidos, composiciones o combinaciones (p. ej., composiciones) de la invención se proporcionan para el uso en la inyección intramuscular (IM). Los ácidos nucleicos, polipéptidos, composiciones o combinaciones (p. ej., las composiciones) se pueden
15 administrar en el muslo o en el brazo de un sujeto en, p. ej., su músculo deltoides del brazo. En algunas realizaciones, los ácidos nucleicos, polipéptidos, composiciones o combinaciones (p. ej., composiciones) se proporcionan en una jeringa o inyector precargado (p. ej., de un compartimento o varios compartimentos).
20 La inyección puede realizarse mediante una aguja (p. ej., una aguja hipodérmica), pero también se puede utilizar, como alternativa, una inyección sin aguja. Una dosis intramuscular típica es de 0.5 ml. En algunas realizaciones, los ácidos nucleicos, polipéptidos, composiciones o combinaciones (p. ej., las composiciones) se proporcionan para el uso inhalatorio y se proporcionan en una bomba, aerosol o
25 inhalador precargado.

En determinadas realizaciones, los ácidos nucleicos, polipéptidos, composiciones o combinaciones (p. ej., las composiciones) de la invención se proporcionan para el uso en la inyección cutánea, p. ej., en la epidermis, la dermis o la hipodermis de la piel. En algunas realizaciones, los ácidos nucleicos, polipéptidos, composiciones o combinaciones de la invención (p. ej., las
30

composiciones) se proporcionan en un dispositivo adecuado para la inyección cutánea, tal como una aguja (p. ej., una aguja epidérmica, dérmica o hipodérmica), un dispositivo sin aguja, un dispositivo con microaguja o un dispositivo de matriz de microproyección. Se describen ejemplos de dispositivos con microaguja o de matriz de microproyección adecuados para la inyección cutánea de acuerdo con la invención en los documentos US20230270842A1, US20220339416A1, US20210085598A1, US20200246450A1, US20220143376A1, US20180264244A1, US20180263641A1 y US20110245776A1.

Los ácidos nucleicos, polipéptidos, composiciones o combinaciones (p. ej., las composiciones) de la invención se pueden utilizar para inducir inmunidad sistémica, cutánea y/o mucosa.

El tratamiento posológico puede ser un esquema de dosis única o un esquema de dosis múltiples. Se pueden utilizar dosis múltiples (p. ej., dos o tres) en un programa de primovacunación y/o en un programa de vacunación de refuerzo. Un programa de primodosis puede ir seguido de un programa de dosis de refuerzo. Normalmente se administrarán dosis múltiples (p. ej., dos dosis o tres) separadas al menos 1 semana (p. ej., aproximadamente 2 semanas, aproximadamente 3 semanas, aproximadamente 4 semanas, aproximadamente 6 semanas, aproximadamente 8 semanas, aproximadamente 10 semanas, aproximadamente 12 semanas, aproximadamente 16 semanas, etc.) a sujetos que lo necesiten para lograr los efectos terapéuticos o profilácticos deseados (p. ej., dos meses). Las dosis (p. ej., primodosis y dosis de refuerzo) pueden estar separadas por un intervalo de, p. ej., 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, un mes, dos meses, tres meses, cuatro meses, cinco meses, seis meses, uno año, dos años, cinco años o diez años (p. ej., dos meses). En algunas realizaciones, se administra a un sujeto una dosis única por vía intramuscular. En algunas realizaciones, se administran al sujeto dos dosis por vía intramuscular (p. ej., separadas dos meses).

Una composición de la invención puede estar en forma de una formulación extemporánea, p. ej., una composición de la invención puede liofilizarse. Tales composiciones pueden reconstituirse con un tampón fisiológico (p. ej., PBS) justo

antes de su uso. Las composiciones de la invención pueden proporcionarse en forma de una solución acuosa o una solución acuosa congelada y pueden administrarse directamente a los sujetos sin reconstitución (después de descongelarlas, si están congeladas previamente).

En algunas realizaciones de una composición que comprende uno o más ácidos nucleicos (p. ej., ARNm) como se describen en el presente documento, una dosis única de la composición contiene 1-300 (o 1-50) μg de un ARNm como se describe en el presente documento (p. ej., monovalente o multivalente). Por ejemplo, una dosis única puede contener aproximadamente 2.5 μg , aproximadamente 5 μg , aproximadamente 7.5 μg , aproximadamente 10 μg , aproximadamente 12.5 μg , aproximadamente 15 μg , aproximadamente 30 μg , aproximadamente 45 μg , aproximadamente 60 μg , aproximadamente 75 μg , aproximadamente 90 μg , aproximadamente 105 μg , aproximadamente 120 μg , aproximadamente 135 μg , aproximadamente 150 μg , aproximadamente 165 μg , aproximadamente 180 μg , aproximadamente 195 μg , aproximadamente 210 μg , aproximadamente 225 μg , aproximadamente 240 μg , aproximadamente 250 μg , aproximadamente 260 μg , aproximadamente 275 μg o aproximadamente 300 μg del uno o más ácidos nucleicos (p. ej., ARNm) descritos en el presente documento, p. ej., para la inyección intramuscular (IM). En algunas realizaciones, la composición comprende 40-50 μg (p. ej., aproximadamente 45 μg) del uno o más ácidos nucleicos (p. ej., ARNm). En algunas realizaciones, la composición comprende 110-140 μg (p. ej., aproximadamente 120 μg) del uno o más ácidos nucleicos (p. ej., ARNm). En algunas realizaciones, la composición comprende 200-250 μg (p. ej., aproximadamente 225 μg) del uno o más ácidos nucleicos (p. ej., ARNm).

La composición puede comprender tres ácidos nucleicos (p. ej., tres ARNm) como se describen en el presente documento que codifican diferentes polipéptidos como se describen en el presente documento y los ácidos nucleicos pueden estar presentes en una relación en peso de 1:1:1. En algunas realizaciones, la composición comprende un total de aproximadamente 45 μg , aproximadamente 120 μg o aproximadamente 225 μg de los ácidos nucleicos. La composición puede

comprender, por lo tanto, aproximadamente 15 µg, aproximadamente 40 µg o aproximadamente 75 µg de cada uno de los tres ácidos nucleicos.

La composición puede comprender dos ácidos nucleicos (p. ej., dos ARNm) como se describen en el presente documento que codifican diferentes polipéptidos como se describen en el presente documento y los ácidos nucleicos pueden estar presentes en una relación en peso de 1:1.

En realizaciones adicionales, una composición de la invención puede proporcionarse como una dosis única multivalente que contiene varios (p. ej., 2, 3 o 4) tipos de LNP, cada uno para un antígeno diferente, y cada tipo de LNP tiene una cantidad de ARNm de, p. ej., 2.5 µg, aproximadamente 5 µg, aproximadamente 7.5 µg, aproximadamente 10 µg, aproximadamente 12.5 µg, aproximadamente 15 µg, aproximadamente 30 µg, aproximadamente 45 µg, aproximadamente 60 µg, aproximadamente 75 µg, aproximadamente 90 µg, aproximadamente 105 µg, aproximadamente 120 µg, aproximadamente 135 µg, aproximadamente 150 µg, aproximadamente 165 µg, aproximadamente 180 µg, aproximadamente 195 µg, aproximadamente 210 µg, aproximadamente 225 µg, aproximadamente 250 µg, aproximadamente 275 µg o aproximadamente 300 µg.

En algunas realizaciones, se administra al sujeto una o más composiciones de ácido nucleico de la presente invención. Las composiciones de ácido nucleico pueden comprender un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un antígeno polipeptídico como se describe en el presente documento. Las composiciones de ácido nucleico pueden administrarse de manera simultánea, por separado o de manera secuencial. En algunas realizaciones, se administra al sujeto una combinación de ácidos nucleicos de la presente invención. Las combinaciones de ácidos nucleicos incluyen combinaciones de dos o más (p. ej., tres) ácidos nucleicos como se describen en el presente documento. Los ácidos nucleicos de una combinación pueden administrarse de manera simultánea, por separado o de manera secuencial.

En algunas realizaciones, se administra al sujeto una o más composiciones polipeptídicas de la presente invención. Las composiciones polipeptídicas pueden

comprender un antígeno polipeptídico como se describe en el presente documento. Las composiciones polipeptídicas pueden administrarse de manera simultánea, por separado o de manera secuencial. En algunas realizaciones, se administra al sujeto una combinación de polipéptidos de la presente invención. Las combinaciones de polipéptidos incluyen combinaciones de dos o más (p. ej., tres) polipéptidos como se describen en el presente documento. Los ácidos nucleicos de una combinación pueden administrarse de manera simultánea, por separado o de manera secuencial.

En algunas realizaciones, se administra al sujeto una o más composiciones de ácido nucleico de la presente invención y una o más composiciones polipeptídicas de la invención. La composición de ácido nucleico y la una o más composiciones polipeptídicas pueden administrarse de manera simultánea, por separado o de manera secuencial.

Las composiciones administradas por separado o de manera secuencial pueden administrarse en un intervalo de 12 meses entre sí, en un intervalo de seis meses entre sí, o en un intervalo de un mes o menos entre sí (p. ej., un intervalo de 10 días). Las composiciones se pueden administrar en un intervalo de 7 días, en un intervalo de 3 días, en un intervalo de 2 días o en un intervalo de 24 horas entre sí. La administración simultánea puede implicar administrar las composiciones de la invención a la vez. La administración simultánea puede incluir la administración de las composiciones de la invención a un paciente en un intervalo de 12 horas entre sí, en un intervalo de 6 horas, en un intervalo de 3 horas, en un intervalo de 2 horas o en un intervalo de 1 hora entre sí, normalmente en la misma visita a un centro clínico.

La presente invención también proporciona un kit que comprende una o más composiciones descritas en el presente documento en uno o más recipientes, o proporciona una o más composiciones como se describen en el presente documento en uno o más recipientes y un tampón fisiológico para la reconstitución en otro recipiente. El o los recipientes pueden contener una dosis de un solo uso o una dosis de usos múltiples. Los recipientes pueden ser ampollas o frascos de vidrio pretratados. El kit puede incluir instrucciones de uso.

Definiciones

La expresión "que comprende" abarca tanto "que incluye" como "que consiste en" p. ej., una composición "que comprende" X puede consistir exclusivamente en X o puede incluir algo adicional p. ej., X + Y.

5 El término "aproximadamente" en relación con un valor numérico x es opcional y significa, por ejemplo, $x \pm 10\%$.

Como se utiliza en el presente documento, la expresión "cantidad eficaz" se refiere a una cantidad (p. ej., de un ácido nucleico, un polipéptido, una combinación o una composición como se describe en el presente documento) suficiente para
10 lograr resultados beneficiosos o deseados. Una cantidad eficaz puede administrarse en una o más administraciones, aplicaciones o dosificaciones, y no se pretende que se limite a una formulación o vía de administración particular. La expresión "cantidad eficaz" incluye, por ejemplo, una cantidad terapéuticamente eficaz y/o una cantidad profilácticamente eficaz. La expresión "cantidad eficaz", como se utiliza en el
15 presente documento, se refiere a una cantidad (p. ej., de un ácido nucleico, un polipéptido, una combinación o una composición como se describe en el presente documento) que es eficaz para producir algunos efectos terapéuticos o profilácticos deseados en el tratamiento o la prevención de una infección, enfermedad, trastorno y/o afección en una relación beneficio/riesgo razonable aplicable a cualquier
20 tratamiento médico.

El término "fragmento" o "variante" cuando se refiere a los polipéptidos de la presente divulgación incluye cualesquiera polipéptidos que conserven al menos algunas de las propiedades (p. ej., propiedad antigénica específica del polipéptido o la capacidad del polipéptido de contribuir a la inducción de la unión de anticuerpos)
25 del polipéptido de referencia. Los fragmentos de polipéptidos incluyen fragmentos truncados en el extremo N y/o el extremo C, p. ej., fragmentos carboxiterminales y fragmentos aminotermiales, así como fragmentos de delección pero no incluyen el polipéptido de longitud completa de origen natural (o polipéptido maduro). Un fragmento de delección se refiere a un polipéptido con uno o más aminoácidos
30 internos eliminados del polipéptido de longitud completa. Las variantes de

polipéptidos incluyen fragmentos como los descritos anteriormente y también polipéptidos con secuencias de aminoácidos alteradas debido a sustituciones, deleciones o inserciones de aminoácidos. Las variantes pueden ser de origen natural o no natural. Se pueden producir variantes de origen no natural mediante técnicas de mutagénesis conocidas en la materia. Los polipéptidos variantes pueden comprender sustituciones, deleciones o adiciones de aminoácidos conservadoras o no conservadoras. Tales variaciones (es decir, truncamientos y/o sustituciones, deleciones o inserciones de aminoácidos) pueden ocurrir ya sea a nivel de aminoácidos o, correspondientemente, a nivel de ácido nucleico.

La identidad con respecto a una secuencia se define en el presente documento como el porcentaje de ácido nucleico o residuos aminoacídicos en la secuencia candidata que son idénticos a la secuencia de aminoácidos de referencia después de alinear las secuencias e introducir huecos, si es necesario, para lograr el porcentaje máximo de identidad de secuencia, y sin tener en cuenta ninguna sustitución conservadora como parte de la identidad de secuencia.

La identidad de secuencia se puede determinar mediante métodos convencionales que se utilizan comúnmente para comparar la similitud en la posición de los aminoácidos de dos polipéptidos o los ácidos nucleicos de dos polinucleótidos. Por ejemplo, con un programa informático, tal como BLAST o FASTA, se alinean dos polipéptidos para la coincidencia óptima de sus respectivos aminoácidos (ya sea a lo largo de toda la longitud de una o ambas secuencias o a lo largo de una porción predeterminada de una o ambas secuencias). Los programas proporcionan una penalización por apertura por defecto y una penalización por hueco por defecto, y una matriz de puntaje, tal como PAM 250 [una matriz de puntaje convencional; véase Dayhoff *et al.*, en *Atlas of Protein Sequence and Structure*, tomo 5, sup. 3 (1978)] se puede utilizar junto con el programa informático. El porcentaje de identidad se puede calcular como: el número total de coincidencias idénticas multiplicado por 100 y luego dividido por la suma de la longitud de la secuencia más larga dentro del intervalo coincidente y el número de huecos introducidos en las secuencias más cortas para alinear las dos secuencias.

Como se utiliza en el presente documento, el término "kit" se refiere a un conjunto empaquetado de componentes relacionados, tales como uno o más compuestos o composiciones y uno o más materiales relacionados, tales como disolventes, soluciones, tampones, instrucciones o desecantes.

5 El término "unida" o "enlazada", como se utiliza en el presente documento, se refiere a una primera secuencia de aminoácidos o secuencia de nucleótidos unida covalentemente a una segunda secuencia de aminoácidos o secuencia de nucleótidos, respectivamente (p. ej., una secuencia de aminoácidos de péptido
10 señal de secreción y/o una secuencia de aminoácidos de dominio transmembranario heterólogo unida a una secuencia de aminoácidos de polipéptido de *C. acnes*). La primera secuencia de aminoácidos o nucleótidos se puede unir directamente a la segunda secuencia de aminoácidos o nucleótidos o, como alternativa, una secuencia intermedia puede unir covalentemente la primera secuencia a la segunda secuencia. El término "enlazado" significa no sólo una fusión de una primera
15 secuencia de aminoácidos con una segunda secuencia de aminoácidos en el extremo C o en el extremo N, sino que también incluye la inserción de toda la primera secuencia de aminoácidos (o la segunda secuencia de aminoácidos) en dos aminoácidos cualesquiera en la segunda secuencia de aminoácidos (o la primera secuencia de aminoácidos, respectivamente). En una realización, la primera
20 secuencia de aminoácidos puede unirse a una segunda secuencia de aminoácidos mediante un enlace peptídico o un conector. La primera secuencia de nucleótidos puede unirse a una segunda secuencia de nucleótidos mediante un enlace fosfodiéster o un conector. El conector puede ser un péptido o un polipéptido (para cadenas polipeptídicas) o un nucleótido o una cadena de nucleótidos (para cadenas
25 de nucleótidos) o cualquier resto químico (para cadenas tanto polipeptídicas como polinucleotídicas). El término "unida" también se indica con un guion (-).

Las lesiones acnéicas pueden ser no inflamatorias o inflamatorias. Las lesiones no inflamatorias del acné incluyen comedones abiertos (puntos negros) o cerrados (espinillas blancas). Estas lesiones, especialmente los comedones
30 cerrados, pueden ser precursoras de lesiones inflamatorias más grandes y, por lo

tanto, son de importancia clínica. Las lesiones inflamatorias pueden incluir pápulas, pústulas, nódulos y lesiones noduloquísticas, dependiendo de la gravedad y la ubicación de la inflamación en la dermis. Las pápulas y pústulas pueden tener halos circundantes de eritema que permiten su caracterización como inflamatorias.

5 Normalmente, los nódulos son eritematosos y suelen ser sensibles y/o dolorosos. En alguna realización, los nódulos son profundos en la piel (p. ej., están centrados en la dermis y/o el subcutis). Los nódulos pueden tener un diámetro mayor de 5 mm.

10 El acné puede ser leve, moderado o grave, según el número y el tipo de lesiones que afecten a una zona específica de la piel. La gravedad del acné se puede determinar utilizando la escala de Evaluación Global del Investigador (IGA), que califica la gravedad del acné de 0 a 4. La escala de IGA incluye las siguientes categorías: limpio (grado 0), casi limpio (grado 1), gravedad leve (grado 2), gravedad moderada (grado 3) y grave (grado 4).

15 Como se utiliza en el presente documento, el término “acné leve” se refiere a un grado de gravedad del acné en el que hay presentes algunas lesiones no inflamatorias, con pocas lesiones inflamatorias. Normalmente, el sujeto tiene pápulas y/o pústulas, p. ej., el sujeto puede tener pápulas y/o pústulas solamente. Normalmente, el sujeto no tiene ninguna lesión noduloquística. El acné leve puede ser acné de Grado 2 de acuerdo con la escala de IGA.

20 Como se utiliza en el presente documento, el término “acné moderado” se refiere a un grado de gravedad del acné en el que un sujeto tiene muchos comedones, pápulas y/o pústulas. El sujeto puede tener un nódulo, p. ej., el sujeto puede tener como máximo un nódulo. El acné moderado normalmente afecta a más de la mitad de la cara del sujeto. El acné moderado puede ser acné de Grado 3 de acuerdo con la escala de IGA.

25 Como se utiliza en el presente documento, el término “acné grave” se refiere a un grado de gravedad del acné en el que un sujeto tiene numerosos comedones, pápulas y pústulas. Normalmente, el sujeto tiene uno o más nódulos y/o quistes. El acné grave normalmente afecta a toda la cara del sujeto. Por ejemplo, toda la cara

del sujeto puede estar llena de comedones, pápulas y pústulas. El acné grave puede ser acné de Grado 4 de acuerdo con la escala de IGA.

Realizaciones

La invención incluye al menos las siguientes realizaciones numeradas:

- 5 1. Un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado, en donde el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado comprende una secuencia de aminoácidos que comprende una secuencia de polipéptido CAMP2 de *C. acnes* y una secuencia de dominio transmembranario.
- 10 2. El ácido nucleico de la realización 1, en donde la secuencia de dominio transmembranario se sitúa en el extremo N o el extremo C (p. ej., el extremo C) del polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado.
- 15 3. El ácido nucleico de la realización 1 o 2, en donde la secuencia de dominio transmembranario comprende una secuencia de dominio transmembranario vírico, que se selecciona opcionalmente del grupo que consiste en: una secuencia de dominio transmembranario de la hemaglutinina (HA) de la gripe, una secuencia de dominio transmembranario de la espícula del SARS CoV-2, una secuencia de dominio transmembranario de gB del VZV, una secuencia de dominio transmembranario de gE del VZV,
- 20 una secuencia de dominio transmembranario de gI del VZV, una secuencia de dominio transmembranario de gK del VZV, una secuencia de dominio transmembranario de la proteína F del sarampión, una secuencia de dominio transmembranario de la proteína E1 de la rubéola, una secuencia de dominio transmembranario de la proteína E2 de la rubéola, una secuencia de dominio transmembranario de la proteína F de las paperas, una secuencia de dominio transmembranario de la proteína GP del ébola y una secuencia de dominio transmembranario de la rabia.
- 25 4. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones 1-3, en donde la secuencia de dominio transmembranario comprende una secuencia

de aminoácidos de acuerdo con una cualquiera de las secuencias de la Tabla 4.

5. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones 1-4, en donde la secuencia de dominio transmembranario comprende una secuencia de aminoácidos de acuerdo con una cualquiera de las SEQ ID NO: 208-209 (p. ej., la SEQ ID NO: 208).

6. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones 1-5, en donde el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado comprende una secuencia de péptido señal de secreción (p. ej., vírica) no nativa.

7. El ácido nucleico de la realización 6, en donde la secuencia de péptido señal de secreción se sitúa en el extremo N o el extremo C (p. ej., el extremo N) del polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado.

8. El ácido nucleico de la realización 6 o 7, en donde la secuencia de péptido señal de secreción es una secuencia de péptido señal de secreción vírica, que comprende opcionalmente una secuencia seleccionada del grupo que consiste en: una secuencia de péptido señal de secreción de la hemaglutinina (HA) de la gripe, una secuencia de péptido señal de secreción de la espícula del SARS CoV-2, una secuencia de péptido señal de secreción de gB del VZV, una secuencia de péptido señal de secreción de gE del VZV, una secuencia de péptido señal de secreción de gI del VZV, una secuencia de péptido señal de secreción de gK del VZV, una secuencia de péptido señal de secreción de la proteína F del sarampión, una secuencia de péptido señal de secreción de la proteína E1 de la rubéola, una secuencia de péptido señal de secreción de la proteína E2 de la rubéola, una secuencia de péptido señal de secreción de la proteína F de las paperas, una secuencia de péptido señal de secreción de la proteína GP del ébola y una secuencia de péptido señal de secreción de la proteína IC de 6 kDa de la viruela.

9. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones 6-8, en donde la secuencia de péptido señal de secreción comprende una secuencia de acuerdo con una cualquiera de las secuencias de la Tabla 2 o 3.

10. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones 6-9, en donde la secuencia de péptido señal de secreción comprende una secuencia de acuerdo con una cualquiera de las SEQ ID NO: 210-211 (p. ej., la SEQ ID NO: 210).

11. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones 1-10, en donde el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado comprende una mutación en una o más (p. ej., todas las) posiciones correspondientes a un sitio de N-glucosilación y/o una o más (p. ej., todas las) posiciones correspondientes a un sitio de O-glucosilación en un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* nativo, opcionalmente en donde la mutación es una sustitución de un solo aminoácido.

12. El ácido nucleico de la realización 11, en donde:

(i) el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* comprende una mutación en la posición N166 con respecto a la SEQ ID NO: 203, opcionalmente en donde la mutación es una sustitución de un solo aminoácido, p. ej., N166S; y/o

(ii) el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* comprende una sustitución de uno o más residuos de serina (Ser) y/o treonina (Thr).

13. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones 1-12, en donde el ácido nucleico es un ARN mensajero (ARNm).

14. El ácido nucleico de la realización 13, en donde el ARNm comprende una caperuza en 5', al menos una región no traducida en 5' (5' UTR), al menos una región no traducida en 3' (3' UTR) y/o al menos una secuencia de poliadenilación (poli(A)).

15. El ácido nucleico de las realizaciones 13 o 14, en donde el ARNm no está modificado o:

(i) el ARNm comprende al menos una modificación química, opcionalmente en donde la modificación química se selecciona del grupo que consiste en, p. ej., 1-metiladenina, 2-

metiladenina, 2-metiltio-N-6-isopenteniladenina, N6-metiladenina, N6-isopenteniladenina, 2-tiocitosina, 3-metilcitosina, 4-acetilcitosina, 5-metilcitosina, 2,6-diaminopurina, 1-metilguanina, 2-metilguanina, 2,2-dimetilguanina, 7-metilguanina, inosina, 1-metilinosina, pseudouracilo (5-uracilo), dihidrouracilo, 2-tiouracilo, 4-tiouracilo, 5-carboximetilaminometil-2-tiouracilo, 5-(carboxihidroximetil)uracilo, 5-fluorouracilo, 5-bromouracilo, 5-carboximetilaminometiluracilo, 5-metil-2-tiouracilo, 5-metiluracilo, éster metílico del ácido N-uracil-5-oxiacético, 5-metilaminometiluracilo, 5-metoxiaminometil-2-tiouracilo, 5'-metoxycarbonilmetiluracilo, 5-metoxiuracilo, éster metílico del ácido uracil-5-oxiacético, ácido uracil-5-oxiacético (v), 1-metilpseudouracilo, queosina, β -D-manosilqueosina, fosforamidatos, fosforotioatos, nucleótidos peptídicos, metilfosfonatos, 7-desazaguanosina, 5-metilcitosina e inosina (p.ej., en donde la modificación química comprende N1-metilpseudouridina); y/o

(ii) el ARNm se sintetiza a partir de análogos de nucleótidos modificados o derivados de purinas y pirimidinas, opcionalmente en donde los análogos de nucleótidos modificados o derivados de purinas y pirimidinas se seleccionan del grupo que consiste en: 1-metiladenina, 2-metiladenina, 2-metiltio-N-6-isopenteniladenina, N6-metiladenina, N6-isopenteniladenina, 2-tiocitosina, 3-metilcitosina, 4-acetilcitosina, 5-metilcitosina, 2,6-diaminopurina, 1-metilguanina, 2-metilguanina, 2,2-dimetilguanina, 7-metilguanina, inosina, 1-metilinosina, pseudouracilo (5-uracilo), dihidrouracilo, 2-tiouracilo, 4-tiouracilo, 5-carboximetilaminometil-2-tiouracilo, 5-(carboxihidroximetil)uracilo, 5-fluorouracilo, 5-bromouracilo, 5-carboximetilaminometiluracilo, 5-metil-2-tiouracilo, 5-metiluracilo, éster metílico del ácido N-uracil-5-oxiacético, 5-

metilaminometiluracilo, 5-metoxiaminometil-2-tiouracilo, 5'-metoxycarbonilmetiluracilo, 5-metoxiuracilo, éster metílico del ácido uracil-5-oxiacético, ácido uracil-5-oxiacético (v), 1-metilpseudouracilo, queosina, β -D-manosilqueosina, fosforamidatos, fosforotioatos, nucleótidos peptídicos, metilfosfonatos, 7-desazaguanosina, 5-metilcitosina e inosina.

16. El ácido nucleico de la realización 15, en donde el ARNm comprende al menos una modificación química (por ejemplo, en donde al menos un 20 %, al menos un 30 %, al menos un 40 %, al menos un 50 %, al menos un 60 %, al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 95 %, o el 100 % de las uridinas en el ARNm están modificadas químicamente), opcionalmente en donde la modificación química comprende N1-metilpseudouridina, por ejemplo, en lugar de cada uridina.

17. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones 13-16, en donde el ARNm es un ARNm autorreplicante o un ARNm no replicante.

18. El ácido nucleico de la realización 17, en donde el ARNm es un ARNm no replicante.

19. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones 1-18, en donde:

(i) el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado comprende una secuencia de acuerdo con una cualquiera de las SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 207, SEQ ID NO: 43-58, SEQ ID NO: 1-16 o SEQ ID NO: 339-363 (p. ej., la SEQ ID NO: 207, o una secuencia que tiene al menos un 60 %, al menos un 65 %, al menos un 70 %, al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 86 %, al menos un 87 %, al menos un 88 %, al menos un 89 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 85%, 90% o 95%) de identidad con esta; y/o

(ii) el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* comprende una sustitución de aminoácidos en una o más posiciones correspondientes a los residuos 6, 9, 11, 18, 19, 21, 24, 29, 30, 37, 48, 61, 65, 68, 76, 87, 91, 92, 98, 100, 106, 118, 128, 138, 143, 145, 154, 169, 177, 179, 189, 207, 221 y/o 223 de la SEQ ID NO: 203, p. ej., en donde el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* comprende una sustitución de aminoácidos en una o más posiciones correspondientes a los residuos T6 (p. ej., T6I), A9 (p. ej., A9T), S11 (p. ej., S11A), S18 (p. ej., S18N), D19 (p. ej., D19E o D19Y), R21 (p. ej., R21H), I24 (p. ej., I24M, I24L o I24T), A29 (p. ej., A29P), H30 (p. ej., H30R), V37 (p. ej., V37A), D48 (p. ej., D48N), R61 (p. ej., R61H), E65 (p. ej., E65D), A68 (p. ej., A68T), D76 (p. ej., D76N), V87 (p. ej., V87A), I91 (p. ej., I91V), D92 (p. ej., D92G), T98 (p. ej., T98K), T100 (p. ej., T100I), R106 (p. ej., R106S), K118 (p. ej., K118N), S128 (p. ej., S128T), A138 (p. ej., A138T), R143 (p. ej., R143H), E145 (p. ej., E145D o E145K), T154 (p. ej., T154A), K169 (p. ej., K169R), N177 (p. ej., N177D), D179 (p. ej., D179N o D179H), A189 (p. ej., A189E), N207 (p. ej., N207D o N207A), E221 (p. ej., E221K) y/o L223 (p. ej., L223F) de la SEQ ID NO: 203.

20. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones 1 a 19, en donde el ácido nucleico comprende una secuencia de nucleótidos de acuerdo con una cualquiera de las SEQ ID NO: 153-167, SEQ ID NO: 87-101, SEQ ID NO: 391-392 o SEQ ID NO: 398-399 (p. ej., la SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 391 o SEQ ID NO: 392, tal como la SEQ ID NO: 91), o una secuencia que tiene al menos un 50 %, al menos un 55 %, al menos un 60 %, al menos un 65 %, al menos un 70 %, al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 86 %, al menos un 87 %, al menos un 88 %, al menos un 89 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 75 %, 80 % o 85 %, tal como 75 % o 80%) de identidad con esta.

21. Un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado que tiene una secuencia de aminoácidos que comprende una secuencia de polipéptido CAMP2 de *C. acnes* y una secuencia de dominio transmembranario.

22. El polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado de la realización 21, en donde la secuencia de dominio transmembranario se sitúa en el extremo N o el extremo C (p. ej., el extremo C) del polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado.

23. El polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado de la realización 21 o 22, en donde la secuencia de dominio transmembranario comprende una secuencia de dominio transmembranario vírico, que se selecciona opcionalmente del grupo que consiste en: una secuencia de dominio transmembranario de la hemaglutinina (HA) de la gripe, una secuencia de dominio transmembranario de la espícula del SARS CoV-2, una secuencia de dominio transmembranario de gB del VZV, una secuencia de dominio transmembranario de gE del VZV, una secuencia de dominio transmembranario de gI del VZV, una secuencia de dominio transmembranario de gK del VZV, una secuencia de dominio transmembranario de la proteína F del sarampión, una secuencia de dominio transmembranario de la proteína E1 de la rubéola, una secuencia de dominio transmembranario de la proteína E2 de la rubéola, una secuencia de dominio transmembranario de la proteína F de las paperas, una secuencia de dominio transmembranario de la proteína GP del ébola y una secuencia de dominio transmembranario de la rabia.

24. El polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado de una cualquiera de las realizaciones 21-23, en donde la secuencia de dominio transmembranario comprende una secuencia de aminoácidos de acuerdo con una cualquiera de las secuencias de la Tabla 4.

25. El polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado de una cualquiera de las realizaciones 21-24, en donde la secuencia de dominio

transmembranario comprende una secuencia de aminoácidos de acuerdo con una cualquiera de las SEQ ID NO: 208-209.

26. El polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado de una cualquiera de las realizaciones 21-25, en donde el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado comprende una mutación en una o más (p. ej., todas las) posiciones correspondientes a un sitio de N-glucosilación y/o una o más (p. ej., todas las) posiciones correspondientes a un sitio de O-glucosilación en un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* nativo, opcionalmente en donde la mutación es una sustitución de un solo aminoácido.

27. El polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado de la realización 26, en donde el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* comprende una mutación en la posición N166 con respecto a la SEQ ID NO: 203, opcionalmente en donde:

(i) la mutación es una sustitución de un solo aminoácido, p. ej., N166S; y/o

(ii) el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* comprende una sustitución de uno o más residuos de serina (Ser) y/o treonina (Thr).

28. El polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado de una cualquiera de las realizaciones 21-27, en donde

(i) el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado comprende una secuencia de acuerdo con una cualquiera de las SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 207, SEQ ID NO: 43-58, SEQ ID NO: 1-16 o SEQ ID NO: 339-363 (p. ej., la SEQ ID NO: 207, o una secuencia que tiene al menos un 60 %, al menos un 65 %, al menos un 70 %, al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 86 %, al menos un 87 %, al menos un 88 %, al menos un 89 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 85%, 90% o 95%) de identidad con esta; y/o

(ii) el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* comprende una sustitución de aminoácidos en una o más posiciones correspondientes a los residuos 6, 9, 11, 18, 19, 21, 24, 29, 30, 37, 48, 61, 65, 68, 76, 87, 91, 92, 98, 100, 106, 118, 128, 138, 143, 145, 154, 169, 177, 179, 189, 207, 221 y/o 223 de la SEQ ID NO: 203, p. ej., en donde el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* comprende una sustitución de aminoácidos en una o más posiciones correspondientes a los residuos T6 (p. ej., T6I), A9 (p. ej., A9T), S11 (p. ej., S11A), S18 (p. ej., S18N), D19 (p. ej., D19E o D19Y), R21 (p. ej., R21H), I24 (p. ej., I24M, I24L o I24T), A29 (p. ej., A29P), H30 (p. ej., H30R), V37 (p. ej., V37A), D48 (p. ej., D48N), R61 (p. ej., R61H), E65 (p. ej., E65D), A68 (p. ej., A68T), D76 (p. ej., D76N), V87 (p. ej., V87A), I91 (p. ej., I91V), D92 (p. ej., D92G), T98 (p. ej., T98K), T100 (p. ej., T100I), R106 (p. ej., R106S), K118 (p. ej., K118N), S128 (p. ej., S128T), A138 (p. ej., A138T), R143 (p. ej., R143H), E145 (p. ej., E145D o E145K), T154 (p. ej., T154A), K169 (p. ej., K169R), N177 (p. ej., N177D), D179 (p. ej., D179N o D179H), A189 (p. ej., A189E), N207 (p. ej., N207D o N207A), E221 (p. ej., E221K) y/o L223 (p. ej., L223F) de la SEQ ID NO: 203.

29. Una composición, opcionalmente una composición inmunógena, que comprende el ácido nucleico (p. ej., un ARNm) de una cualquiera de las realizaciones 1-20.

30. Una composición inmunógena que comprende un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido CAMP2 de *C. acnes*, en donde el ácido nucleico es un ARNm.

31. Una composición, opcionalmente una composición inmunógena, que comprende un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* y una nanopartícula lipídica (LNP), opcionalmente en donde la secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* se encapsula en la LNP.

32. Una composición, opcionalmente una composición inmunógena, que comprende:

(a) un ácido nucleico (p. ej., un ARNm) que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido CAMP2 de *C. acnes*; y

(b) uno o más de:

(i) un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1 de *C. acnes*;

(ii) un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA2 de *C. acnes*;

(iii) un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido PITP de *C. acnes*;

(iv) un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico; y

(v) un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico.

33. La composición de la realización 32, en donde la composición comprende:

el ácido nucleico de (a) y el ácido nucleico de (b)(i), y opcionalmente el ácido nucleico de (b)(ii) y/o el ácido nucleico de (b)(iii);

el ácido nucleico de (a) y el ácido nucleico de (b)(ii), y opcionalmente el ácido nucleico de (b)(i) y/o el ácido nucleico de (b)(iii);

el ácido nucleico de (a) y el ácido nucleico de (b)(iii), y opcionalmente el ácido nucleico de (b)(i) y/o el ácido nucleico de (b)(ii);

el ácido nucleico de (a) y el ácido nucleico de (b)(iv), y opcionalmente el ácido nucleico de (b)(iii);

el ácido nucleico de (a) y el ácido nucleico de (b)(v); o
el ácido nucleico de (a) y el ácido nucleico de (b)(i)-(iii).

34. La composición de la realización 32 o 33, en donde la
composición comprende el ácido nucleico de (a), el ácido nucleico de (b)(iii)
y el ácido nucleico de (b)(iv), opcionalmente en donde los ácidos nucleicos
están presentes en una relación en peso de 1:1:1.

35. La composición de la realización 34, en donde
el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* comprende una secuencia de
acuerdo con la SEQ ID NO: 203 o una secuencia que tiene al menos un 60
%, al menos un 65 %, al menos un 70 %, al menos un 75 %, al menos un 80
%, al menos un 85 %, al menos un 86 %, al menos un 87 %, al menos un 88
%, al menos un 89 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92
%, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96
%, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % (por ejemplo,
al menos un 85%, 90% o 95%) de identidad con esta;

el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico comprende una
secuencia de acuerdo con la SEQ ID NO: 70 o una secuencia que tiene al
menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al
menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al
menos un 98 %, o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 90 %) de
identidad con esta; y

el polipéptido PITP de *C. acnes* comprende una secuencia de acuerdo
con la SEQ ID NO: 73 o una secuencia que tiene al menos un 75 %, al menos
un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 86 %, al menos un 87 %, al menos un
88 %, al menos un 89 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un
92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un
96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (p. ej., al
menos un 75 %) de identidad con esta.

36. La composición de la realización 32 o 33, en donde la
composición comprende el ácido nucleico de (a) y el ácido nucleico de (b)(v),

opcionalmente en donde el ácido nucleico de b(v) tiene una secuencia de nucleótidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 82 o SEQ ID NO: 83 (p. ej., la SEQ ID NO: 80 o SEQ ID NO: 83).

37. La composición de una cualquiera de las realizaciones 32-35, en donde dos o más ácidos nucleicos cualesquiera de (a) y (b)(i)-(v) están ubicados en la misma molécula de ácido nucleico o en moléculas de ácido nucleico diferentes (p. ej., en donde todos los ácidos nucleicos en la composición están en la misma molécula de ácido nucleico o en donde todos los ácidos nucleicos en la composición son moléculas de ácido nucleico individuales).

38. La composición de la realización 34, en donde el ácido nucleico de (a), el ácido nucleico de (b)(iii) y el ácido nucleico de (b)(iv) están ubicados en la misma molécula de ácido nucleico o moléculas de ácido nucleico separadas.

39. La composición de la realización 35, en donde el ácido nucleico de (a) y el ácido nucleico de (b)(v) están ubicados en la misma molécula de ácido nucleico o moléculas de ácido nucleico separadas.

40. La composición de una cualquiera de las realizaciones 29-31, en donde la composición comprende además uno o más de:

(i) un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1 de *C. acnes*;

(ii) un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA2 de *C. acnes*;

(iii) un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido PITP de *C. acnes*;

(iv) un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico; y

(v) un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico.

41. La composición de la realización 40, en donde la composición comprende:

el ácido nucleico de (i), y opcionalmente el ácido nucleico de (ii) y/o el ácido nucleico de (iii);

el ácido nucleico de (ii), y opcionalmente el ácido nucleico de (i) y/o el ácido nucleico de (iii);

el ácido nucleico de (iii), y opcionalmente el ácido nucleico de (i) y/o el ácido nucleico de (ii);

el ácido nucleico de (iv) y opcionalmente el ácido nucleico de (iii);

el ácido nucleico de (v); o

el ácido nucleico de (i)-(iii).

42. La composición de la realización 40 o 41, en donde la composición comprende el ácido nucleico de (iii) y el ácido nucleico de (iv), opcionalmente en donde los ácidos nucleicos están presentes en una relación en peso de 1:1:1.

43. La composición de la realización 42, en donde:

(i) el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* comprende una secuencia de acuerdo con la SEQ ID NO: 207 o una secuencia que tiene al menos un 50 %, al menos un 55 %, al menos un 60 %, al menos un 65 %, al menos un 70 %, al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % (e.g. al menos un 60 %, tal como al menos un 85 %, 90 % o 95 %) de identidad con esta; el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de

acuerdo con la SEQ ID NO: 70 o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (p. ej., al menos un 90 %) de identidad con esta, y el polipéptido P1TP de *C. acnes* comprende una secuencia de acuerdo con la SEQ ID NO: 73 o una secuencia que tiene al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos 85 %, al menos un 86 %, al menos un 87 %, al menos un 88 %, al menos un 89 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (p. ej., al menos un 75 %) de identidad con esta; o

(ii) la secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* comprende una secuencia de acuerdo con la SEQ ID NO: 91 o una secuencia que tiene al menos un 50 %, al menos un 55 %, al menos un 60 %, al menos un 65 %, al menos un 70 %, al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 86 %, al menos un 87 %, al menos un 88 %, al menos un 89 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 75 %, 80 % o 85 %) de identidad con esta;

la secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimerico comprende una secuencia de acuerdo con la SEQ ID NO: 113 o una secuencia que tiene al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos

un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 75 %) de identidad con esta; y

la secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido PITP de *C. acnes* comprende una secuencia de acuerdo con la SEQ ID NO: 115 o una secuencia que tiene al menos un 50 %, al menos un 55 %, al menos 60 %, al menos un 65 %, al menos un 70 %, al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (p. ej., al menos un 50 %) de identidad con esta.

44. La composición de la realización 40 o 41, en donde la composición comprende el ácido nucleico de (v), opcionalmente en donde el ácido nucleico de (v) comprende una secuencia de nucleótidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 82 o SEQ ID NO: 83 (p. ej., la SEQ ID NO: 80 u 83).

45. La composición de una cualquiera de las realizaciones 40-44, en donde dos o más cualesquiera de (a) el ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones 1-20 y (b) los ácidos nucleicos de (i)-(v) están ubicados en la misma molécula de ácido nucleico o en moléculas de ácido nucleico diferentes (p. ej., en la misma molécula de ácido nucleico).

46. La composición de la realización 45, en donde el ácido nucleico de (a), el ácido nucleico de (b)(iii) y el ácido nucleico de (b)(iv) están ubicados en la misma molécula de ácido nucleico.

47. La composición de una cualquiera de las realizaciones 40-44, en donde dos o más cualesquiera de (a) el ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* y (b) los ácidos nucleicos de (i)-(v) están ubicados en la misma molécula de ácido nucleico o en moléculas de ácido nucleico diferentes (p. ej., en la misma molécula de ácido nucleico).

48. La composición de la realización 47, en donde el ácido nucleico de (a) y el ácido nucleico de (b)(v) están ubicados en la misma molécula de ácido nucleico.

49. La composición de una cualquiera de las realizaciones 29-30 o 32-48, en donde la composición comprende además una nanopartícula lipídica (LNP), opcionalmente en donde uno o más ácidos nucleicos cualquiera están encapsulados en la LNP, por ejemplo, en donde la LNP tiene un diámetro promedio de 30 nM a 200 nM (por ejemplo, un diámetro promedio de 80 nM a 150 nM).

50. La composición de la realización 31 o 49, en donde la LNP comprende al menos un lípido catiónico, opcionalmente en donde el lípido catiónico:

- es biodegradable o no es biodegradable, y/o
- el lípido catiónico es escindible o no escindible.

51. La composición de la realización 49 o 50, en donde el lípido catiónico se selecciona del grupo que consiste en OF-02, cKK-E10, OF-Deg-Lin, GL-HEPES-E3-E10-DS-3-E18-1, GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10, GL-HEPES-E3-E12-DS-3-E14, SM-102, ALC-0315, IM-001 y IS-001.

52. La composición de una cualquiera de las realizaciones 49-51, en donde el lípido catiónico se selecciona del grupo que consiste en OF-02, cKK-E10, GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10 e IS-001, IM-001 (p. ej., en donde el lípido catiónico es GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10).

53. La composición de una cualquiera de las realizaciones 31 o 49-52, en donde la LNP comprende además un lípido conjugado (PEGilado) con polietilenglicol (PEG), un lípido a base de colesterol y un lípido auxiliar, opcionalmente en donde la LNP comprende: un lípido catiónico en una relación molar de un 35 % a 55%; un lípido conjugado (PEGilado) con polietilenglicol (PEGilado) en una relación molar de un 0.25% a 2.75 %; un lípido a base de colesterol en una relación molar de un 20 % a 45 %; y un

lípidos auxiliar en una relación molar de un 5 % a 35 %, donde todas las relaciones molares son relativas al contenido total de lípidos de la LNP,

en donde la LNP comprende: un lípido catiónico en una proporción molar del 40 %; un lípido PEGilado en una proporción molar del 1.5 %; un lípido a base de colesterol en una proporción molar del 28.5 %; y un lípido auxiliar en una proporción molar del 30 %.

54. La composición de una cualquiera de las realizaciones 49-53, en donde dos o más (p. ej., tres) ácidos nucleicos cualesquiera se coencapsulan en una única LNP.

55. La composición de una cualquiera de las realizaciones 49-53, en donde dos o más (p. ej., tres) ácidos nucleicos cualesquiera se encapsulan en LNP separadas.

56. La composición de una cualquiera de las realizaciones 29-55, en donde el ARNm comprende una caperuza en 5', al menos una región no traducida en 5' (5' UTR), al menos una región no traducida en 3' (3' UTR) y/o al menos una secuencia de poliadenilación (poli(A)).

57. La composición de una cualquiera de las realizaciones 29-56, en donde el ARNm no está modificado o:

(i) el ARNm comprende al menos una modificación química, opcionalmente en donde la modificación química se selecciona del grupo que consiste en, p. ej., 1-metiladenina, 2-metiladenina, 2-metiltio-N-6-isopenteniladenina, N6-metiladenina, N6-isopenteniladenina, 2-tiocitosina, 3-metilcitosina, 4-acetilcitosina, 5-metilcitosina, 2,6-diaminopurina, 1-metilguanina, 2-metilguanina, 2,2-dimetilguanina, 7-metilguanina, inosina, 1-metilinosina, pseudouracilo (5-uracilo), dihidrouracilo, 2-tiouracilo, 4-tiouracilo, 5-carboximetilaminometil-2-tiouracilo, 5-(carboxihidroximetil)uracilo, 5-fluorouracilo, 5-bromouracilo, 5-carboximetilaminometiluracilo, 5-metil-2-tiouracilo, 5-metiluracilo, éster metílico del ácido N-uracil-5-oxiacético, 5-

metilaminometiluracilo, 5-metoxiaminometil-2-tiouracilo, 5'-metoxycarbonilmetiluracilo, 5-metoxiuracilo, éster metílico del ácido uracil-5-oxiacético, ácido uracil-5-oxiacético (v), 1-metilpseudouracilo, queosina, β -D-manosilqueosina, fosforamidatos, fosforotioatos, nucleótidos peptídicos, metilfosfonatos, 7-desazaguanosina, 5-metilcitosina e inosina (p. ej., en donde la modificación química comprende N1-metilpseudouridina); y/o

(ii) el ARNm se sintetiza a partir de análogos de nucleótidos modificados o derivados de purinas y pirimidinas, opcionalmente en donde los análogos de nucleótidos modificados o derivados de purinas y pirimidinas se seleccionan del grupo que consiste en: 1-metiladenina, 2-metiladenina, 2-metiltio-N-6-isopenteniladenina, N6-metiladenina, N6-isopenteniladenina, 2-tiocitosina, 3-metilcitosina, 4-acetilcitosina, 5-metilcitosina, 2,6-diaminopurina, 1-metilguanina, 2-metilguanina, 2,2-dimetilguanina, 7-metilguanina, inosina, 1-metilinosina, pseudouracilo (5-uracilo), dihidrouracilo, 2-tiouracilo, 4-tiouracilo, 5-carboximetilaminometil-2-tiouracilo, 5-(carboxihidroximetil)uracilo, 5-fluorouracilo, 5-bromouracilo, 5-carboximetilaminometiluracilo, 5-metil-2-tiouracilo, 5-metiluracilo, éster metílico del ácido N-uracil-5-oxiacético, 5-metilaminometiluracilo, 5-metoxiaminometil-2-tiouracilo, 5'-metoxycarbonilmetiluracilo, 5-metoxiuracilo, éster metílico del ácido uracil-5-oxiacético, ácido uracil-5-oxiacético (v), 1-metilpseudouracilo, queosina, β -D-manosilqueosina, fosforamidatos, fosforotioatos, nucleótidos peptídicos, metilfosfonatos, 7-desazaguanosina, 5-metilcitosina e inosina.

58. La composición de una cualquiera de las realizaciones 29-57, en donde el ARNm comprende al menos una modificación química (por ejemplo, en donde al menos un 20 %, al menos un 30 %, al menos un 40 %, 30

al menos un 50 %, al menos un 60 %, al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 95 %, o el 100 % de las uridinas en el ARNm están modificadas químicamente), opcionalmente en donde la modificación química comprende N1-metilpseudouridina, por ejemplo, en lugar de cada uridina.

59. La composición de una cualquiera de las realizaciones 29-58, en donde el ARNm es un ARNm autorreplicante o un ARNm no replicante, por ejemplo, en donde el ARNm es un ARNm no replicante.

60. La composición de una cualquiera de las realizaciones 29 a 59, en donde la composición puede estar en una forma líquida congelada o en una forma liofilizada (por ejemplo, en una forma liofilizada).

61. Una composición, opcionalmente una composición inmunógena, que comprende el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado como se define en una cualquiera de las realizaciones 21-28.

62. La composición de la realización 61, en donde la composición comprende además un polipéptido DsA1 de *C. acnes*.

63. La composición de la realización 61 o 62, en donde la composición comprende además un polipéptido DsA2 de *C. acnes*.

64. La composición de cualquiera de las realizaciones 61-63, en donde la composición comprende además un polipéptido PITP de *C. acnes*.

65. La composición de cualquiera de las realizaciones 61-64, en donde la composición comprende además un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico.

66. La composición de cualquiera de las realizaciones 61-65, en donde la composición comprende además un polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico.

67. La composición de la realización 61, en donde la composición comprende además un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico y un polipéptido PITP de *C. acnes*.

68. Una composición, opcionalmente una composición inmunógena, que comprende:

(a) un polipéptido CAMP2 de *C. acnes*; y

(b) uno o más de:

(i) un polipéptido DsA1 de *C. acnes*,

(ii) un polipéptido DsA2 de *C. acnes*,

(iii) un polipéptido PITP de *C. acnes*,

(iv) un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico y

(v) un polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico.

69. La composición de la realización 68, en donde la composición comprende:

el polipéptido de (a) y el polipéptido de (b)(i), y opcionalmente el polipéptido de (b)(ii) y/o el polipéptido de (b)(iii);

el polipéptido de (a) y el polipéptido de (b)(ii), y opcionalmente el polipéptido de (b)(i) y/o el polipéptido de (b)(iii);

el polipéptido de (a) y el polipéptido de (b)(iii), y opcionalmente el polipéptido de (b)(i) y/o el polipéptido de (b)(ii);

el polipéptido de (a) y el polipéptido de (b)(iv), y opcionalmente el polipéptido de (b)(iii);

el polipéptido de (a) y el polipéptido de (b)(v); o

el polipéptido de (a) y el polipéptido de (b)(i)-(iii).

70. La composición de una cualquiera de las realizaciones 61-69, en donde la composición comprende además un adyuvante, opcionalmente en donde el adyuvante se selecciona del grupo que consiste en: Adyuvante a base de aluminio (p. ej., AlOOH), adyuvantes de emulsión de aceite en agua a base de escualeno (p. ej., AF03, AS03, MF59) y adyuvantes a base de liposomas que comprenden una saponina y un agonista de TLR4 (p. ej., SPA14, AS01, LEQ), además opcionalmente en donde el adyuvante se selecciona del grupo que consiste en AlOOH, AF03 y SPA14.

71. La composición de una cualquiera de las realizaciones 29-70, en donde uno o más del polipéptido CAMP2 de *C. acnes*, el polipéptido DsA1 de *C. acnes*, el polipéptido DsA2 de *C. acnes*, el polipéptido PITP de *C. acnes*, el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico y el polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico comprende además:

(i) una secuencia de dominio transmembrana no nativa (por ejemplo, una secuencia de dominio transmembrana viral; y/o

(ii) una secuencia de péptido señal de secreción no nativa.

72. La composición de una cualquiera de las realizaciones 61-71, en donde la composición puede estar en una forma líquida congelada o en una forma liofilizada.

73. Una combinación que comprende:

(a) un ácido nucleico (p. ej., un ARNm) que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido CAMP2 de *C. acnes*; y

(b) uno o más de:

(i) un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1 de *C. acnes*;

(ii) un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA2 de *C. acnes*;

(iii) un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido PITP de *C. acnes*;

(iv) un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico; y

(v) un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico.

74. La combinación de la realización 73, en donde la combinación comprende:

el ácido nucleico de (a) y el ácido nucleico de (b)(i), y
opcionalmente el ácido nucleico de (b)(ii) y/o el ácido nucleico de
(b)(iii);

el ácido nucleico de (a) y el ácido nucleico de (b)(ii), y
opcionalmente el ácido nucleico de (b)(i) y/o el ácido nucleico de
(b)(iii);

el ácido nucleico de (a) y el ácido nucleico de (b)(iii), y
opcionalmente el ácido nucleico de (b)(i) y/o el ácido nucleico de (b)(ii);

el ácido nucleico de (a) y el ácido nucleico de (b)(iv), y
opcionalmente el ácido nucleico de (b)(iii);

el ácido nucleico de (a) y el ácido nucleico de (b)(v); o

el ácido nucleico de (a) y el ácido nucleico de (b)(i)-(iii).

75. La combinación de la realización 73 o 74, en donde la
combinación comprende el ácido nucleico de (a), el ácido nucleico de (b)(iii)
y el ácido nucleico de (b)(iv).

76. La combinación de la realización 73 o 74, en donde la
combinación comprende el ácido nucleico de (a) y el ácido nucleico de (b)(v).

77. La combinación de una cualquiera de las realizaciones 73-76,
en donde dos o más ácidos nucleicos cualesquiera de (a) y (b)(i)-(v) están
ubicados en la misma molécula de ácido nucleico o en moléculas de ácido
nucleico diferentes (p. ej., en donde todos los ácidos nucleicos en la
composición están en la misma molécula de ácido nucleico o en donde todos
los ácidos nucleicos en la composición son moléculas de ácido nucleico
individuales).

78. La combinación de la realización 75, en donde el ácido nucleico
de (a), el ácido nucleico de (b)(iii) y el ácido nucleico de (b)(iv) están ubicados
en la misma molécula de ácido nucleico o en moléculas de ácido nucleico
individuales.

79. La combinación de la realización 76, donde el ácido nucleico en (a) y el ácido nucleico en (b)(v) se ubican en la misma molécula de ácido nucleico.

80. Una combinación que comprende el ácido nucleico (p. ej., un ARNm) de una cualquiera de las realizaciones 1-20 y uno o más de:

(i) un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1 de *C. acnes*;

(ii) un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA2 de *C. acnes*;

(iii) un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido PITP de *C. acnes*;

(iv) un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico; y

(v) un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico.

81. La combinación de la realización 80, en donde la combinación comprende:

el ácido nucleico de (i), y opcionalmente el ácido nucleico de (ii) y/o el ácido nucleico de (iii);

el ácido nucleico de (ii), y opcionalmente el ácido nucleico de (i) y/o el ácido nucleico de (iii);

el ácido nucleico de (iii), y opcionalmente el ácido nucleico de (i) y/o el ácido nucleico de (ii);

el ácido nucleico de (iv) y opcionalmente el ácido nucleico de (b)(iii);

el ácido nucleico de (v); o

el ácido nucleico de (i)-(iii).

82. La combinación de la realización 80 u 81, en donde la combinación comprende el ácido nucleico de (iii) y el ácido nucleico de (iv).

83. La combinación de la realización 80 u 81, en donde la combinación comprende el ácido nucleico de (v).

84. La combinación de una cualquiera de las realizaciones 80-83, en donde dos o más cualesquiera de (a) el ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones 1-20 y (b) los ácidos nucleicos de (i)-(v) están ubicados en la misma molécula de ácido nucleico o en moléculas de ácido nucleico diferentes (p. ej., en la misma molécula de ácido nucleico).

85. La combinación de la realización 84, en donde el ácido nucleico de (a), el ácido nucleico de (b)(iii) y el ácido nucleico de (b)(iv) están ubicados en la misma molécula de ácido nucleico o moléculas de ácido nucleico separadas.

86. La combinación de la realización 84, en donde el ácido nucleico de (a) y el ácido nucleico de (b)(v) están ubicados en la misma molécula de ácido nucleico o moléculas de ácido nucleico separadas.

87. Una combinación que comprende el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* modificado como se define en una cualquiera de las realizaciones 21-28 y uno o más de:

- (i) un polipéptido DsA1 de *C. acnes*;
- (ii) un polipéptido DsA2 de *C. acnes*;
- (iii) un polipéptido PITP de *C. acnes*;
- (iv) un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico; y
- (v) un polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico.

88. La combinación de la realización 87, en donde la combinación comprende:

el polipéptido de (i), y opcionalmente el polipéptido de (ii) y/o el polipéptido de (iii);

el polipéptido de (ii), y opcionalmente el polipéptido de (i) y/o el polipéptido de (iii);

el polipéptido de (iii), y opcionalmente el polipéptido de (i) y/o el polipéptido de (ii);

el polipéptido de (iv) y opcionalmente el polipéptido de (iii);

el polipéptido de (v); o

el polipéptido de (i)-(iii).

89. Una combinación, opcionalmente una combinación inmunógena, que comprende:

(a) un polipéptido CAMP2 de *C. acnes*; y

(b) uno o más de:

(i) un polipéptido DsA1 de *C. acnes*,

(ii) un polipéptido DsA2 de *C. acnes*,

(iii) un polipéptido PITP de *C. acnes*,

(iv) un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico y

(v) un polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico.

90. La combinación de la realización 89, en donde la combinación comprende:

el polipéptido de (a) y el polipéptido de (b)(i), y opcionalmente el polipéptido de (b)(ii) y/o el polipéptido de (b)(iii);

el polipéptido de (a) y el polipéptido de (b)(ii), y opcionalmente el polipéptido de (b)(i) y/o el polipéptido de (b)(iii);

el polipéptido de (a) y el polipéptido de (b)(iii), y opcionalmente el polipéptido de (b)(i) y/o el polipéptido de (b)(ii);

el polipéptido de (a) y el polipéptido de (b)(iv), y opcionalmente el polipéptido de (iii);

el polipéptido de (a) y el polipéptido de (b)(v); o

el polipéptido de (a) y el polipéptido de (b)(i)-(iii).

91. La combinación de una cualquiera de las realizaciones 73-90, en donde el uno o más del polipéptido CAMP2 de *C. acnes*, el polipéptido DsA1 de *C. acnes*, el polipéptido DsA2 de *C. acnes*, el polipéptido PITP de *C. acnes*, el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico y el polipéptido

DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico comprenden además una secuencia de dominio transmembranario no nativa (p. ej., una secuencia de dominio transmembranario vírico).

92. La combinación de una cualquiera de las realizaciones 73-91, en donde el uno o más del polipéptido CAMP2 de *C. acnes*, el polipéptido DsA1 de *C. acnes*, el polipéptido DsA2 de *C. acnes*, el polipéptido PITP de *C. acnes*, el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico y el polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico comprenden además una secuencia de péptido señal de secreción no nativa.

93. La combinación de una cualquiera de las realizaciones 73-92, en donde los ácidos nucleicos están presentes en la misma composición.

94. La combinación de una cualquiera de las realizaciones 73-92, en donde los ácidos nucleicos están presentes en dos o más composiciones separadas.

95. La combinación de una cualquiera de las realizaciones 89-92, en donde los polipéptidos están presentes en la misma composición.

96. La combinación de una cualquiera de las realizaciones 89-92, en donde los polipéptidos están presentes en dos o más composiciones separadas.

97. Un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico, en donde el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de aminoácidos que comprende:

(i) la secuencia de la SEQ ID NO: 70, o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 90 %) de identidad con la SEQ ID NO: 70; y

(ii) una secuencia de péptido señal de secreción, p. ej., una secuencia de péptido señal de secreción no nativa y/o un dominio transmembranario heterólogo,

opcionalmente en donde el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de acuerdo con la SEQ ID NO: 28 o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 90 %) de identidad con la SEQ ID NO: 28.

98. El ácido nucleico de la realización 97 en donde el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de péptido señal de secreción no nativa.

99. El ácido nucleico de la realización 97 o 98, en donde la secuencia de péptido señal de secreción se sitúa en el extremo N o el extremo C (p. ej., el extremo N) del polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico.

100. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones 97-99, en donde el dominio transmembranario heterólogo se sitúa en el extremo N o el extremo C (p. ej., el extremo C) del polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico.

101. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones 97-100, en donde el ácido nucleico comprende:

(i) una secuencia de la SEQ ID NO: 113 o una secuencia que tiene al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 75 %) de identidad con la SEQ ID NO: 113;
o

(ii) una secuencia de la SEQ ID NO: 179 o una secuencia que tiene al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 75 %) de identidad con la SEQ ID NO: 179.

102. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones 97-101, en donde el ácido nucleico es un ARNm.

103. Un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico que comprende (i) la secuencia de la SEQ ID NO: 70, o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 90 %) de identidad con la SEQ ID NO: 70; y (ii) un dominio transmembranario heterólogo.

104. El polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico de la realización 103, en donde el dominio transmembranario heterólogo se sitúa en el extremo N o el extremo C (p. ej., el extremo C) del polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico.

105. El polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico de una cualquiera de las realizaciones 103-104, en donde el polipéptido comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 28 o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 90 %) de identidad con la SEQ ID NO: 28.

106. Un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido PITP de *C. acnes*, en donde el polipéptido PITP de *C. acnes* comprende una secuencia de aminoácidos que comprende:

(i) la secuencia de la SEQ ID NO: 73, o una secuencia que tiene al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 86 %, al menos un 87 %, al menos un 88 %, al menos un 89 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 75 %) de identidad con esta; y

(ii) una secuencia de péptido señal de secreción, p. ej., una secuencia de péptido señal de secreción no nativa y/o un dominio transmembranario heterólogo,

opcionalmente en donde el polipéptido PITP de *C. acnes* comprende una secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 31 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 86 %, al menos un 87 %, al menos un 88 %, al menos un 89 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % (p. ej., al menos un 75 %) de identidad con la SEQ ID NO: 31.

107. El ácido nucleico de la realización 106, en donde el polipéptido PITP de *C. acnes* comprende una secuencia de péptido señal de secreción no nativa.

108. El ácido nucleico de la realización 106 o 107, en donde el dominio transmembranario heterólogo se sitúa en el extremo N o el extremo C (p. ej., el extremo C) del polipéptido PITP de *C. acnes*.

109. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones 106-108, en donde la secuencia de péptido señal de secreción se sitúa en el extremo N o el extremo C (p. ej., el extremo N) del polipéptido PITP de *C. acnes*.

110. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones 106-109, en donde el ácido nucleico comprende una secuencia de la SEQ ID NO:

115 o una secuencia de la SEQ ID NO: 182 o una secuencia que tiene al menos un 50 %, al menos un 55 %, al menos un 60 %, al menos un 65 %, al menos un 70 %, al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (p. ej., al menos un 75 %) de identidad con la SEQ ID NO: 115 o SEQ ID NO: 182.

111. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones 106-110, en donde el ácido nucleico es ARNm.

112. Un polipéptido PITP de *C. acnes* que comprende (i) la secuencia de la SEQ ID NO: 73, o una secuencia que tiene al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 86 %, al menos un 87 %, al menos un 88 %, al menos un 89 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % (p. ej., al menos un 75 %) de identidad con la SEQ ID NO: 73 y (ii) un dominio transmembranario heterólogo.

113. El polipéptido PITP de *C. acnes* de la realización 112, en donde el dominio transmembranario heterólogo se sitúa en el extremo N o el extremo C (p. ej., el extremo C) del polipéptido PITP de *C. acnes*.

114. El polipéptido PITP de *C. acnes* de una cualquiera de las realizaciones 112-113, en donde el polipéptido comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 31 o una secuencia que tiene al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 86 %, al menos un 87 %, al menos un 88 %, al menos un 89 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % (p. ej., al menos un 75 %) de identidad con la SEQ ID NO: 31.

115. Un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes*

quimérico, en donde el polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de aminoácidos que comprende:

(i) una secuencia de polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico que comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 70, o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 90 %) de identidad con la SEQ ID NO: 70; y

(ii) una secuencia de polipéptido PITP de *C. acnes*;

y en donde (i) y (ii) se codifican en la misma molécula de ácido nucleico.

116. El ácido nucleico de la realización 115, en donde la secuencia de polipéptido PITP de *C. acnes* comprende una secuencia de aminoácidos correspondiente a los residuos 1 a 133 de la SEQ ID NO: 206 o una secuencia que tiene al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 86 %, al menos un 87 %, al menos un 88 %, al menos un 89 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (p. ej., al menos un 75 %) de identidad con esta.

117. El ácido nucleico de la realización 116, en donde la secuencia de polipéptido PITP de *C. acnes* consiste en una secuencia de aminoácidos correspondiente a los residuos 1 a 133 de la SEQ ID NO: 206 o una secuencia que tiene al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 86 %, al menos un 87 %, al menos un 88 %, al menos un 89 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (p. ej., al menos un 75 %) de identidad con esta.

118. El ácido nucleico de la realización 115 o 116, en donde la secuencia de polipéptido PITP de *C. acnes* comprende una secuencia de aminoácidos correspondiente a los residuos 1 a 146 de la SEQ ID NO: 206 o una secuencia que tiene al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos 5 85 %, al menos un 86 %, al menos un 87 %, al menos un 88 %, al menos un 89 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (p. ej., al menos un 75 %) de identidad con esta.

10 119. El ácido nucleico de la realización 115 o 116, en donde la secuencia de polipéptido PITP de *C. acnes* consiste en una secuencia de aminoácidos correspondiente a los residuos 1 a 146 de la SEQ ID NO: 206 o una secuencia que tiene al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos 85 %, al menos un 86 %, al menos un 87 %, al menos un 88 %, al menos un 15 89 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (p. ej., al menos un 75 %) de identidad con esta.

120. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones 115- 20 119, en donde el ácido nucleico comprende una secuencia de una cualquiera de las SEQ ID NO: 189 o 192 o una secuencia que tiene al menos un 50 %, al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % 25 o al menos un 99 % (p. ej., al menos un 85 %) de identidad con una cualquiera de las SEQ ID NO: 189 o 192.

121. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones 115- 30 120, en donde el polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* químérico comprende además una secuencia de péptido señal de secreción (p. ej., una secuencia de péptido señal de secreción vírica).

122. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones 115-121, en donde el polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico comprende además una secuencia de dominio transmembranario heterólogo.

5 123. Un polipéptido DsA1/DsA2/PITP quimérico que comprende una secuencia de aminoácidos que comprende:

(i) una secuencia de polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico que comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 70, o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 90 %) de identidad con la SEQ ID NO: 70; y

(ii) una secuencia de polipéptido PITP de *C. acnes*.

15 124. El polipéptido DsA1/DsA2/PITP quimérico de la realización 123, en donde la secuencia de polipéptido PITP de *C. acnes* comprende una secuencia de aminoácidos correspondiente a los residuos 1 a 133 de la SEQ ID NO: 206.

20 125. El polipéptido DsA1/DsA2/PITP quimérico de la realización 123, en donde la secuencia de polipéptido PITP de *C. acnes* consiste en una secuencia de aminoácidos correspondiente a los residuos 1 a 133 de la SEQ ID NO: 206.

25 126. El polipéptido DsA1/DsA2/PITP quimérico de la realización 123, en donde la secuencia de polipéptido PITP de *C. acnes* comprende una secuencia de aminoácidos correspondiente a los residuos 1 a 146 de la SEQ ID NO: 206.

30 127. El polipéptido DsA1/DsA2/PITP quimérico de la realización 123, en donde la secuencia de polipéptido PITP de *C. acnes* consiste en una secuencia de aminoácidos correspondiente a los residuos 1 a 146 de la SEQ ID NO: 206.

128. El polipéptido DsA1/DsA2/PITP quimérico de una cualquiera de las realizaciones 123-127, en donde el polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de aminoácidos de acuerdo con una cualquiera de las SEQ ID NO: 80, 82 o 83 (p. ej., la SEQ ID NO: 80 u 83) o una secuencia que tiene al menos un 75 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 95 %) de identidad con cualquiera de las SEQ ID NO: 80, 82 o 83 (p. ej., la SEQ ID NO: 80 u 83).

129. El polipéptido DsA1/DsA2/PITP quimérico de una cualquiera de las realizaciones 123-128 en donde el polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico comprende además una secuencia de dominio transmembranario heterólogo.

130. El polipéptido DsA1/DsA2/PITP quimérico de una cualquiera de las realizaciones 123-129, en donde (i) es un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico, que comprende opcionalmente la secuencia de la SEQ ID NO: 70, o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 90 %) de identidad con la SEQ ID NO: 70.

131. El polipéptido DsA1/DsA2/PITP quimérico de una cualquiera de las realizaciones 123-130, en donde el polipéptido comprende una secuencia de la SEQ ID NO: 80, 82 o 83 (p. ej., la SEQ ID NO: 80 u 83) o una secuencia que tiene al menos un 50 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad con la misma (por ejemplo, al menos un 95 %).

132. Una composición que comprende:

(i) un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1 de *C. acnes*;

(ii) un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA2 de *C. acnes*; y

(iii) un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido PITP de *C. acnes*.

5 133. Una composición que comprende (i) un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico y (ii) un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido PITP de *C. acnes*,
10 opcionalmente en donde los ácidos nucleicos están presentes en una relación en peso de 1:1.

 134. Una composición que comprende un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico.

15 135. La composición de una cualquiera de las realizaciones 133-134, en donde dos o más ácidos nucleicos cualesquiera están ubicados en la misma molécula de ácido nucleico.

 136. La composición de una cualquiera de las realizaciones 133-134, en donde dos o más ácidos nucleicos cualesquiera están ubicados en moléculas de ácido nucleico diferentes.

20 137. La composición de una cualquiera de las realizaciones 133 a 136, en donde la composición comprende además una nanopartícula lipídica (LNP), opcionalmente en donde uno o más ácidos nucleicos cualquiera están encapsulados en la LNP, por ejemplo, en donde la LNP tiene un diámetro promedio de 30 nM a 200 nM (por ejemplo, un diámetro promedio de 80 nM
25 a 150 nM).

 138. La composición de una cualquiera de las realizaciones 137, en donde la LNP comprende al menos un lípido catiónico, opcionalmente en donde el lípido catiónico

- 30 - es biodegradable o no es biodegradable, y/o
- el lípido catiónico es escindible o no escindible.

139. La composición de una cualquiera de las realizaciones 137-138, en donde el lípido catiónico se selecciona del grupo que consiste en OF-02, cKK-E10, OF-Deg-Lin, GL-HEPES-E3-E10-DS-3-E18-1, GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10, GL-HEPES-E3-E12-DS-3-E14, SM-102, ALC-0315, IM-001 e IS-001.

140. La composición de una cualquiera de las realizaciones 137-139, en donde el lípido catiónico se selecciona del grupo que consiste en OF-02, cKK-E10, GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10, IM-001 and IS-001 (por ejemplo, en donde el lípido catiónico es GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10).

141. La composición de una cualquiera de las realizaciones 137-140, donde la LNP comprende además un lípido conjugado (PEGilado) con polietilenglicol (PEG), un lípido a base de colesterol y un lípido auxiliar, opcionalmente donde la LNP comprende: un lípido catiónico en una relación molar de un 35 % a 55 %; un lípido conjugado (PEGilado) con polietilenglicol (PEGilado) en una relación molar de un 0.25 % a 2.75 %; un lípido a base de colesterol en una relación molar de un 20 % a 45 %; y un lípido auxiliar en una relación molar de un 5 % a 35 %, donde todas las relaciones molares son relativas al contenido total de lípidos de la LNP,

en donde la LNP comprende: un lípido catiónico en una proporción molar de un 40 %; un lípido PEGilado en una proporción molar de un 1.5 %; un lípido a base de colesterol en una proporción molar de un 28.5 %; y un lípido auxiliar en una proporción molar de un 30 %.

142. La composición de la realización 137-141, en donde dos o más ácidos nucleicos cualesquiera se coencapsulan en una única LNP.

143. La composición de una cualquiera de las realizaciones 137-142, en donde dos o más ácidos nucleicos cualesquiera se coencapsulan en LNP separadas.

144. La composición de una cualquiera de las realizaciones 133-143, en donde uno o más ácidos nucleicos es un ARNm, opcionalmente en donde cada uno de los ácidos nucleicos es un ARNm.

145. La composición de una cualquiera de las realizaciones 133 a 144, en donde la composición puede estar en una forma líquida congelada o en una forma liofilizada (por ejemplo, en una forma liofilizada).

146. Una composición que comprende:

- (i) un polipéptido DsA1 de *C. acnes*;
- (ii) un polipéptido DsA2 de *C. acnes*; y
- (iii) un polipéptido PITP de *C. acnes*.

147. Una composición que comprende un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico y un polipéptido PITP de *C. acnes*.

148. Una composición que comprende un polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico.

149. La composición de una cualquiera de las realizaciones 146-148, en donde la composición es una composición inmunógena.

150. La composición de una cualquiera de las realizaciones 146-149, en donde la composición comprende además un adyuvante.

151. La composición de la realización 150, en donde el adyuvante se selecciona del grupo que consiste en: Adyuvante basado en aluminio (por ejemplo, ALOOH), adyuvantes de emulsión de aceite en agua a base de escualeno (por ejemplo, AF03, AS03, MF59) y adyuvantes basados en liposomas que comprenden una saponina y un agonista de TLR4 (por ejemplo, SPA14, AS01, LEQ), por ejemplo, en donde el adyuvante se selecciona del grupo que consiste en ALOOH, AF03 y SPA14.

152. La composición de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 148-151, en donde la composición puede estar en una forma líquida congelada o en una forma liofilizada (por ejemplo, en una forma liofilizada).

153. La composición de una cualquiera de las realizaciones 133-152, en donde el polipéptido DsA1 de *C. acnes* comprende además una secuencia de péptido señal de secreción (p. ej., una secuencia de péptido señal de secreción vírica).

154. La composición de una cualquiera de las realizaciones 133-153, en donde el polipéptido DsA2 de *C. acnes* comprende además una secuencia de péptido señal de secreción (p. ej., una secuencia de péptido señal de secreción vírica).

5 155. La composición de una cualquiera de las realizaciones 133-154, en donde el polipéptido PITP de *C. acnes* comprende además una secuencia de péptido señal de secreción (p. ej., una secuencia de péptido señal de secreción vírica).

10 156. La composición de una cualquiera de las realizaciones 133-155, en donde el polipéptido DsA1/DsA2 quimérico de *C. acnes* comprende además una secuencia de péptido señal de secreción (p. ej., una secuencia de péptido señal de secreción vírica).

15 157. La composición de una cualquiera de las realizaciones 133-153, en donde el polipéptido DsA1/DsA2/PITP quimérico de *C. acnes* comprende además una secuencia de péptido señal de secreción (p. ej., una secuencia de péptido señal de secreción vírica).

158. La composición de una cualquiera de las realizaciones 133-157, en donde el polipéptido DsA1 de *C. acnes* comprende además una secuencia de dominio transmembranario heterólogo.

20 159. La composición de una cualquiera de las realizaciones 133-158, en donde el polipéptido DsA2 de *C. acnes* comprende además una secuencia de dominio transmembranario heterólogo.

25 160. La composición de una cualquiera de las realizaciones 133-159, en donde el polipéptido PITP de *C. acnes* comprende además una secuencia de dominio transmembranario heterólogo.

161. La composición de una cualquiera de las realizaciones 133-160, en donde el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico comprende además una secuencia de dominio transmembranario heterólogo.

30 162. La composición de una cualquiera de las realizaciones 133-161, en donde el polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico

comprende además una secuencia de dominio transmembranario heterólogo.

163. Una combinación que comprende:

(i) un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1 de *C. acnes*;

(ii) un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA2 de *C. acnes*; y

(iii) un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido PITP de *C. acnes*.

164. Una combinación que comprende (i) un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico y (ii) un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido PITP de *C. acnes*.

165. La combinación de una cualquiera de las realizaciones 163 o 164, en donde dos o más ácidos nucleicos cualesquiera están ubicados en la misma molécula de ácido nucleico.

166. La combinación de una cualquiera de las realizaciones 163-164, en donde dos o más ácidos nucleicos cualesquiera están ubicados en moléculas de ácido nucleico diferentes.

167. La combinación de una cualquiera de las realizaciones 163-166, en donde uno o más ácidos nucleicos cualesquiera es un ARNm.

168. La combinación de una cualquiera de las realizaciones 163-167, en donde cada uno de los ácidos nucleicos es un ARNm.

169. Una combinación que comprende:

(i) un polipéptido DsA1 de *C. acnes*;

(ii) un polipéptido DsA2 de *C. acnes*; y

(iii) un polipéptido PITP de *C. acnes*.

170. Una combinación que comprende un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico y un polipéptido PITP de *C. acnes*.

171. La combinación de la realización 169 o 170 en donde el polipéptido DsA1 de *C. acnes* comprende además una secuencia de péptido señal de secreción (p. ej., una secuencia de péptido señal de secreción vírica).

5 172. La combinación de una cualquiera de las realizaciones 169-171, en donde el polipéptido DsA2 de *C. acnes* comprende además una secuencia de péptido señal de secreción (p. ej., una secuencia de péptido señal de secreción vírica).

10 173. La combinación de una cualquiera de las realizaciones 169-172, en donde el polipéptido PITP de *C. acnes* comprende además una secuencia de péptido señal de secreción (p. ej., una secuencia de péptido señal de secreción vírica).

15 174. La combinación de una cualquiera de las realizaciones 169-173, en donde el polipéptido DsA1/DsA2 quimérico de *C. acnes* comprende además una secuencia de péptido señal de secreción (p. ej., una secuencia de péptido señal de secreción vírica).

20 175. La combinación de una cualquiera de las realizaciones 169-174, en donde el polipéptido DsA1 de *C. acnes* comprende además una secuencia de dominio transmembranario heterólogo.

20 176. La combinación de una cualquiera de las realizaciones 169-175, en donde el polipéptido DsA2 de *C. acnes* comprende además una secuencia de dominio transmembranario heterólogo.

25 177. La combinación de la realización una cualquiera de las realizaciones 169-176, en donde el polipéptido PITP de *C. acnes* comprende además una secuencia de dominio transmembranario heterólogo.

178. La combinación de una cualquiera de las realizaciones 169-177, en donde el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico comprende además una secuencia de dominio transmembranario heterólogo.

179. La combinación de una cualquiera de las realizaciones 169-178, en donde los ácidos nucleicos están presentes en la misma composición.

180. La combinación de una cualquiera de las realizaciones 169-178, en donde los ácidos nucleicos están presentes en dos o más composiciones separadas.

181. La combinación de una cualquiera de las realizaciones 169-177, en donde los polipéptidos están presentes en la misma composición.

182. La combinación de una cualquiera de las realizaciones 169-177, en donde los polipéptidos están presentes en dos o más composiciones separadas.

183. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones anteriores, la composición de una cualquiera de las realizaciones anteriores o la combinación de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde la secuencia de péptido señal de secreción comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en: una secuencia de péptido señal de secreción de la hemaglutinina (HA) de la gripe, una secuencia de péptido señal de secreción de la espícula del SARS CoV-2, una secuencia de péptido señal de secreción de gB del VZV, una secuencia de péptido señal de secreción de gE del VZV, una secuencia de péptido señal de secreción de gI del VZV, una secuencia de péptido señal de secreción de gK del VZV, una secuencia de péptido señal de secreción de la proteína F del sarampión, una secuencia de péptido señal de secreción de la proteína E1 de la rubéola, una secuencia de péptido señal de secreción de la proteína E2 de la rubéola, una secuencia de péptido señal de secreción de la proteína F de las paperas, una secuencia de péptido señal de secreción de la proteína GP del ébola, una secuencia de péptido señal de secreción de la proteína IC de 6 kDa de la viruela y una secuencia de péptido señal de secreción de la proteína G de la rabia.

184. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones anteriores, la composición de una cualquiera de las realizaciones anteriores o la combinación de una cualquiera de las realizaciones anteriores en donde la secuencia de nucleótidos que codifica la secuencia de péptido señal de secreción comprende una secuencia de acuerdo con una cualquiera de las secuencias de la Tabla 2 o Tabla 3.

185. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones anteriores, la composición de una cualquiera de las realizaciones anteriores o la combinación de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde la secuencia de péptido señal de secreción comprende una secuencia de aminoácidos de acuerdo con una cualquiera de las SEQ ID NO: 210-211.

186. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones anteriores, el polipéptido de una cualquiera de las realizaciones anteriores, la composición de una cualquiera de las realizaciones anteriores o la combinación de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el dominio transmembranario heterólogo comprende una secuencia de dominio transmembranario vírico, opcionalmente en donde la secuencia de dominio transmembranario vírico se selecciona del grupo que consiste en: una secuencia de dominio transmembranario de la hemaglutinina (HA) de la gripe, una secuencia de dominio transmembranario de la espícula del SARS CoV-2, una secuencia de dominio transmembranario de gB del VZV, una secuencia de dominio transmembranario de gE del VZV, una secuencia de dominio transmembranario de gI del VZV, una secuencia de dominio transmembranario de gK del VZV, una secuencia de dominio transmembranario de la proteína F del sarampión, una secuencia de dominio transmembranario de la proteína E1 de la rubéola, una secuencia de dominio transmembranario de la proteína E2 de la rubéola, una secuencia de dominio transmembranario de la proteína F de las paperas, una secuencia de dominio transmembranario de la proteína GP del ébola y una secuencia de dominio transmembranario de la rabia.

187. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones anteriores, el polipéptido de una cualquiera de las realizaciones anteriores, la composición de una cualquiera de las realizaciones anteriores o la combinación de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el dominio transmembranario comprende una secuencia de aminoácidos de acuerdo con una cualquiera de las secuencias de la Tabla 4.

188. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones anteriores, el polipéptido de una cualquiera de las realizaciones anteriores, la composición de una cualquiera de las realizaciones anteriores o la combinación de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde la secuencia de dominio transmembranario comprende una secuencia de aminoácidos de acuerdo con una cualquiera de las SEQ ID NO: 208-209.

189. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones anteriores o la composición de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el ARNm comprende una caperuza en 5', al menos una región no traducida en 5' (5' UTR), al menos una región no traducida en 3' (3' UTR) y/o al menos una secuencia de poliadenilación (poli(A)).

190. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones anteriores o la composición de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el ARNm no está modificado.

191. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones anteriores o la composición de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde:

(i) el ARNm comprende al menos una modificación química, opcionalmente en donde la modificación química se selecciona del grupo que consiste en, p. ej., 1-metiladenina, 2-metiladenina, 2-metiltio-N-6-isopenteniladenina, N6-metiladenina, N6-isopenteniladenina, 2-tiocitosina, 3-metilcitosina, 4-acetilcitosina, 5-metilcitosina, 2,6-diaminopurina, 1-metilguanina, 2-metilguanina, 2,2-dimetilguanina, 7-metilguanina, inosina, 1-

metilinosina, pseudouracilo (5-uracilo), dihidrouracilo, 2-tiouracilo, 4-tiouracilo, 5-carboximetilaminometil-2-tiouracilo, 5-(carboxihidroximetil)uracilo, 5-fluorouracilo, 5-bromouracilo, 5-carboximetilaminometiluracilo, 5-metil-2-tiouracilo, 5-metiluracilo, éster metílico del ácido N-uracil-5-oxiacético, 5-metilaminometiluracilo, 5-metoxiaminometil-2-tiouracilo, 5'-metoxycarbonilmetiluracilo, 5-metoxiuracilo, éster metílico del ácido uracil-5-oxiacético, ácido uracil-5-oxiacético (v), 1-metilpseudouracilo, queosina, β -D-manosilqueosina, fosforamidatos, fosforotioatos, nucleótidos peptídicos, metilfosfonatos, 7-desazaguanosina, 5-metilcitosina e inosina (p. ej., en donde la modificación química comprende N1-metilpseudouridina), opcionalmente donde al menos un 20 %, al menos un 30 %, al menos un 40 %, al menos un 50 %, al menos un 60 %, al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 95 % o un 100 % de las uridinas del ARNm están modificadas químicamente); y/o

(ii) el ARNm se sintetiza a partir de análogos de nucleótidos modificados o derivados de purinas y pirimidinas, opcionalmente en donde los análogos de nucleótidos modificados o derivados de purinas y pirimidinas se seleccionan del grupo que consiste en: 1-metiladenina, 2-metiladenina, 2-metiltio-N-6-isopenteniladenina, N6-metiladenina, N6-isopenteniladenina, 2-tiocitosina, 3-metilcitosina, 4-acetilcitosina, 5-metilcitosina, 2,6-diaminopurina, 1-metilguanina, 2-metilguanina, 2,2-dimetilguanina, 7-metilguanina, inosina, 1-metilinosina, pseudouracilo (5-uracilo), dihidrouracilo, 2-tiouracilo, 4-tiouracilo, 5-carboximetilaminometil-2-tiouracilo, 5-(carboxihidroximetil)uracilo, 5-fluorouracilo, 5-bromouracilo, 5-carboximetilaminometiluracilo, 5-metil-2-tiouracilo, 5-metiluracilo, éster metílico del ácido N-uracil-5-oxiacético, 5-

metilaminometiluracilo, 5-metoxiaminometil-2-tiouracilo, 5'-metoxycarbonilmetiluracilo, 5-metoxiuracilo, éster metílico del ácido uracil-5-oxiacético, ácido uracil-5-oxiacético (v), 1-metilpseudouracilo, queosina, β -D-manosilqueosina, fosforamidatos, fosforotioatos, nucleótidos peptídicos, metilfosfonatos, 7-desazaguanosina, 5-metilcitosina e inosina.

192. El ácido nucleico o la composición de la realización 191, en donde la modificación química del ARNm comprende N1-metilpseudouridina, p. ej., en lugar de cada uridina.

193. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones anteriores o la composición de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el ARNm es un ARNm autorreplicante.

194. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones anteriores o la composición de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el ARNm es un ARNm no replicante.

195. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones anteriores, el polipéptido de una cualquiera de las realizaciones anteriores, la composición de una cualquiera de las realizaciones anteriores o la combinación de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el polipéptido DsA1 de *C. acnes* comprende una mutación en una o más (p. ej., todas las) posiciones correspondientes a un sitio de N-glucosilación y/o una mutación en una o más (p. ej., todas las) posiciones correspondientes a un sitio de O-glucosilación en el polipéptido DsA1 de *C. acnes* nativo, opcionalmente en donde la mutación es una sustitución de un solo aminoácido.

196. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones anteriores, el polipéptido de una cualquiera de las realizaciones anteriores, la composición de una cualquiera de las realizaciones anteriores o la combinación de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el polipéptido DsA1 de *C. acnes* comprende una sustitución de un solo

aminoácido en una o más (p. ej., todas las) posiciones correspondientes a un residuo de cisteína en el polipéptido DsA1 de *C. acnes* nativo, opcionalmente en donde la sustitución de un solo aminoácido es una sustitución de cisteína por serina.

5 197. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones anteriores, el polipéptido de una cualquiera de las realizaciones anteriores, la composición de una cualquiera de las realizaciones anteriores o la combinación de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el polipéptido DsA2 de *C. acnes* comprende una mutación en una o más (p. ej.,
10 todas las) posiciones correspondientes a un sitio de N-glucosilación y/o una mutación en una o más (p. ej., todas las) posiciones correspondientes a un sitio de O-glucosilación en el polipéptido DsA2 de *C. acnes* nativo, opcionalmente en donde la mutación es una sustitución de un solo aminoácido.

15 198. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones anteriores, el polipéptido de una cualquiera de las realizaciones anteriores, la composición de una cualquiera de las realizaciones anteriores o la combinación de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el polipéptido DsA2 de *C. acnes* comprende una sustitución de un solo
20 aminoácido en una o más (p. ej., todas las) posiciones correspondientes a un residuo de cisteína en el polipéptido DsA2 de *C. acnes* nativo, opcionalmente en donde la sustitución de un solo aminoácido es una sustitución de cisteína por serina.

25 199. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones anteriores, el polipéptido de una cualquiera de las realizaciones anteriores, la composición de una cualquiera de las realizaciones anteriores o la combinación de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el polipéptido P1TP de *C. acnes* comprende una mutación en una o más (p. ej.,
30 todas las) posiciones correspondientes a un sitio de N-glucosilación y/o una mutación en una o más (p. ej., todas las) posiciones correspondientes a un

sitio de O-glucosilación en el polipéptido PITP de *C. acnes* nativo, opcionalmente en donde la mutación es una sustitución de un solo aminoácido.

200. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones anteriores, el polipéptido de una cualquiera de las realizaciones anteriores, la composición de una cualquiera de las realizaciones anteriores o la combinación de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el polipéptido PITP de *C. acnes* comprende una sustitución de un solo aminoácido en una o más (p. ej., todas las) posiciones correspondientes a un residuo de cisteína en el polipéptido PITP de *C. acnes* nativo, opcionalmente en donde la sustitución de un solo aminoácido es una sustitución de cisteína por serina.

201. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones anteriores, el polipéptido de una cualquiera de las realizaciones anteriores, la composición de una cualquiera de las realizaciones anteriores o la combinación de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico comprende una mutación en una o más (p. ej., todas las) posiciones correspondientes a un sitio de N-glucosilación y/o una mutación en una o más (p. ej., todas las) posiciones correspondientes a un sitio de O-glucosilación en el respectivo polipéptido DsA1 de *C. acnes* nativo y/o en el respectivo polipéptido DsA2 de *C. acnes* nativo, opcionalmente en donde la mutación es una sustitución de un solo aminoácido.

202. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones anteriores, el polipéptido de una cualquiera de las realizaciones anteriores, la composición de una cualquiera de las realizaciones anteriores o la combinación de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico comprende una sustitución de un solo aminoácido en una o más (p. ej., todas las) posiciones correspondientes a un residuo de cisteína en el respectivo polipéptido DsA1

de *C. acnes* nativo y/o en el respectivo polipéptido DsA2 de *C. acnes* nativo, opcionalmente en donde la sustitución de un solo aminoácido es una sustitución de cisteína por serina.

203. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones anteriores, el polipéptido de una cualquiera de las realizaciones anteriores, la composición de una cualquiera de las realizaciones anteriores o la combinación de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico comprende una mutación en una o más (p. ej., todas las) posiciones correspondientes a un sitio de N-glucosilación y/o una mutación en una o más (p. ej., todas las) posiciones correspondientes a un sitio de O-glucosilación en el respectivo polipéptido DsA1 de *C. acnes* nativo, en el respectivo polipéptido DsA2 de *C. acnes* nativo y/o en el respectivo polipéptido PITP de *C. acnes* nativo, opcionalmente en donde la mutación es una sustitución de un solo aminoácido.

204. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones anteriores, el polipéptido de una cualquiera de las realizaciones anteriores, la composición de una cualquiera de las realizaciones anteriores o la una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico comprende una sustitución de un solo aminoácido en una o más (p. ej., todas las) posiciones correspondientes a un residuo de cisteína en el respectivo polipéptido DsA1 de *C. acnes* nativo, en el respectivo polipéptido DsA2 de *C. acnes* nativo y/o en el respectivo polipéptido PITP de *C. acnes* nativo, opcionalmente en donde la sustitución de un solo aminoácido es una sustitución de cisteína por serina.

205. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones anteriores, el polipéptido de una cualquiera de las realizaciones anteriores, la composición de una cualquiera de las realizaciones anteriores o la combinación de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* comprende una mutación en una o más (p.

ej., todas las) posiciones correspondientes a un sitio de N-glucosilación y/o una mutación en una o más (p. ej., todas las) posiciones correspondientes a un sitio de O-glucosilación en el respectivo polipéptido CAMP2 de *C. acnes* nativo, opcionalmente en donde la mutación es una sustitución de un solo aminoácido.

206. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones anteriores, el polipéptido de una cualquiera de las realizaciones anteriores, la composición de una cualquiera de las realizaciones anteriores o la combinación de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* comprende una sustitución de un solo aminoácido en una o más (p. ej., todas las) posiciones correspondientes a un residuo de cisteína en el respectivo polipéptido CAMP2 de *C. acnes* nativo, opcionalmente en donde la sustitución de un solo aminoácido es una sustitución de cisteína por serina.

207. La composición de una cualquiera de las realizaciones anteriores o la combinación de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el polipéptido DsA1 de *C. acnes* comprende la secuencia de una cualquiera de las SEQ ID NO: 204, SEQ ID NO: 17-19 o SEQ ID NO: 59-61, o una secuencia que tiene al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 86 %, al menos un 87 %, al menos un 88 %, al menos un 89 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % (p. ej., al menos un 75 %) de identidad con una cualquiera de las SEQ ID NO: 204, SEQ ID NO: 17-19 o SEQ ID NO: 59-61.

208. La composición de una cualquiera de las realizaciones anteriores o la combinación de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el polipéptido DsA2 de *C. acnes* comprende la secuencia de una cualquiera de las SEQ ID NO: 205, SEQ ID NO: 20-27 o SEQ ID NO: 62-69, o una secuencia que tiene al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos

un 85 %, al menos un 86 %, al menos un 87 %, al menos un 88 %, al menos un 89 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % (p. ej., al menos un 75 %) de identidad con una cualquiera de las SEQ ID NO: 205, SEQ ID NO: 20-27 o SEQ ID NO: 62-69.

209. La composición de una cualquiera de las realizaciones anteriores o la combinación de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el polipéptido PITP de *C. acnes* comprende la secuencia de acuerdo con una cualquiera de las SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 31-37 o SEQ ID NO: 73-79, o una secuencia que tiene al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 86 %, al menos un 87 %, al menos un 88 %, al menos un 89 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % (p. ej., al menos un 75 %) de identidad con una cualquiera de las SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 31-37 o SEQ ID NO: 73-79.

210. La composición de una cualquiera de las realizaciones anteriores o la combinación de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 28-30, SEQ ID NO: 39 o SEQ ID NO: 70-72 o SEQ ID NO: 81 (p. ej., la SEQ ID NO: 70), o una secuencia que tiene al menos un 90%, al menos un 91%, al menos un 92%, al menos un 93%, al menos un 94%, al menos un 95%, al menos un 96%, al menos un 97%, al menos un 98% o al menos un 99% (por ejemplo, al menos un 90%) de identidad con una cualquiera de la SEQ ID NO: 28-30, SEQ ID NO: 39 o SEQ ID NO: 70-72 o SEQ ID NO: 81.

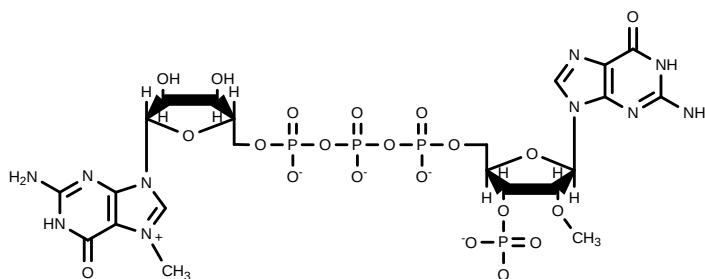
211. La composición de una cualquiera de las realizaciones anteriores o la combinación de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el polipéptido DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico comprende

la secuencia de la SEQ ID NO: 80, 82 o 83 (p. ej., la SEQ ID NO: 80 u 83), o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 75 %) de identidad con la SEQ ID NO: 80, 82 o 83 (p. ej., la SEQ ID NO: 80 u 83).

212. La composición de una cualquiera de las realizaciones anteriores o la combinación de una cualquiera de las realizaciones anteriores, en donde el polipéptido CAMP2 de *C. acnes* comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 203, o una secuencia que tiene al menos un 60 %, al menos un 65 %, al menos un 70 %, al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 86 %, al menos un 87 %, al menos un 88 %, al menos un 89 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (p. ej., al menos un 60 %, tal como al menos un 85 %) de identidad con la SEQ ID NO: 203.

213. Un ARNm que comprende o que consiste en (p. ej., que consiste en) los siguientes elementos estructurales:

(i) una caperuza en 5' con la siguiente estructura:



(ii) una región no traducida en 5' (5' UTR) que tiene la secuencia de ácido nucleico de acuerdo con la SEQ ID NO: 265;

(iii) una región codificante de proteína que tiene la secuencia de ácido nucleico de acuerdo con una cualquiera de las SEQ ID NO: 90-91 o SEQ ID NO: 391-392 (p. ej., la SEQ ID NO: 91);

(iv) una región no traducida en 3' (3' UTR) que tiene la secuencia de ácido nucleico de acuerdo con la SEQ ID NO: 266; y

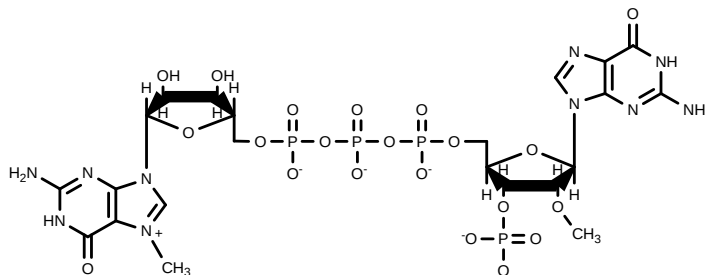
(v) una cola de poliA, opcionalmente en donde la cola de poliA comprende al menos 75 nucleótidos de adenosina (tal como alrededor de 80 nucleótidos de adenosina) o al menos 100 nucleótidos de adenosina (tal como alrededor de 115 nucleótidos de adenosina), por ejemplo, en donde la cola de poliA comprende al menos 100 nucleótidos de adenosina.

214. El ARNm de la realización 213, en donde el ARNm está modificado químicamente y en donde la modificación química comprende o consiste en (p. ej., consiste en) N1-metilpseudouridina en lugar de cada uridina.

215. El ARNm de la realización 213 o 214, en donde el extremo 3' de (i) se une directamente al extremo 5' de (ii) mediante un enlace fosfodiéster de 3' a 5'; el extremo 3' de (ii) se une directamente al extremo 5' de (iii) mediante un enlace fosfodiéster de 3' a 5'; el extremo 3' de (iii) se une directamente al extremo 5' de (iv) mediante un enlace fosfodiéster de 3' a 5'; y el extremo 3' de (iv) se une directamente al extremo 5' de (v) mediante un enlace fosfodiéster de 3' a 5'.

216. Un ARNm que comprende o que consiste en (p. ej., que consiste en) los siguientes elementos estructurales:

(i) una caperuza en 5' con la siguiente estructura:



(ii) una región no traducida en 5' (5' UTR) que tiene la secuencia de ácido nucleico de acuerdo con la SEQ ID NO: 265;

(iii) una región codificante de proteína que tiene la secuencia de ácido nucleico de acuerdo con la SEQ ID NO: 113;

(iv) una región no traducida en 3' (3' UTR) que tiene la secuencia de ácido nucleico de acuerdo con la SEQ ID NO: 266; y

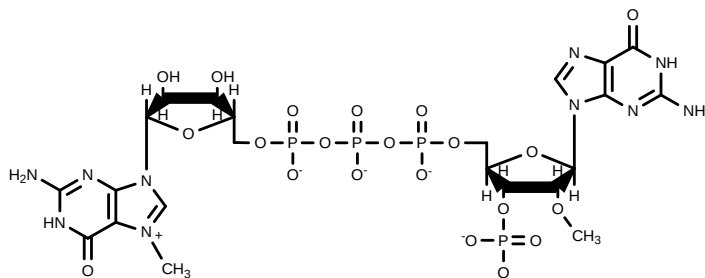
(v) una cola de poliA, opcionalmente en donde la cola de poliA comprende al menos 75 nucleótidos de adenosina (tal como alrededor de 80 nucleótidos de adenosina) o al menos 100 nucleótidos de adenosina (tal como alrededor de 115 nucleótidos de adenosina), por ejemplo, en donde la cola de poliA comprende al menos 100 nucleótidos de adenosina.

217. El ARNm de la realización 216, en donde el ARNm está modificado químicamente y en donde la modificación química comprende o consiste en (p. ej., consiste en) N1-metilpseudouridina en lugar de cada uridina.

218. El ARNm de la realización 216 o 217, en donde el extremo 3' de (i) se une directamente al extremo 5' de (ii) mediante un enlace fosfodiéster de 3' a 5'; el extremo 3' de (ii) se une directamente al extremo 5' de (iii) mediante un enlace fosfodiéster de 3' a 5'; el extremo 3' de (iii) se une directamente al extremo 5' de (iv) mediante un enlace fosfodiéster de 3' a 5'; y el extremo 3' de (iv) se une directamente al extremo 5' de (v) mediante un enlace fosfodiéster de 3' a 5'.

219. Un ARNm que comprende o que consiste en (p. ej., que consiste en) los siguientes elementos estructurales:

(i) una caperuza en 5' con la siguiente estructura:



(ii) una región no traducida en 5' (5' UTR) que tiene la secuencia de ácido nucleico de acuerdo con la SEQ ID NO: 265;

(iii) una región codificante de proteína que tiene la secuencia de ácido nucleico de acuerdo con la SEQ ID NO: 115;

(iv) una región no traducida en 3' (3' UTR) que tiene la secuencia de ácido nucleico de acuerdo con la SEQ ID NO: 266; y

(v) una cola de poliA, opcionalmente en donde la cola de poliA comprende al menos 75 nucleótidos de adenosina (tal como alrededor de 80 nucleótidos de adenosina) o al menos 100 nucleótidos de adenosina (tal como alrededor de 115 nucleótidos de adenosina), por ejemplo, en donde la cola de poliA comprende al menos 100 nucleótidos de adenosina.

220. El ARNm de la realización 219, en donde el ARNm está modificado químicamente y en donde la modificación química comprende o consiste en (p. ej., consiste en) N1-metilpseudouridina en lugar de cada uridina.

221. El ARNm de la realización 219 o 220, en donde el extremo 3' de (i) se une directamente al extremo 5' de (ii) mediante un enlace fosfodiéster de 3' a 5'; el extremo 3' de (ii) se une directamente al extremo 5' de (iii) mediante un enlace fosfodiéster de 3' a 5'; el extremo 3' de (iii) se une directamente al extremo 5' de (iv) mediante un enlace fosfodiéster de 3' a 5'; y el extremo 3' de (iv) se une directamente al extremo 5' de (v) mediante un enlace fosfodiéster de 3' a 5'.

222. Una LNP que encapsula el ARNm de una cualquiera de las realizaciones 213-215.

223. Una LNP que encapsula el ARNm de una cualquiera de las realizaciones 216-218.

224. Una LNP que encapsula el ARNm de una cualquiera de las realizaciones 219-221.

225. Una LNP que encapsula el ARNm de una cualquiera de las realizaciones 213-215 y el ARNm de una cualquiera de las realizaciones 216-218, opcionalmente en donde los ARNm están presentes en una relación en peso de 1:1.

226. Una LNP que encapsula el ARNm de una cualquiera de las realizaciones 213-215 y el ARNm de una cualquiera de las realizaciones 219-221, opcionalmente en donde los ARNm están presentes en una relación en peso de 1:1.

227. Una LNP que encapsula el ARNm de una cualquiera de las realizaciones 216-218 y el ARNm de una cualquiera de las realizaciones 219-221, opcionalmente en donde los ARNm están presentes en una relación en peso de 1:1.

228. Una LNP que encapsula el ARNm de una cualquiera de las realizaciones 213-215, el ARNm de una cualquiera de las realizaciones 216-218 y el ARNm de una cualquiera de las realizaciones 219-221, opcionalmente en donde los ARNm están presentes en una relación en peso de 1:1:1.

229. Una composición (p. ej., una composición inmunógena) que comprende el ARNm de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 213-221.

230. La composición de la realización 229, en donde la composición comprende:

(i) el ARNm de una cualquiera de las realizaciones 213-215 y el ARNm de una cualquiera de las realizaciones 216-218, opcionalmente en donde los ARNm están presentes en una relación en peso de 1:1, además opcionalmente en donde los ARNm se coencapsulan en la misma LNP;

(ii) el ARNm de una cualquiera de las realizaciones 216-218 y el ARNm de una cualquiera de las realizaciones 219-221, opcionalmente en donde los ARNm están presentes en una relación

en peso de 1:1, además opcionalmente en donde los ARNm se coencapsulan en la misma LNP;

(iii) el ARNm de una cualquiera de las realizaciones 213-215 y el ARNm de una cualquiera de las realizaciones 219-221, opcionalmente en donde los ARNm están presentes en una relación en peso de 1:1, además opcionalmente en donde los ARNm se coencapsulan en la misma LNP; o

(iv) el ARNm de una cualquiera de las realizaciones 213-215, el ARNm de una cualquiera de las realizaciones 216-218 y el ARNm de una cualquiera de las realizaciones 219-221, opcionalmente en donde los ARNm están presentes en una relación en peso de 1:1:1, además opcionalmente en donde los ARNm se coencapsulan en la misma LNP.

231. La composición de la realización 229 o 230, en donde la composición comprende el ARNm de la realización 213 y el ARNm de la realización 216, opcionalmente en donde cada ARNm comprende al menos una modificación química (p. ej., en donde al menos un 20 %, al menos un 30 %, al menos un 40 %, al menos un 50 %, al menos un 60 %, al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 95 %, o el 100 % de las uridinas en el ARNm están modificadas químicamente), por ejemplo, en donde la modificación química comprende N1-metilpseudouridina, preferiblemente en donde todas las uridinas se sustituyen con N1-metilpseudouridina.

232. La composición de la realización 229 o 230, en donde la composición comprende el ARNm de la realización 213 y el ARNm de la realización 219, opcionalmente en donde cada ARNm comprende al menos una modificación química (p. ej., en donde al menos un 20 %, al menos un 30 %, al menos un 40 %, al menos un 50 %, al menos un 60 %, al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 95 %, o el 100 % de las uridinas en el ARNm están modificadas

químicamente), por ejemplo, en donde la modificación química comprende N1-metilpseudouridina, preferiblemente en donde todas las uridinas se sustituyen con N1-metilpseudouridina.

233. La composición de la realización 229 o 230, en donde la composición comprende el ARNm de la realización 216 y el ARNm de la realización 219, opcionalmente en donde cada ARNm comprende al menos una modificación química (p. ej., en donde al menos un 20 %, al menos un 30 %, al menos un 40 %, al menos un 50 %, al menos un 60 %, al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 95 %, o el 100 % de las uridinas en el ARNm están modificadas químicamente), por ejemplo, en donde la modificación química comprende N1-metilpseudouridina, preferiblemente en donde todas las uridinas se sustituyen con N1-metilpseudouridina.

234. Una composición (p. ej., una composición inmunógena) que comprende las LNP de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 222-228.

235. La composición de la realización 229 o 230 o la LNP de una cualquiera de las realizaciones 222-228, en donde:

(i) la LNP comprende al menos un lípido catiónico, opcionalmente en donde el lípido catiónico

- es biodegradable o no es biodegradable, y/o
- el lípido catiónico es escindible o no escindible; y

(ii) el lípido catiónico se selecciona del grupo que consiste en OF-02, cKK-E10, GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10, IM-001 e IS-001, opcionalmente en donde el lípido catiónico es GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10.

236. La composición o la LNP de la realización 235, en donde la LNP comprende GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10 en una relación molar del 40 %, DMG-PEG2000 en una relación molar del 1.5 %, colesterol en una relación molar del 28.5 % y DOPE en una relación molar del 30 %.

237. La composición de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 29-60, 132-145, 183-212 o 229-236, en donde la composición comprende 1-300 μg del uno o más ácidos nucleicos (p. ej., ARNm), tal como aproximadamente 2.5 μg , aproximadamente 5 μg , aproximadamente 7.5 μg , aproximadamente 10 μg , aproximadamente 12.5 μg , aproximadamente 15 μg , aproximadamente 30 μg , aproximadamente 45 μg , aproximadamente 60 μg , aproximadamente 75 μg , aproximadamente 90 μg , aproximadamente 105 μg , aproximadamente 120 μg , aproximadamente 135 μg , aproximadamente 150 μg , aproximadamente 165 μg , aproximadamente 180 μg , aproximadamente 195 μg , aproximadamente 210 μg o aproximadamente 225 μg del uno o más ácidos nucleicos (p. ej., ARNm).

238. La composición de acuerdo con la realización 237, en donde la composición comprende 40-50 μg (p. ej., aproximadamente 45 μg) del uno o más ácidos nucleicos (p. ej., ARNm).

239. La composición de acuerdo con la realización 237, en donde la composición comprende 110-140 μg (p. ej., aproximadamente 120 μg) del uno o más ácidos nucleicos (p. ej., ARNm).

240. La composición de acuerdo con la realización 237, en donde la composición comprende 200-250 μg (p. ej., aproximadamente 225 μg) del uno o más ácidos nucleicos de ARNm).

241. Una composición de vacuna que comprende el ácido nucleico (p. ej., ARNm) de una cualquiera de las realizaciones anteriores, el polipéptido de una cualquiera de las realizaciones anteriores o la combinación de una cualquiera de las realizaciones anteriores.

242. El ácido nucleico (p. ej., ARNm) de una cualquiera de las realizaciones anteriores, el polipéptido de una cualquiera de las realizaciones anteriores, la composición de una cualquiera de las realizaciones anteriores o la combinación de una cualquiera de las realizaciones anteriores para el uso como un medicamento.

243. El uso del ácido nucleico (p. ej., ARNm) de una cualquiera de las realizaciones anteriores, el polipéptido de una cualquiera de las realizaciones anteriores, la composición de una cualquiera de las realizaciones anteriores o la combinación de una cualquiera de las realizaciones anteriores para la fabricación de un medicamento.

244. Un método de tratamiento o prevención de una enfermedad que comprende administrar el ácido nucleico (p. ej., ARNm) de una cualquiera de las realizaciones anteriores, el polipéptido de una cualquiera de las realizaciones anteriores, la composición de una cualquiera de las realizaciones anteriores o la combinación de una cualquiera de las realizaciones anteriores a un sujeto que lo necesite.

245. El ácido nucleico (p. ej., ARNm) de una cualquiera de las realizaciones anteriores, el polipéptido de una cualquiera de las realizaciones anteriores, la composición de una cualquiera de las realizaciones anteriores o la combinación de una cualquiera de las realizaciones anteriores para el uso en un método de tratamiento o prevención de una infección por *C. acnes* (p. ej., una infección por *C. acnes* moderada o grave) en un sujeto (p. ej., un ser humano).

246. El uso del ácido nucleico (p. ej., ARNm) de una cualquiera de las realizaciones anteriores, el polipéptido de una cualquiera de las realizaciones anteriores, la composición de una cualquiera de las realizaciones anteriores o la combinación de una cualquiera de las realizaciones anteriores para la fabricación de un medicamento para tratar o prevenir una infección por *C. acnes* (p. ej., una infección por *C. acnes* moderada o grave) en un sujeto (p. ej., un ser humano).

247. Un método de tratamiento o prevención de una infección por *C. acnes* (p. ej., una infección por *C. acnes* moderada o grave) que comprende administrar el ácido nucleico (p. ej., ARNm) de una cualquiera de las realizaciones anteriores, el polipéptido de una cualquiera de las realizaciones anteriores, la composición de una cualquiera de las realizaciones anteriores

o la combinación de una cualquiera de las realizaciones anteriores a un sujeto (p. ej., un ser humano) que lo necesite.

248. El ácido nucleico (p. ej., ARNm) de una cualquiera de las realizaciones anteriores, el polipéptido de una cualquiera de las realizaciones anteriores, la composición de una cualquiera de las realizaciones anteriores o la combinación de una cualquiera de las realizaciones anteriores para el uso en un método de tratamiento o prevención del acné (p. ej., acné leve, moderado o grave) en un sujeto (p. ej., un ser humano).

249. El uso del ácido nucleico (p. ej., ARNm) de una cualquiera de las realizaciones anteriores, el polipéptido de una cualquiera de las realizaciones anteriores, la composición de una cualquiera de las realizaciones anteriores o la combinación de una cualquiera de las realizaciones anteriores para la fabricación de un medicamento para tratar o prevenir el acné (p. ej., acné leve, moderado o grave) en un sujeto (p. ej., un ser humano).

250. Un método de tratamiento o prevención del acné (p. ej., acné leve, moderado o grave) que comprende administrar el ácido nucleico (p. ej., ARNm) de una cualquiera de las realizaciones anteriores, el polipéptido de una cualquiera de las realizaciones anteriores, la composición de una cualquiera de las realizaciones anteriores o la combinación de una cualquiera de las realizaciones anteriores a un sujeto (p. ej., un ser humano) que lo necesite.

251. El ácido nucleico (p. ej., ARNm) de una cualquiera de las realizaciones anteriores, el polipéptido de una cualquiera de las realizaciones anteriores, la composición de una cualquiera de las realizaciones anteriores o la combinación de una cualquiera de las realizaciones anteriores para el uso en un método de inducción de una respuesta inmunitaria en un sujeto, opcionalmente en donde el sujeto es un sujeto humano.

252. El uso del ácido nucleico (p. ej., ARNm) de una cualquiera de las realizaciones anteriores, el polipéptido de una cualquiera de las

realizaciones anteriores, la composición de una cualquiera de las realizaciones anteriores o la combinación de una cualquiera de las realizaciones anteriores para la fabricación de un medicamento para inducir una respuesta inmunitaria en un sujeto, opcionalmente en donde el sujeto es un sujeto humano.

253. Un método de inducción de una respuesta inmunitaria en un sujeto que comprende administrar el ácido nucleico (p. ej., ARNm) de una cualquiera de las realizaciones anteriores, el polipéptido de una cualquiera de las realizaciones anteriores, la composición de una cualquiera de las realizaciones anteriores o la combinación de una cualquiera de las realizaciones anteriores al sujeto.

254. El método de una cualquiera de las realizaciones 244, 247, 250 o 253, en donde el método comprende:

(i) administrar una dosis del ácido nucleico, el polipéptido, la composición o la combinación; o

(ii) administrar dos dosis del ácido nucleico, el polipéptido, la composición o la combinación, opcionalmente en donde las dos dosis se administran en un intervalo de dos meses entre sí, p. ej., en donde la administración es de acuerdo con (ii).

255. El ácido nucleico, el polipéptido, la composición o la combinación para el uso de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 242, 245, 248 o 251, en donde el método comprende:

(i) administrar una dosis del ácido nucleico, el polipéptido, la composición o la combinación; o

(ii) administrar dos dosis del ácido nucleico, el polipéptido, la composición o la combinación, opcionalmente en donde las dos dosis se administran en un intervalo de dos meses entre sí.

256. El uso del ácido nucleico, el polipéptido, la composición o la combinación de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 243, 246, 249 o 252, en donde el tratamiento o la prevención comprende:

(i) administrar una dosis del ácido nucleico, el polipéptido, la composición o la combinación; o

(ii) administrar dos dosis del ácido nucleico, el polipéptido, la composición o la combinación, opcionalmente en donde las dos dosis se administran en un intervalo de dos meses entre sí.

257. El método de una cualquiera de las realizaciones 244, 247, 250, 253 o 254, el ácido nucleico, el polipéptido, la composición o la combinación para el uso de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 242, 245, 248, 251 o 255, o el uso del ácido nucleico, el polipéptido, la composición o la combinación de una cualquiera de las realizaciones 243, 246, 249, 252 o 256, en donde el método comprende administrar el polipéptido, ácido nucleico, composición o combinación.

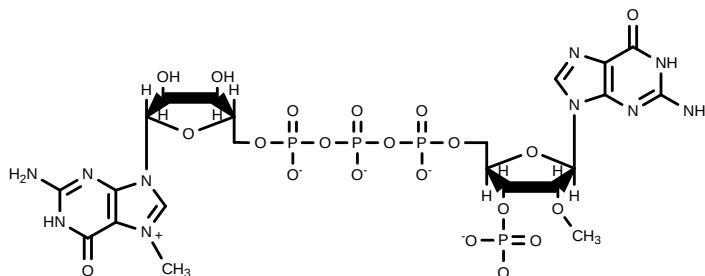
(i) por vía intramuscular; o

(ii) mediante inyección cutánea (p. ej., en la epidermis, la dermis o la hipodermis de la piel), tal como intradérmicamente, opcionalmente con un dispositivo adecuado para inyección cutánea, tal como una aguja (p. ej., una aguja epidérmica, dérmica o hipodérmica), un dispositivo sin aguja, un dispositivo con micronajua o un dispositivo con matriz de microproyección.

258. El método de una cualquiera de las realizaciones 244, 247, 250, 253, 254 o 257, el ácido nucleico, el polipéptido, la composición o la combinación para el uso de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 242, 245, 248, 251, 255 o 257, o el uso del ácido nucleico, el polipéptido, la composición o la combinación de una cualquiera de las realizaciones 243, 246, 249, 252, 256 o 257, en donde el sujeto es un sujeto humano y en donde el sujeto tiene una edad de entre 9 y 45 años o entre 12 y 45 años (por ejemplo, entre 18 y 45 años).

259. Un ARNm que comprende o que consiste en (p. ej., que consiste en) los siguientes elementos estructurales:

(i) una caperuza en 5' con la siguiente estructura:



(ii) una región no traducida en 5' (5' UTR) que tiene la secuencia de ácido nucleico de acuerdo con la SEQ ID NO: 265;

(iii) una región codificante de proteína que tiene la secuencia de ácido nucleico de acuerdo con una cualquiera de las SEQ ID NO: 87-89;

(iv) una región no traducida en 3' (3' UTR) que tiene la secuencia de ácido nucleico de acuerdo con la SEQ ID NO: 266; y

(v) una cola de poliA.

260. El ARNm de la realización 259, en donde el ARNm está modificado químicamente y en donde la modificación química comprende o consiste en (p. ej., consiste en) N1-metilpseudouridina en lugar de cada uridina.

261. El ARNm de la realización 259 o 260, en donde el extremo 3' de (i) se une directamente al extremo 5' de (ii) mediante un enlace fosfodiéster de 3' a 5'; el extremo 3' de (ii) se une directamente al extremo 5' de (iii) mediante un enlace fosfodiéster de 3' a 5'; el extremo 3' de (iii) se une directamente al extremo 5' de (iv) mediante un enlace fosfodiéster de 3' a 5'; y el extremo 3' de (iv) se une directamente al extremo 5' de (v) mediante un enlace fosfodiéster de 3' a 5'.

262. Una LNP que encapsula el ARNm de las realizaciones 259-261.

263. Un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico, en donde el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende:

(a) un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico, por ejemplo, como se describe en una cualquiera de las realizaciones 97-105;

(b) un fragmento inmunogénico de un polipéptido PITP de *C. acnes*, opcionalmente en donde el fragmento inmunogénico comprende una ENFD de un polipéptido PITP de *C. acnes*; y

(c) un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* o un fragmento inmunógeno del mismo.

264. El ácido nucleico de la realización 263, en donde el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico comprende:

(A) (1) un CSD2 de un polipéptido DsA1 de *C. acnes* y (2) un CSD1 y/o un CSD3 de un polipéptido DsA2 de *C. acnes*; o

(B) (1) un CSD2 de un polipéptido DsA2 de *C. acnes* y (2) un CSD1 y/o un CSD3 de un polipéptido DsA1 de *C. acnes*.

265. El ácido nucleico de la realización 264, en donde el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico es como se define en (B).

266. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones 263-265, en donde el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende un CSD1 de un polipéptido DsA1 de *C. acnes*, un CSD2 de un polipéptido DsA2 de *C. acnes* y un CSD3 de un polipéptido DsA1 de *C. acnes*.

267. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones 263-266, en donde el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico de (a) comprende una secuencia de acuerdo con la SEQ ID NO: 70 o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 90 %) de identidad con esta.

268. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones 263-267, en donde el fragmento inmunógeno de un polipéptido PITP de *C. acnes* que comprende un ENFD de un polipéptido PITP de *C. acnes* en (b)

comprende la secuencia correspondiente a los residuos de aminoácidos 1-133 de la SEQ ID NO: 73 o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 90 %) de identidad con esta.

269. El ácido nucleico de la realización 268, en donde el fragmento inmunógeno de un polipéptido PITP de *C. acnes* que comprende un ENFD de un polipéptido PITP de *C. acnes* en (b) comprende la secuencia correspondiente a los residuos de aminoácidos 1-146 de la SEQ ID NO: 73 o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 90 %) de identidad con esta.

270. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones 263-269, en donde (a) y (b) comprenden la SEQ ID NO: 80, 82 o 83 o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 90 %) de identidad con esta.

271. El ácido nucleico de la realización 270, en donde (a) y (b) comprenden la SEQ ID NO: 80 o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 90 %) de identidad con esta.

272. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones 263-269, en donde (c) es un polipéptido CAMP2 de *C. acnes*, opcionalmente en donde (c) comprende la SEQ ID NO: 203 o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos

un 98 %, o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 90 %) de identidad con esta.

273. El ácido nucleico de la realización 272, en donde:

(i) el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de acuerdo con la SEQ ID NO: 373 o 374 o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (p. ej., al menos un 90 %) de identidad con la misma; y/o

(ii) la secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID NO: 384-387 (p. ej., la SEQ ID NO: 385 o 387) o una secuencia que tiene al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 75 %) de identidad con esta; y

(iii) la secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID NO: 377-380 (p. ej., la SEQ ID NO: 378 o 380) o una secuencia que tiene al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 75 %) de identidad con esta.

274. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones 263 a 269, en donde el fragmento inmunógeno de un polipéptido CAMP2 de *C.*

acnes en (c) comprende un dominio N-terminal de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes*, por ejemplo, en donde el fragmento inmunógeno de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* en (c) comprende residuos de aminoácidos 29-176 de la SEQ ID NO: 202 o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 90 %) de identidad con la secuencia de residuos de aminoácidos 29-176 de la SEQ ID NO: 202.

275. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones 263-269, en donde el fragmento inmunógeno de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* en (c) comprende un dominio N-terminal de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* y un dominio enlazador de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes*.

276. El ácido nucleico de la realización 275, en donde el fragmento inmunógeno de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* en (c) comprende residuos de aminoácidos 29-188 de la SEQ ID NO: 202 o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 90 %) de identidad con esta.

277. El ácido nucleico de la realización 276, en donde:

(i) el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de acuerdo con la SEQ ID NO: 375 o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (p. ej., al menos un 90 %) de identidad con la misma; y/o

(ii) la secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID NO: 388-389

(p. ej., la SEQ ID NO: 389) o una secuencia que tiene al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 75 %) de identidad con esta; y

(iii) la secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID NO: 381-382 (p. ej., la SEQ ID NO: 382) o una secuencia que tiene al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 75 %) de identidad con esta.

278. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones 263-269, en donde el fragmento inmunogénico de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* en (c) comprende un dominio C-terminal de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes*.

279. El ácido nucleico de la realización 278, en donde el fragmento inmunógeno de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* en (c) comprende residuos de aminoácidos 189-267 de la SEQ ID NO: 202 o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 90 %) de identidad con esta.

280. El ácido nucleico de la realización 279, en donde:

(i) el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de acuerdo con la SEQ ID NO: 376 o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos

un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (p. ej., al menos un 90 %) de identidad con la misma; y/o

5 (ii) la secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID NO: 390 o 393 (p. ej., la SEQ ID NO: 390) o una secuencia que tiene al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al
10 menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 75 %) de identidad con esta; y

(iii) la secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID NO: 383 o 394 (p. ej., la SEQ ID NO: 383) o una secuencia que tiene al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al
15 menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 75 %) de identidad con esta.

281. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones 263-269, en donde el fragmento inmunogénico de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* en (c) comprende un dominio enlazador de un polipéptido CAMP2 de
25 *C. acnes* y un dominio C-terminal de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes*, por ejemplo, en donde el fragmento inmunogénico de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* en (c) comprende los residuos de aminoácidos 177-267 de la SEQ ID NO: 202 o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 75 %) de identidad con esta.

30

al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 90 %) de identidad con la secuencia de residuos de aminoácidos 177-267 de la SEQ ID NO: 202.

282. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones 263-281, en donde dos o más cualesquiera de (a), (b) y (c) se unen mediante enlazadores o se fusionan directamente entre sí (por ejemplo, en donde dos o más cualesquiera de (a), (b) y (c) se fusionan directamente entre sí).

283. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones 263-282, en donde el polipéptido quimérico de *C. acnes* DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 comprende, del extremo N al extremo C:

(a), (b) y (c); o

(c), (a) y (b),

por ejemplo, en donde el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende, desde el extremo N hasta el extremo C: (c), (a) y (b).

284. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones 263-283, en donde el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de dominio transmembrana.

285. El ácido nucleico de la realización 284, en donde la secuencia transmembrana se coloca en el extremo N o el extremo C (por ejemplo, el extremo C) del polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico.

286. El ácido nucleico de la realización 285, en donde la secuencia de dominio transmembrana comprende una secuencia de aminoácidos de acuerdo con una cualquiera de las secuencias en la Tabla 4 o SEQ ID NO: 84 (p. ej., la SEQ ID NO: 208 o 84).

287. El ácido nucleico de la realización 286, en donde:

(i) el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de acuerdo con la SEQ ID NO: 373 o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, al menos un 99 % o al menos un 100 % de identidad con la secuencia de residuos de aminoácidos 177-267 de la SEQ ID NO: 202.

al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 90 %) de identidad con esta y una secuencia de dominio transmembrana (por ejemplo, SEQ ID NO: 84); y/o

5 (ii) la secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de acuerdo con la SEQ ID NO: 384, o una secuencia que tiene al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos
10 un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 75 %) de identidad con esta, y una secuencia de nucleótidos que codifica una secuencia de dominio transmembrana (por ejemplo, una secuencia de acuerdo con la
15 SEQ ID NO: 395), o

la secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de acuerdo con la SEQ ID NO: 385, o una secuencia que tiene al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos
20 un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 75 %) de identidad con esta, y una secuencia de nucleótidos que codifica una secuencia de dominio transmembrana (por ejemplo, una secuencia de acuerdo con la
25 SEQ ID NO: 396),

por ejemplo, en donde la secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de acuerdo con la SEQ ID
30 NO: 385 y una secuencia de acuerdo con la SEQ ID NO: 396; y/o

(iii) la secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de acuerdo con la SEQ ID NO: 377 o 378 o una secuencia que tiene al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 75 %) de identidad con esta (por ejemplo, el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de acuerdo con la SEQ ID NO: 378).

288. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones 263-287, en donde el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de péptido señal de secreción no nativa (por ejemplo, viral).

289. El ácido nucleico de la realización 288, en donde la secuencia del péptido señal de secreción se coloca en el extremo N o el extremo C (por ejemplo, el extremo N) del polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico.

290. El ácido nucleico de la realización 288 o 289, en donde la secuencia de péptido señal de secreción es una secuencia de péptido señal de secreción vírica, que comprende opcionalmente una secuencia seleccionada del grupo que consiste en: una secuencia de péptido señal de secreción de la hemaglutinina (HA) de la gripe, una secuencia de péptido señal de secreción de la espícula del SARS CoV-2, una secuencia de péptido señal de secreción de gB del VZV, una secuencia de péptido señal de secreción de gE del VZV, una secuencia de péptido señal de secreción de gI del VZV, una secuencia de péptido señal de secreción de gK del VZV, una secuencia de péptido señal de secreción de la proteína F del sarampión, una secuencia de péptido señal de secreción de la proteína E1 de la rubéola, una

secuencia de péptido señal de secreción de la proteína E2 de la rubéola, una secuencia de péptido señal de secreción de la proteína F de las paperas, una secuencia de péptido señal de secreción de la proteína GP del ébola y una secuencia de péptido señal de secreción de la proteína IC de 6 kDa de la viruela.

291. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones 288-290, en donde la secuencia de péptido señal de secreción comprende una secuencia de acuerdo con una cualquiera de las secuencias de la Tabla 2 o 3.

292. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones 288-291, en donde la secuencia de péptido señal de secreción comprende una secuencia de acuerdo con una cualquiera de las SEQ ID NO: 210-211 (p. ej., la SEQ ID NO: 210).

293. El ácido nucleico de una cualquiera de las realizaciones 263-287, en donde el ácido nucleico es ARNm.

294. Un polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico que comprende:

(a) un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico, por ejemplo, como se describe en una cualquiera de las realizaciones 97-105;

(b) un fragmento inmunogénico de un polipéptido PITP de *C. acnes*, opcionalmente en donde el fragmento inmunogénico comprende una ENFD de un polipéptido PITP de *C. acnes*; y

(c) un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* o un fragmento inmunógeno del mismo.

295. El polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico de la realización 294, en donde el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico comprende:

(A) (1) un CSD2 de un polipéptido DsA1 de *C. acnes* y (2) un CSD1 y/o un CSD3 de un polipéptido DsA2 de *C. acnes*; o

(B) (1) un CSD2 de un polipéptido DsA2 de *C. acnes* y (2) un CSD1 y/o un CSD3 de un polipéptido DsA1 de *C. acnes*.

296. El polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico de la realización 295, en donde el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico es como se define en (B).

297. El polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico de una cualquiera de las realizaciones 294-296, en donde el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende un CSD1 de un polipéptido DsA1 de *C. acnes*, un CSD2 de un polipéptido DsA2 de *C. acnes* y un CSD3 de un polipéptido DsA1 de *C. acnes*.

298. El polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico de una cualquiera de las realizaciones 294-297, en donde el polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico (a) comprende una secuencia de acuerdo con la SEQ ID NO: 70 o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 90 %) de identidad con esta.

299. El polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico de una cualquiera de las realizaciones 294-298, en donde el fragmento inmunógeno de un polipéptido PITP de *C. acnes* que comprende un ENFD de un polipéptido PITP de *C. acnes* en (b) comprende la secuencia correspondiente a los residuos de aminoácidos 1-133 de la SEQ ID NO: 73 o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 90 %) de identidad con esta.

300. El polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico de la realización 299, en donde el fragmento inmunógeno de un polipéptido PITP de *C. acnes* que comprende un ENFD de un polipéptido PITP de *C. acnes* en (b) comprende la secuencia correspondiente a los residuos de

aminoácidos 1-146 de la SEQ ID NO: 73 o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 90 %) de identidad con esta.

301. El polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico de una cualquiera de las realizaciones 294-300, en donde (a) y (b) comprenden la SEQ ID NO: 80, 82 o 83 o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 90 %) de identidad con esta.

302. El polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico de la realización 301, en donde (a) y (b) comprenden la SEQ ID NO: 80 o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 90 %) de identidad con esta.

303. El polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico de una cualquiera de las realizaciones 294-302, en donde (c) es un polipéptido CAMP2, de *C. acnes*, opcionalmente en donde (c) comprende la SEQ ID NO: 203 o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 90 %) de identidad con esta.

304. El polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico de la realización 303, en donde el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de acuerdo con la SEQ ID NO: 373 o 374 o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 90 %) de identidad con esta.

al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 90 %) de identidad con esta.

305. El polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico de una cualquiera de las realizaciones 294-302, en donde el fragmento inmunógeno de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* en (c) comprende un dominio N-terminal de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes*, por ejemplo, en donde el fragmento inmunógeno de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* en (c) comprende residuos de aminoácidos 29-176 de la SEQ ID NO: 202 o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 90 %) de identidad con la secuencia de residuos de aminoácidos 29-176 de la SEQ ID NO: 202.

306. El polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico de una cualquiera de las realizaciones 294-302, en donde el fragmento inmunógeno de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* en (c) comprende un dominio N-terminal de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* y un dominio enlazador de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes*.

307. El polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico de la realización 306, en donde el fragmento inmunógeno de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* en (c) comprende residuos de aminoácidos 29-188 de la SEQ ID NO: 202 o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 90 %) de identidad con esta.

308. El polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico de la realización 307, en donde el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de acuerdo con la SEQ ID NO: 375 o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al

menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 90 %) de identidad con esta.

309. El polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico de una cualquiera de las realizaciones 294-302, en donde el fragmento inmunógeno de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* en (c) comprende un dominio C-terminal de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes*.

310. El polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico de la realización 309, en donde el fragmento inmunógeno de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* en (c) comprende residuos de aminoácidos 189-267 de la SEQ ID NO: 202 o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 90 %) de identidad con esta.

311. El polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico de la realización 310, en donde el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de acuerdo con la SEQ ID NO: 376 o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 90 %) de identidad con esta.

312. El polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico de una cualquiera de las realizaciones 294-302, en donde el fragmento inmunógeno de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* en (c) comprende un dominio enlazador de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* y un dominio C-terminal de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes*, por ejemplo, en donde el fragmento inmunógeno de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* en (c) comprende residuos de aminoácidos 177-267 de la SEQ ID NO: 202 o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (por ejemplo,

al menos un 90 %) de identidad con la secuencia de residuos de aminoácidos 177-267 de la SEQ ID NO: 202.

313. El polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico de una cualquiera de las realizaciones 294-312, en donde dos o más cualesquiera de (a), (b) y (c) están unidos mediante enlazadores o están directamente fusionados entre sí (por ejemplo, en donde dos o más cualesquiera de (a), (b) y (c) están fusionados directamente entre sí).

314. El polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico de una cualquiera de las realizaciones 294-313, en donde el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende, del extremo N al extremo C:

(a), (b) y (c); o
(c), (a) y (b),

Por ejemplo, en donde el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende, desde el extremo N hasta el extremo C: (c), (a) y (b).

315. El polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico de una cualquiera de las realizaciones 294-314, en donde el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de dominio transmembrana.

316. El polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico de la realización 315, en donde la secuencia transmembrana se coloca en el extremo N o el extremo C (por ejemplo, el extremo C) del polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico.

317. El polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico de la realización 316, en donde la secuencia de dominio transmembrana comprende una secuencia de aminoácidos de acuerdo con una cualquiera de las secuencias en la Tabla 4 o la SEQ ID NO: 84 (p. ej., la SEQ ID NO: 84).

318. El polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico de la realización 317, en donde el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico comprende una secuencia de acuerdo con la SEQ ID NO: 373 o una secuencia que tiene al menos un 90 %, al menos un 91 %, al menos un 92 %, al menos un 93 %, al menos un 94 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % (por ejemplo, al menos un 90 %) de identidad con esta y una secuencia de dominio transmembrana (por ejemplo, SEQ ID NO: 84).

319. Una LNP que encapsula el ARNm de la realización 293, opcionalmente en donde la LNP tiene un diámetro promedio de 30 nM a 200 nM (por ejemplo, un diámetro promedio de 80 nM a 150 nM).

320. Una composición, opcionalmente una composición inmunogénica, que comprende el ácido nucleico (por ejemplo, un ARNm) de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 263-293.

321. La composición de las realizaciones 320, en donde la composición comprende además una nanopartícula lipídica (LNP), opcionalmente en donde el ácido nucleico está encapsulado en la LNP, opcionalmente en donde la LNP tiene un diámetro promedio de 30 nM a 200 nM (por ejemplo, un diámetro promedio de 80 nM a 150 nM).

322. La composición de una cualquiera de las realizaciones 319 o 321, en donde la LNP comprende al menos un lípido catiónico, opcionalmente en donde el lípido catiónico

- es biodegradable o no es biodegradable, y/o
- el lípido catiónico es escindible o no escindible.

323. La composición de la realización 322, en donde el lípido catiónico se selecciona del grupo que consiste en OF-02, cKK-E10, OF-Deg-Lin, GL-HEPES-E3-E10-DS-3-E18-1, GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10, GL-HEPES-E3-E12-DS-3-E14, SM-102, ALC-0315, IS-001 y IM-001.

324. La composición de la realización 323, en donde el lípido catiónico se selecciona del grupo que consiste en OF-02, cKK-E10, GL-

HEPES-E3-E12-DS-4-E10 e IM-001, IS-001 (p. ej., en donde el lípido catiónico es GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10).

325. La composición de una cualquiera de las realizaciones 319 o 321-324, en donde la LNP comprende además un lípido conjugado (PEGilado) con polietilenglicol (PEG), un lípido a base de colesterol y un lípido auxiliar, opcionalmente en donde la LNP comprende: un lípido catiónico en una relación molar de un 35 % a 55%; un lípido conjugado (PEGilado) con polietilenglicol (PEGilado) en una relación molar de un 0.25% a 2.75 %; un lípido a base de colesterol en una relación molar de un 20 % a 45 %; y un lípido auxiliar en una relación molar de un 5 % a 35 %, donde todas las relaciones molares son relativas al contenido total de lípidos de la LNP,

en donde la LNP comprende: un lípido catiónico en una proporción molar de un 40 %; un lípido PEGilado en una proporción molar de un 1.5 %; un lípido a base de colesterol en una proporción molar de un 28.5 %; y un lípido auxiliar en una proporción molar de un 30 %.

326. La composición de una cualquiera de las realizaciones 320-325, en donde el ácido nucleico es ARNm.

327. La composición de una cualquiera de las realizaciones 326, en donde el ARNm comprende una caperuza en 5', al menos una región no traducida 5' (5' UTR), al menos una región no traducida 3' (3' UTR) y/o al menos una secuencia de poliadenilación (poli(A)).

328. La composición de una cualquiera de las realizaciones 326-327, en donde el ARNm no está modificado o:

(i) el ARNm comprende al menos una modificación química, opcionalmente en donde la modificación química se selecciona del grupo que consiste en, p. ej., 1-metiladenina, 2-metiladenina, 2-metiltio-N-6-isopenteniladenina, N6-metiladenina, N6-isopenteniladenina, 2-tiocitosina, 3-metilcitosina, 4-acetilcitosina, 5-metilcitosina, 2,6-diaminopurina, 1-metilguanina, 2-metilguanina, 2,2-dimetilguanina, 7-metilguanina, inosina, 1-

metilinosina, pseudouracilo (5-uracilo), dihidrouracilo, 2-tiouracilo, 4-tiouracilo, 5-carboximetilaminometil-2-tiouracilo, 5-(carboxihidroximetil)uracilo, 5-fluorouracilo, 5-bromouracilo, 5-carboximetilaminometiluracilo, 5-metil-2-tiouracilo, 5-metiluracilo, éster metílico del ácido N-uracil-5-oxiacético, 5-metilaminometiluracilo, 5-metoxiaminometil-2-tiouracilo, 5'-metoxycarbonilmetiluracilo, 5-metoxiuracilo, éster metílico del ácido uracil-5-oxiacético, ácido uracil-5-oxiacético (v), 1-metilpseudouracilo, queosina, β -D-manosilqueosina, fosforamidatos, fosforotioatos, nucleótidos peptídicos, metilfosfonatos, 7-desazaguanosina, 5-metilcitosina e inosina (p.ej., en donde la modificación química comprende N1-metilpseudouridina); y/o

(ii) el ARNm se sintetiza a partir de análogos de nucleótidos modificados o derivados de purinas y pirimidinas, opcionalmente en donde los análogos de nucleótidos modificados o derivados de purinas y pirimidinas se seleccionan del grupo que consiste en: 1-metiladenina, 2-metiladenina, 2-metiltio-N-6-isopenteniladenina, N6-metiladenina, N6-isopenteniladenina, 2-tiocitosina, 3-metilcitosina, 4-acetilcitosina, 5-metilcitosina, 2,6-diaminopurina, 1-metilguanina, 2-metilguanina, 2,2-dimetilguanina, 7-metilguanina, inosina, 1-metilinosina, pseudouracilo (5-uracilo), dihidrouracilo, 2-tiouracilo, 4-tiouracilo, 5-carboximetilaminometil-2-tiouracilo, 5-(carboxihidroximetil)uracilo, 5-fluorouracilo, 5-bromouracilo, 5-carboximetilaminometiluracilo, 5-metil-2-tiouracilo, 5-metiluracilo, éster metílico del ácido N-uracil-5-oxiacético, 5-metilaminometiluracilo, 5-metoxiaminometil-2-tiouracilo, 5'-metoxycarbonilmetiluracilo, 5-metoxiuracilo, éster metílico del ácido uracil-5-oxiacético, ácido uracil-5-oxiacético (v), 1-metilpseudouracilo, queosina, β -D-manosilqueosina,

fosforamidatos, fosforotioatos, nucleótidos peptídicos, metilfosfonatos, 7-desazaguanosina, 5-metilcitosina e inosina.

329. La composición de una cualquiera de las realizaciones 326-328, en donde el ARNm comprende al menos una modificación química (por ejemplo, en donde al menos un 20 %, al menos un 30 %, al menos un 40 %, al menos un 50 %, al menos un 60 %, al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 95 %, o el 100 % de las uridinas en el ARNm están modificadas químicamente), opcionalmente en donde la modificación química comprende N1-metilpseudouridina, por ejemplo, en lugar de cada uridina.

330. La composición de una cualquiera de las realizaciones 326-329, en donde el ARNm es un ARNm autorreplicante o un ARNm no replicante, por ejemplo, en donde el ARNm es un ARNm no replicante.

331. La composición de una cualquiera de las realizaciones 326 a 330, en donde la composición puede estar en una forma líquida congelada o en una forma liofilizada (por ejemplo, en una forma liofilizada).

332. Una composición, opcionalmente una composición inmunógena, que comprende el polipéptido DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico como se define en una cualquiera de las realizaciones 294-318, opcionalmente en donde la composición puede estar en una forma líquida congelada o en una forma liofilizada (por ejemplo, en una forma liofilizada).

333. La composición de la realización 332, en donde la composición comprende además un adyuvante, opcionalmente en donde el adyuvante se selecciona del grupo que consiste en: Adyuvante de aluminio (p. ej., AlOOH), adyuvantes de emulsión de aceite en agua escualénicos (p. ej., AF03, AS03, MF59) y adyuvantes liposómicos que comprenden una saponina y un agonista de TLR4 (p. ej., SPA14, AS01, LEQ).

334. Una composición de vacuna que comprende el ácido nucleico (por ejemplo, ARNm) de una cualquiera de las realizaciones 263-293 o el polipéptido de una cualquiera de las realizaciones 294-318.

335. El ácido nucleico (por ejemplo, ARNm) de una cualquiera de las realizaciones 263-293, el polipéptido de una cualquiera de las realizaciones 294-318, la LNP de la realización 319 o la composición de una cualquiera de las realizaciones 320-333 para su uso como un medicamento.

336. El uso del ácido nucleico (por ejemplo, ARNm) de una cualquiera de las realizaciones 263-293, el polipéptido de una cualquiera de las realizaciones 294-318, la LNP de la realización 319 o la composición de una cualquiera de las realizaciones 320-333 para la fabricación de un medicamento.

337. Un método para tratar o prevenir una enfermedad que comprende administrar el ácido nucleico (por ejemplo, ARNm) de una cualquiera de las realizaciones 263-293, el polipéptido de una cualquiera de las realizaciones 294-318, la LNP de la realización 319 o la composición de una cualquiera de las realizaciones 320-333 a un sujeto que lo necesite.

338. El ácido nucleico (por ejemplo, ARNm) de una cualquiera de las realizaciones 263-293, el polipéptido de una cualquiera de las realizaciones 294-318, la LNP de la realización 319 o la composición de una cualquiera de las realizaciones 320-333 para su uso en un método para tratar o prevenir la infección por *C. acnes* (por ejemplo, una infección por *C. acnes* moderada o grave) en un sujeto (por ejemplo, humano).

339. El uso del ácido nucleico (por ejemplo, ARNm) de una cualquiera de las realizaciones 263-293, el polipéptido de una cualquiera de las realizaciones 294-318, la LNP de la realización 319 o la composición de una cualquiera de las realizaciones 320-333 para la fabricación de un medicamento para tratar o prevenir la infección por *C. acnes* (por ejemplo, una infección por *C. acnes* moderada o grave) en un sujeto (por ejemplo, humano).

340. Un método para tratar o prevenir una infección por *C. acnes* (por ejemplo, una infección por *C. acnes* moderada o grave) que comprende administrar el ácido nucleico (por ejemplo, ARNm) de una cualquiera de las realizaciones 263-293, el polipéptido de una cualquiera de las realizaciones 294-318, la LNP de la realización 319 o la composición de una cualquiera de las realizaciones 320-333 a un sujeto (por ejemplo, humano) que lo necesite.

341. El ácido nucleico (por ejemplo, ARNm) de una cualquiera de las realizaciones 263-293, el polipéptido de una cualquiera de las realizaciones 294-318, la LNP de la realización 319 o la composición de una cualquiera de las realizaciones 320-333 para su uso en un método para tratar o prevenir el acné (por ejemplo, acné leve, moderado o grave) en un sujeto (por ejemplo, humano).

342. El uso del ácido nucleico (por ejemplo, ARNm) de una cualquiera de las realizaciones 263-293, el polipéptido de una cualquiera de las realizaciones 294-318, la LNP de la realización 319 o la composición de una cualquiera de las realizaciones 320-333 para la fabricación de un medicamento para tratar o prevenir el acné (por ejemplo, acné leve, moderado o grave) en un sujeto (por ejemplo, humano).

343. Un método para tratar o prevenir el acné (por ejemplo, acné leve, moderado o grave) que comprende administrar ácido nucleico (por ejemplo, ARNm) de una cualquiera de las realizaciones 263-293, el polipéptido de una cualquiera de las realizaciones 294-318, la LNP de la realización 319 o la composición de una cualquiera de las realizaciones 320-333 a un sujeto (por ejemplo, humano) que lo necesite.

344. El ácido nucleico (por ejemplo, ARNm) de una cualquiera de las realizaciones 263-293, el polipéptido de una cualquiera de las realizaciones 294-318, la LNP de la realización 319 o la composición de una cualquiera de las realizaciones 320-333 para su uso en un método para provocar una respuesta inmunitaria en un sujeto, opcionalmente en donde el sujeto es un sujeto humano.

345. El uso de ácido nucleico (por ejemplo, ARNm) de una cualquiera de las realizaciones 263-293, el polipéptido de una cualquiera de las realizaciones 294-318, la LNP de la realización 319 o la composición de una cualquiera de las realizaciones 320-333 para la fabricación de un medicamento para provocar una respuesta inmunitaria en un sujeto, opcionalmente en donde el sujeto es un sujeto humano.

346. Un método para provocar una respuesta inmunitaria en un sujeto que comprende administrar ácido nucleico (por ejemplo, ARNm) de una cualquiera de las realizaciones 263-293, el polipéptido de una cualquiera de las realizaciones 294-318, la LNP de la realización 319 o la composición de una cualquiera de las realizaciones 320-333 al sujeto.

347. El método de una cualquiera de las realizaciones 337, 340, 343 o 346, en donde el método comprende:

(i) administrar una dosis del ácido nucleico, el polipéptido o la composición; o

(ii) administrar dos dosis del ácido nucleico, el polipéptido o la composición, opcionalmente en donde las dos dosis se administran con dos meses de diferencia

, p. ej., en donde la administración es de acuerdo con (ii).

348. El ácido nucleico, el polipéptido o la composición para su uso de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 335, 338, 341 o 344, en donde el método comprende:

(i) administrar una dosis del ácido nucleico, el polipéptido o la composición; o

(ii) administrar dos dosis del ácido nucleico, el polipéptido o la composición, opcionalmente en donde las dos dosis se administran en un intervalo de dos meses entre sí.

349. El uso del ácido nucleico, el polipéptido o la composición de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 336, 339, 342 o 345, en donde el tratamiento o prevención comprende:

(i) administrar una dosis del ácido nucleico, el polipéptido o la composición; o

(ii) administrar dos dosis del ácido nucleico, el polipéptido o la composición, opcionalmente en donde las dos dosis se administran en un intervalo de dos meses entre sí.

350. El método de una cualquiera de las realizaciones 337, 340, 343, 346 o 347, el ácido nucleico, el polipéptido o la composición para su uso de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 335, 338, 341, 344 o 348, o el uso del ácido nucleico, el polipéptido o la composición de una cualquiera de las realizaciones 336, 339, 342, 345 o 349, en donde el método comprende administrar el polipéptido, ácido nucleico o la composición por vía intramuscular.

351. El método de una cualquiera de las realizaciones 337, 340, 343, 346 o 347, el ácido nucleico, el polipéptido o la composición para su uso de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 335, 338, 341, 344 o 348, o el uso del ácido nucleico, el polipéptido o la composición de una cualquiera de las realizaciones 336, 339, 342, 345 o 349, en donde el método comprende administrar el polipéptido, ácido nucleico o la composición a través de inyección cutánea (por ejemplo, en la epidermis, la dermis o la hipodermis de la piel), tal como intradérmica, opcionalmente con un dispositivo adecuado para inyección cutánea, tal como una aguja (p. ej., una aguja epidérmica, dérmica o hipodérmica), un dispositivo sin aguja, un dispositivo con micronajua o un dispositivo de matriz de microproyección.

352. El método de una cualquiera de las realizaciones 337, 340, 343, 346, 347, 350 o 351, el ácido nucleico, el polipéptido, la composición o la combinación para su uso de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 335, 338, 341, 344, 348, 350 o 351, o el uso del ácido nucleico, el polipéptido, la composición o la combinación de una cualquiera de las realizaciones 336, 339, 342, 345 o 349-351, en donde el sujeto es un sujeto humano y en donde

el sujeto tiene entre 9 y 45 años o entre 12 y 45 años (por ejemplo, entre 18 y 45 años).

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La **FIGURA 1** muestra los títulos neutralizantes cohemolíticos de IgG purificadas de sueros de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 3 semanas con diferentes constructos de ARNm que codificaban polipéptidos CAMP2 de *C. acnes* (encapsulados en una LNP que comprendía ckk-E10 como lípido catiónico) o polipéptidos CAMP2 de *C. acnes* recombinantes (formulados en cualquiera de los adyuvantes AIOOH o SPA14). La LNP sola y los adyuvantes solos (AIOOH y SPA14) sirvieron como controles negativos.

La **FIGURA 2** muestra los títulos de unión a la superficie (SB, por sus siglas en inglés) y de muerte opsonofagocítica (OPK, por sus siglas en inglés) de ya sean sueros individuales (SB) o una mezcla de sueros (OPK), de ensayos realizados en una cepa de *C. acnes* NCTC737, de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas. Las formulaciones experimentales contenían ya sea constructo antigénico de ARNm H4-V3 (encapsulado en una LNP que comprendía GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10 como lípido catiónico) o proteína recombinante H4-V3 (formulada en AIOOH). La LNP sola sirvió como control negativo. LLOQ = límite inferior de cuantificación.

La **FIGURA 3** muestra los títulos de unión a la superficie (SB) y de muerte opsonofagocítica (OPK) de ya sean sueros individuales (SB) o una mezcla de sueros (OPK), de ensayos realizados en cepas de *C. acnes* NCTC737 (Figura 3a) y KPA171202 (Figura 3b), de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas. Las formulaciones experimentales contenían ya sea constructo antigénico de ARNm P028-V7 (encapsulado en una LNP que comprendía GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10 como lípido catiónico) o proteína recombinante P028-V7 (formulada en AIOOH). La LNP sola sirvió como control negativo. LLOQ = límite inferior de cuantificación.

La **FIGURA 4** muestra una visualización esquemática de constructos de ARNm de CAMP2 que se han diseñado y sintetizado.

La **FIGURA 5** muestra los datos de caracterización de proteínas expresadas en células HEK después de la transfección celular *in vitro* con constructos de ARNm que codificaban polipéptidos CAMP2 de *C. acnes* (el diseño de los constructos se muestra en la Figura 4).

La **FIGURA 6** muestra los títulos neutralizantes cohemolíticos de IgG purificadas de sueros de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas con constructos de ARNm que codificaban polipéptidos CAMP2 de *C. acnes* (el diseño de los constructos se muestra en la Figura 4). La LNP sola sirvió como control negativo. LLOQ = límite inferior de cuantificación.

La **FIGURA 7** muestra los títulos de IgG anti-CAMP2 de ELISA de sueros de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas con constructos de ARNm que codificaban polipéptidos CAMP2 de *C. acnes* (el diseño de los constructos se muestra en la Figura 4). La LNP sola sirvió como control negativo. LLOQ = límite inferior de cuantificación.

La **FIGURA 8** muestra los títulos de IgG anti-DSA1 de ELISA de sueros individuales de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas con una serie de constructos de ARNm que codificaban polipéptidos DsA1 de *C. acnes*, polipéptidos DsA2 de *C. acnes* y polipéptidos DsA1/DsA2 de *C. acnes* quiméricos, y que contenían ya sea una señal de secreción (Figura 8a) o tanto una señal de secreción como un dominio transmembranario (Figura 8b), y estaban encapsulados en una LNP que comprendía GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10 como lípido catiónico. La LNP sola sirvió como control negativo. Se utilizó una formulación que contenía 10 µg de proteína recombinante H4-V3 formulada en ALOOH como referencia.

La **FIGURA 9** muestra los títulos de IgG anti-DSA2 de ELISA de sueros individuales de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas con los mismos antígenos de ARNm que se describen en la Figura 8, que contenían ya sea una señal de secreción (Figura 9a) o tanto una señal de secreción como un dominio transmembranario (Figura 9b), y estaban encapsulados en la misma LNP. La LNP sola sirvió como control negativo. Se utilizó una formulación que contenía 10 µg de proteína recombinante H4-V3 formulada en ALOOH como referencia.

La **FIGURA 10** muestra los títulos de unión a la superficie (SB) de mezclas de sueros de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas con los mismos antígenos de ARNm que se describen en la Figura 8, que contenían ya sea una señal de secreción (Figura 10a) o tanto una señal de secreción como un dominio transmembranario, salvo el constructo H4-V3 (Figura 10b), y estaban encapsulados en la misma LNP. La LNP sola sirvió como control negativo. Se utilizó una formulación que contenía 10 µg de proteína recombinante H4-V3 formulada en ALOOH como referencia. El ensayo SB se realizó en una cepa de *C. acnes* NCTC737. LLOQ = límite inferior de cuantificación.

La **FIGURA 11** muestra los títulos de muerte opsonofagocítica (OPK) de mezclas de sueros de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas con los mismos antígenos de ARNm que se describen en la Figura 8, que contenían ya sea una señal de secreción (Figura 11a) o tanto una señal de secreción como un dominio transmembranario, salvo el constructo H4-V3 (Figura 11b), y estaban encapsulados en la misma LNP. La LNP sola sirvió como control negativo. Se utilizó una formulación que contenía 10 µg de proteína recombinante H4-V3 formulada en ALOOH como referencia. El ensayo OPK se realizó en cepas de *C. acnes* NCTC737. LLOQ = límite inferior de cuantificación.

La **FIGURA 12** muestra los títulos de IgG anti-PITP de ELISA de sueros individuales de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas, con una serie de constructos de ARNm que codificaban antígenos PITP de *C. acnes* y que contenían ya sea una señal de secreción (Figura 12a) o tanto una señal de secreción como un dominio transmembranario (Figura 12b), encapsulados en una LNP que comprendía GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10 como lípido catiónico. Se utilizó LNP sola como control negativo. Se utilizó una formulación que contenía 10 µg de proteína recombinante P028-V7 formulada en ALOOH como referencia.

La **FIGURA 13** muestra los títulos de unión a la superficie (SB) de mezclas de sueros de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas, con los mismos antígenos de ARNm que se describen en la Figura 12, que contenían ya sea una señal de secreción (Figura 13a) o tanto una señal de secreción como un

dominio transmembranario, salvo el constructo P028-V7 (Figura 13b), encapsulados en la misma LNP. Se utilizó LNP sola como control negativo. Se utilizó una formulación que contenía 10 µg de proteína recombinante P028-V7 formulada en ALOOH como referencia. El ensayo SB se realizó en una cepa de *C. acnes* NCTC737. LLOQ = límite inferior de cuantificación.

La **FIGURA 14** muestra los títulos de unión a la superficie (SB) de mezclas de sueros de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas, con los mismos antígenos de ARNm que se describen en la Figura 12, que contenían ya sea una señal de secreción (Figura 14a) o tanto una señal de secreción como un dominio transmembranario, salvo el constructo P028-V7 (Figura 14b), y estaban encapsulados en la misma LNP. Se utilizó LNP sola como control negativo. Se utilizó una formulación que contenía 10 µg de proteína recombinante P028-V7 formulada en ALOOH como referencia. El ensayo SB se realizó en una cepa de *C. acnes* KPA171202. LLOQ = límite inferior de cuantificación.

La **FIGURA 15** muestra los títulos de muerte opsonofagocítica (OPK) de una mezcla de sueros de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas, con los mismos antígenos de ARNm que se describen en la Figura 12, que contenían ya sea una señal de secreción (Figura 15a) o tanto una señal de secreción como un dominio transmembranario, salvo el constructo P028-V7 (Figura 15b), y estaban encapsulados en la misma LNP. Se utilizó LNP sola como control negativo. Se utilizó una formulación que contenía 10 µg de proteína recombinante P028-V7 formulada en ALOOH como referencia. El ensayo OPK se realizó en una cepa de *C. acnes* NCTC737. LLOQ = límite inferior de cuantificación.

La **FIGURA 16** muestra los títulos de muerte opsonofagocítica (OPK) de una mezcla de sueros de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas, con los mismos antígenos de ARNm que se describen en la Figura 12, que contenían ya sea una señal de secreción (Figura 16a) o tanto una señal de secreción como un dominio transmembranario, salvo el constructo P028-V7 (Figura 16b), y estaban encapsulados en la misma LNP. Se utilizó LNP sola como control negativo. Se utilizó una formulación que contenía 10 µg de proteína recombinante

P028-V7 formulada en AIOOH como referencia. El ensayo OPK se realizó en una cepa de *C. acnes* KPA171202. LLOQ = límite inferior de cuantificación.

La **FIGURA 17** muestra los títulos de unión a la superficie (SB) de una mezcla de sueros, de un ensayo realizado en cepas de *C. acnes* NCTC737 y KPA171202, complementadas por otras cinco cepas (como se enumeran en la Tabla 10) para reflejar mejor la proporción de filotipos encontrados en el acné y en función de i) el nivel de expresión y ii) el ribotipo.

La **FIGURA 18** muestra los títulos de Ig anti-CAMP2 de ELISA de sueros individuales de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas, con antígenos de ARNm de CAMP2 encapsulados en una LNP. Se utilizó una formulación que contenía 10 µg de proteína recombinante CAMP2 formulada en AIOOH como referencia. Los sueros se obtuvieron el día 42 después de la primera inmunización. Se utilizó LNP sola como control negativo. La síntesis de ARNm se realizó utilizando nucleótidos modificados. El contenido de ARNm en la formulación evaluada fue de 1 µg por dosis. LLOQ = límite inferior de cuantificación.

La **FIGURA 19** muestra los títulos neutralizantes cohemolíticas de IgG purificadas de sueros individuales de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas, con los mismos antígenos de ARNm que se describen en la Figura 18 y que estaban encapsulados en la misma LNP. Se utilizó una formulación que contenía 10 µg de proteína recombinante CAMP2 formulada en AIOOH como referencia. Los sueros se obtuvieron el día 42 después de la primera inmunización. Se utilizó LNP sola como control negativo. La síntesis de ARNm se realizó utilizando nucleótidos modificados. El contenido de ARNm en la formulación evaluada fue de 1 µg por dosis. LLOQ = límite inferior de cuantificación.

La **FIGURA 20** muestra una visualización esquemática de los dominios proteicos de DSA1, DSA2 y PITP, y los constructos de ARNm que se han sintetizado a partir de estas proteínas: ARNm H4-V3 (una quimera de DSA1 y DSA2) y ARNm P028-V7 (que provenía de PITP) así como el constructo de ARNm de ARNm#1 CAMP2. El constructo de CAMP2 ARNm#1 comprendía una secuencia de CAMP2 sin mutar, la secuencia de señal (HA SS) y la secuencia de dominio

transmembranario (HA TMB) de la hemaglutinina de la gripe (HA, H1N1 A/Caledonia/20/1999) en el extremo N y el extremo C, respectivamente. Los constructos de ARNm H4-V3 y P028-V7 comprendían la secuencia de señal (HA SS) de la hemaglutinina de la gripe (HA, H1N1 A/Caledonia/20/1999) en el extremo N de la secuencia codificante de proteína. Las secuencias de CAMP2, H4-V3 y P028-V7 provenían de la secuencia de proteína de la cepa de *C. acnes* KPA171202. Ninguna de las secuencias de proteína contenía la secuencia de señal nativa de las proteínas.

La **FIGURA 21** muestra los títulos de IgG anti-CAMP2 de ELISA y títulos neutralizantes cohemolíticos de IgG purificadas de sueros individuales de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas, con los antígenos de ARNm de CAMP2 encapsulados solos o coencapsulados con los otros 2 antígenos de ARNm (H4-V3 y P028-V7 como se describen en la Figura 20) en LNP que comprendían OF-02, cKK-E10 o GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10 como lípido catiónico. También se evaluó una formulación de comezcla con los tres antígenos de ARNm encapsulados por separado en la LNP que contenía GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10. LOQ = Límite de cuantificación.

La **FIGURA 22** muestra los títulos de IgG anti-DSA1 (Figura 22a), anti-DSA2 (Figura 22b) y anti-PITP (Figura 22c) de ELISA de sueros individuales de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas con los mismos antígenos de ARNm que se describen en la Figura 20 y que estaban encapsulados en las mismas LNP que se describen en la Figura 21.

La **FIGURA 23** muestra los títulos de unión a la superficie (SB) (Figura 23a) y de muerte opsonofagocítica (OPK) (Figura 23b), de ensayos realizados ambos en cepas de *C. acnes* NCTC737, de sueros individuales de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas con los mismos antígenos de ARNm que se describen en la Figura 20 y que estaban encapsulados en las mismas LNP que se describen en la Figura 21.

La **FIGURA 24** muestra los títulos de unión a la superficie (SB) (Figura 24a) y de muerte opsonofagocítica (OPK) (Figura 24b), de ensayos realizados ambos en

cepas de *C. acnes* KPA171202, de sueros individuales (SB) o una mezcla de sueros (OPK) de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas con los mismos antígenos de ARNm que se describen en la Figura 20 y que estaban encapsulados en las mismas LNP que se describen en la Figura 21.

La **FIGURA 25** muestra las correlaciones de Pearson entre los títulos de IgG anti-DSA1, -DSA2, -PITP y -CAMP2 de ELISA y títulos neutralizantes cohemolíticos (CAMP2), o títulos de unión a la superficie (PITP, DSA1 y DSA2) o títulos de muerte opsonofagocítica (DSA1 y DSA2), de ensayos realizados ambos en ya sea cepas de *C. acnes* KPA171202 (PITP) o NCTC737 (DSA1/DSA2), de sueros individuales de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas con los mismos antígenos de ARNm que se describen en la Figura 20 y que estaban encapsulados en las mismas LNP. r = factor de correlación de Pearson calculado entre cada variable.

La **FIGURA 26** muestra los títulos de IgG anti-DSA1 de ELISA de sueros individuales de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas con proteínas recombinantes H4-V3, P028-V7 y CAMP2, formuladas ya sea solas o combinadas [H4-V3 junto con P028-V7] o [H4-V3 junto con P028-V7 junto con CAMP2]. Estas formulaciones se prepararon con adyuvantes AIOOH, AF03, SPA14 o sin adyuvante. Un grupo adicional de ratones recibió 4 inmunizaciones de la vacuna bivalente [H4-V3 junto con P028-V7] en AIOOH en un intervalo de 2 semanas. Los sueros se obtuvieron el día 42 después de la primera inmunización. Se utilizaron AIOOH y AF03 solos como control negativo. El contenido de las proteínas recombinantes H4-V3 y P028-V7 en la formulación evaluada fue de 1 μ g o 10 μ g de cada una por dosis (en mono-, bi- y trivalente). El contenido de la proteína recombinante CAMP2 en la formulación evaluada fue de 10 μ g por dosis (en mono- y trivalente).

La **FIGURA 27** muestra los títulos de IgG anti-PITP de ELISA de sueros individuales de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas con los mismos antígenos de proteína recombinante que se describen en las Figura 26 y que estaban formulados en los mismos adyuvantes.

La **FIGURA 28** muestra los títulos de IgG anti-CAMP2 de ELISA de sueros individuales (Figura 28a) y títulos neutralizantes cohemolíticos de IgG purificadas de sueros individuales (Figura 28b) de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas con los mismos antígenos de proteína recombinante que se describen en la Figura 26 y que estaban formulados en los mismos adyuvantes.

La **FIGURA 29** muestra los títulos de unión a la superficie (SB) (Figura 29a) y de muerte opsonofagocítica (OPK) (Figura 29b), de ensayos realizados ambos en cepas de *C. acnes* NCTC737, de una mezcla de sueros de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas con los mismos antígenos de proteína recombinante que se describen en la Figura 26 y que estaban formulados en los mismos adyuvantes.

La **FIGURA 30** muestra los títulos de unión a la superficie (SB) (Figura 30a) y de muerte opsonofagocítica (OPK) (Figura 30b), de ensayos realizados ambos en cepas de *C. acnes* KPA171202, de sueros individuales (SB) y una mezcla de sueros (OPK) de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas con los mismos antígenos de proteína recombinante que se describen en la Figura 26 y que estaban formulados en los mismos adyuvantes.

La **FIGURA 31** muestra una visualización esquemática de constructos de ARNm que codifican proteínas quiméricas que se han diseñado y sintetizado.

La **FIGURA 32** muestra los títulos de unión a la superficie (SB) de un ensayo realizado en una cepa de *C. acnes* NCTC737, de sueros individuales de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas con los antígenos de ARNm descritos en la Fig. 31 ("H4-V3", "H4-V3-lowglyc", "P028-V7-F16", "P028-V7-C12" y "P028-V7-C12lowglyc") y con los constructos de ARNm que codifican P028-V7. Estos constructos de ARNm se encapsularon en la LNP con GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10. Los sueros se obtuvieron el día 42 después de la primera inmunización. Se utilizó LNP sola como control negativo. La síntesis de ARNm se realizó utilizando nucleótidos modificados. El contenido de ARNm en la formulación evaluada fue de 1 µg y 5 µg por dosis.

La **FIGURA 33** muestra los títulos de unión a la superficie (SB) de un ensayo realizado en una cepa de *C. acnes* KPA171202, de sueros individuales de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas, con los mismos antígenos de ARNm que se describen en la Figura 32 y encapsulados en la misma LNP. Los sueros se obtuvieron el día 42 después de la primera inmunización. Se utilizó LNP sola como control negativo. La síntesis de ARNm se realizó utilizando nucleótidos modificados. El contenido de ARNm en la formulación evaluada fue de 1 µg y 5 µg por dosis.

La **FIGURA 34** muestra los títulos de IgG anti-DSA1 (Figura 34a), anti-DSA2 (Figura 34b) and anti-PITP (Figura 34c) de ELISA de sueros individuales de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas con los mismos antígenos de ARNm que se describen en la Figura 32 y estaban encapsulados en las mismas LNP. Los sueros se obtuvieron el día 42 después de la primera inmunización. Se utilizó LNP sola como control negativo. La síntesis de ARNm se realizó utilizando nucleótidos modificados. El contenido de ARNm en la formulación evaluada fue de 1 µg por dosis.

La **FIGURA 35** muestra los títulos de IgG anti-DSA1 (Figura 35a), anti-DSA2 (Figura 35b) and anti-PITP (Figura 35c) de ELISA de sueros individuales de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas con los mismos antígenos de ARNm que se describen en la Figura 32 y estaban encapsulados en las mismas LNP. Los sueros se obtuvieron el día 42 después de la primera inmunización. Se utilizó LNP sola como control negativo. La síntesis de ARNm se realizó utilizando nucleótidos modificados. El contenido de ARNm en la formulación evaluada fue de 5 µg por dosis.

La **FIGURA 36** muestra los títulos de muerte opsonofagocítica (OPK) de un ensayo realizado en una cepa de *C. acnes* KPA171202, de mezclas de sueros de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas con los mismos antígenos de ARNm que se describen en la Figura 32 y que estaban encapsulados en la misma LNP. Los sueros se obtuvieron el día 42 después de la primera inmunización. Se utilizó LNP sola como control negativo. La síntesis de ARNm se

realizó utilizando nucleótidos modificados. El contenido de ARNm en la formulación evaluada fue de 1 µg y 5 µg por dosis. Los resultados ilustran las medias de 2 experimentos independientes. LLOQ = límite inferior de cuantificación.

La **FIGURA 37** muestra los títulos de muerte opsonofagocítica (OPK) de un ensayo realizado en una cepa de *C. acnes* KPA171202, de sueros individuales de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas con los mismos antígenos de ARNm que se describen en la Figura 32 y que estaban encapsulados en la misma LNP. La gráfica ilustró los resultados para los constructos de ARNm P028-V7-F16, P028-V7-C12 y P028-V7. Los sueros se obtuvieron el día 42 después de la primera inmunización. Se utilizó LNP sola como control negativo. La síntesis de ARNm se realizó utilizando nucleótidos modificados. El contenido de ARNm en la formulación evaluada fue de 1 µg y 5 µg por dosis. LLOQ = límite inferior de cuantificación.

La **FIGURA 38** muestra los títulos de muerte opsonofagocítica (OPK) de un ensayo realizado en una cepa de *C. acnes* NCTC737, de mezclas de sueros de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas con los mismos antígenos de ARNm que se describen en la Figura 32 y que estaban encapsulados en la misma LNP. Los sueros se obtuvieron el día 42 después de la primera inmunización. Se utilizó LNP sola como control negativo. La síntesis de ARNm se realizó utilizando nucleótidos modificados. El contenido de ARNm en la formulación evaluada fue de 1 µg y 5 µg por dosis. Los resultados ilustran las medias de 2 experimentos independientes. LLOQ = límite inferior de cuantificación.

La **FIGURA 39** muestra los títulos de muerte opsonofagocítica (OPK) de un ensayo realizado en una cepa de *C. acnes* NCTC737, de sueros individuales de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas con los mismos antígenos de ARNm que se describen en la Figura 32 y que estaban encapsulados en la misma LNP. La gráfica ilustró los resultados para los constructos de ARNm P028-V7-C12, P028-V7-C12-lowglyc, H4-V3 y H4-V3-lowglyc. Los sueros se obtuvieron el día 42 después de la primera inmunización. Se utilizó LNP sola como

control negativo. La síntesis de ARNm se realizó utilizando nucleótidos modificados. El contenido de ARNm en la formulación evaluada fue de 1 µg y 5 µg por dosis.

La **FIGURA 40** muestra los títulos de IgG anti-DsA1 (Figura 40a), anti-DsA2 (Figura 40b) y anti-PITP (Figura 40c) de ELISA de sueros individuales (día 42) de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas con un constructo de ARNm que codificaba una proteína DsA1/DsA2/PITP quimérica o una combinación de dos ARNm que codificaban proteínas H4-V3 y P028-V7, respectivamente, en diferentes dosis, y que estaban encapsulados en una LNP que contenía GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10 como lípido catiónico. La LNP sola sirvió como control negativo. LLoQ = límite inferior de cuantificación.

La **FIGURA 41** muestra los títulos de unión a la superficie (SB) de sueros individuales (día 42) de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas con los mismos antígenos de ARNm que se describen en la Figura 40 y que estaban encapsulados en la misma LNP. La LNP sola sirvió como control negativo. El ensayo SB se realizó en una cepa de *C. acnes* NCTC737 (Figura 41a) o una cepa de *C. acnes* KPA171202 (Figura 41b).

La **FIGURA 42** muestra los títulos de muerte opsonofagocítica (OPK) de sueros individuales (día 42) de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas con los mismos antígenos de ARNm que se describen en la Figura 40 y que estaban encapsulados en la misma LNP. La LNP sola sirvió como control negativo. El ensayo OPK se realizó en una cepa de *C. acnes* NCTC737 (Figura 42a) o una cepa de *C. acnes* KPA171202 (Figura 42b).

La **FIGURA 43** muestra una tabla que resume el análisis de inmunotransferencia de tipo Western de la expresión de proteínas y la localización de constructos de ARNm de CAMP2 y PITP que contenían una SS de glucoproteína que provenía de virus de la gripe (subtipos A o B), rabia, varicela (VZV) o ébola, con o sin su respectivo dominio TMB de glucoproteína después de la transfección en células HEK Expi293F.

La **FIGURA 44** muestra el alineamiento de 27 secuencias de polipéptido CAMP2 diferentes identificadas a partir del análisis de 430 secuencias de CAMP2

de cepas de *C. acnes* de origen natural (que incluían KPA171202 y ATCC6919). La variación de secuencia entre esos polipéptidos CAMP2 se concentra en 34 residuos identificados en la secuencia con una longitud de 239 aminoácidos (que excluye la secuencia de péptido señal de secreción). Las Figuras 44a, b y c muestran diferentes segmentos (que se solapan) del alineamiento: los residuos 1-101 (a), 99-201 (b) y 199-267 (c) – incluyendo la numeración de residuos la secuencia de péptido señal de secreción.

La **FIGURA 45** muestra una visualización esquemática de los constructos de ARNm de "quimera cuádruple" que se han diseñado, sintetizado y evaluado experimentalmente.

LA **FIGURA 46** muestra los niveles de expresión de proteínas en sobrenadante (Figura 46a) y lisado celular (Figura 46b), medidos por HPLC-MS, después de la transfección celular in vitro de células HEK Expi293F con constructos de ARNm de "quimera cuádruple" (diseños de construcciones mostrados en la Figura 45) y otras construcciones de ARNm utilizadas como controles.

LA **FIGURA 47** muestra los títulos de IgG anti-DsA1 de ELISA (Figura 47a), anti-DsA2 (Figura 47b), anti-PITP (Figura 47c) y anti-CAMP2 (Figura 47d) de sueros (día 42 después de la primera inmunización) de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas con construcciones de ARNm de "quimera cuádruple" (diseños de constructos mostrados en la Figura 45), en comparación con una combinación de un constructo de ARNm que codifica CAMP2 expresado en la membrana celular y un constructo de ARNm que codifica la quimera triple H4-V3-f-PRO-028-V7-F16. Se evaluaron dos dosis (1 µg y 5 µg). Los constructos de ARNm se encapsularon en una LNP que comprende GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10 como lípido catiónico. La LNP sola sirvió como control negativo. EU = unidad ELISA.

La **FIGURA 48** muestra títulos de destrucción opsonofagocítica (OPK) de sueros individuales (día 42 después de la primera inmunización) de ratones inmunizados dos veces a intervalos de 4 semanas con los mismos constructos de ARNm, a las mismas dosis y encapsulados en el mismo LNP, como se describe en la Figura 47. La LNP sola sirvió como control negativo. El ensayo de OPK se realizó

en la cepa *NCTC737* de *C. acnes* (Figura 48a) o la cepa *KPA171202* de *C. acnes* (Figura 48B).

La **FIGURA 49** muestra títulos de unión a la superficie (SB) de sueros individuales (día 42 después de la primera inmunización) de ratones inmunizados dos veces a intervalos de 4 semanas con los mismos constructos de ARNm, a las mismas dosis y encapsulados en el mismo LNP, como se describe en la Figura 47. La LNP sola sirvió como control negativo. El ensayo SB se realizó en la cepa *NCTC737* de *C. acnes* (Figura 49a) o la cepa *KPA171202* de *C. acnes* (Figura 49B). LLOQ = límite inferior de cuantificación.

La **FIGURA 50** muestra títulos de neutralización cohemolítica de IgG purificada de sueros individuales (día 42 después de la primera inmunización) de ratones inmunizados dos veces a intervalos de 4 semanas con los mismos constructos de ARNm, a las mismas dosis y encapsulados en el mismo LNP, como se describe en la Figura 47. La LNP sola sirvió como control negativo. LLOQ = límite inferior de cuantificación.

MODOS DE REALIZACIÓN DE LA INVENCION

Ejemplo 1- Métodos principales

Ensayos de inmunoabsorción enzimática (ELISA)

Se utilizó un método ELISA para detectar y cuantificar la respuesta inmunitaria de IgG inducida por diferentes antígenos (p. ej., diferentes constructos basados en DsA1, DsA2, PITP o CAMP2) después de su administración a ratones.

Se midieron los títulos de IgG específicos de sueros individuales utilizando un método ELISA en una placa de 384 pocillos en una plataforma automática de Hamilton o de forma manual. Resumiendo, se recubrieron microplacas de 384 pocillos con la proteína recombinante de interés (p. ej., DsA1, DsA2, PITP, CAMP2), en concentraciones de proteína que variaban de 0.25 a 2 µg/mL en PBS 1X, y se mantuvieron durante la noche a +4 °C. Se retiró la solución de recubrimiento y se lavó con tampón 1 (PBS 1X/0.1 % de Tween20). Se evitó la unión inespecífica incubando las placas recubiertas con un tampón de saturación que contenía ya sea BSA al 2 % o leche descremada al 1% en PBS1X durante 90 min a temperatura

ambiente (TA). Las placas se vaciaron, después se añadió a las placas una dilución en serie con un factor de dilución de 2 de las muestras de suero (que contenían los anticuerpos IgG específicos objeto de medición). Las placas se incubaron durante 90 min a TA y después se lavaron con tampón 1. Los complejos de antígeno-anticuerpos formados se revelaron posteriormente añadiendo un anticuerpo secundario anti-especie (anticuerpo caprino contra IgG de ratón; JACKSON; 115-036-062 o anticuerpo caprino contra IgG de conejo; SIGMA; A0545) conjugado con peroxidasa de rábano picante (HRP). Después de 90 minutos de incubación a TA, las placas se lavaron con tampón 1. La reacción se reveló añadiendo un sustrato de peroxidasa (H_2O_2) combinado con un cromógeno (solución de TMB), lo cual indujo la hidrólisis del sustrato y reveló una coloración amarilla. La reacción de hidrólisis se detuvo químicamente después de 30 min a TA mediante la adición de HCl (1 N (normalidad)) y se midió la densidad óptica (DO) a 450-650 nm en un espectrofotómetro (Synergy HTX, Biotek). La diferencia entre la DO a 450 nm y la DO a 650 nm es directamente proporcional a la cantidad de anticuerpos IgG específicos unidos a la proteína recombinante de interés (antígeno). Los títulos de IgG de una muestra de suero se calcularon ya sea directamente expresando un título que es el inverso de la dilución correspondiente a una DO igual a 1 o en relación con un suero de referencia de la misma especie de animal que se aplica a cada placa. Los títulos de IgG (unidades arbitrarias) se calcularon utilizando el software Softmax Pro.

Ensayos de unión a la superficie (SBA)

Tras la administración de diferentes antígenos (p. ej., diferentes constructos basados en DsA1, DsA2, PITP o CAMP2) a ratones, se utilizaron ensayos de unión a la superficie (SBA) con un citómetro de fluorescencia para determinar la eficacia de la unión de anticuerpos séricos a la superficie celular de bacterias *Cutibacterium acnes* (*C. acnes*) vivas. En particular, se utilizó la capacidad de unirse a la superficie celular de cepas de *C. acnes* de diferentes tipos genéticos para evaluar la reactividad cruzada de los anticuerpos séricos.

Resumiendo, se precultivaron suspensiones bacterianas de cepas de *C. acnes* (p. ej., tipos IA1 (NCTC737) y IB (KPA171202) de *C. acnes*) en agar de sangre *Brucella* con Hemina y Vitamina K1 (BD) durante de 48 a 72 horas en condiciones anaeróbicas y se inocularon en caldo de Tioglicolato con una DO600nm de 0.15 durante de 16 a 18 horas a 37 °C en atmósfera anaeróbica. Los precultivos se diluyeron después en Tioglicolato con o sin la adición de 750 µg/mL de deferoxamina con una DO600nm de 0.15 y se incubaron 24 horas a 37 °C en condiciones anaeróbicas.

Las bacterias se lavaron y resuspendieron en tampón HBSS que contenía un 2 % de albúmina de suero bovino (BSA) hasta una concentración final de 4×10^6 unidades formadoras de colonias (UFC)/mL. Se dejó que las muestras de suero inactivado con calor y el suero de control del ensayo alcanzaran la TA y se diluyeron en HBSS con un 2 % de BSA. Se depositaron 50 µL de una dilución en serie con un factor de dilución de 2 de las muestras de suero y se depositaron 50 µL de la suspensión bacteriana en una placa de 96 pocillos profundos, y se incubó durante 30 min a TA. Para revelar los anticuerpos (contenidos en el suero) unidos a las bacterias, se lavaron las placas de reacción dos veces y se añadieron 100 µL de anticuerpo secundario anti-IgG de ratón/de conejo conjugado con Alexa Fluor 488 (Alexa Fluor 488-fragmento F(ab')₂ de anticuerpo caprino anti-IgG de conejo/ life technology # A1101) (diluido 1:500 en HBSS que contenía un 0.5 % de BSA), y se incubó durante 30 min a TA. Se añadieron 50 µL de SYTO60 (diluido 1:500 en HBSS) a la reacción y se incubó durante 15 min a TA, para teñir las bacterias. Las placas de reacción se lavaron dos veces y se resuspendieron las bacterias en 150 µL de HBSS para la adquisición de la mediana de intensidad de fluorescencia (MIF) con un citómetro de flujo (NovoCyte, Agilent). La MIF se correlaciona con la cantidad de anticuerpos unidos a la superficie.

Ensayos de muerte opsonofagocítica (OPK)

Se pueden utilizar ensayos de muerte opsonofagocítica (OPK) para determinar la capacidad de los anticuerpos de inducir la opsonización de bacterias *C. acnes* movilizand

una reducción en los números de células bacterianas. Se utilizaron ensayos OPK para evaluar los anticuerpos séricos inducidos por diferentes antígenos (p. ej., diferentes constructos basados en DsA1, DsA2, PITP o CAMP2) después de su administración a ratones.

5 El ensayo OPK implica el cocultivo de la estirpe celular HL-60 (una estirpe celular de leucemia promielocítica humana), diferenciada en células humanas granulocíticas con bacterias *C. acnes* vivas preincubadas con anticuerpos séricos.

Resumiendo, se diferenciaron células HL-60 (en una concentración de 5×10^5 células/mL) en medio de diferenciación celular que contenía dimetilformamida (DMF, Sigma), es decir, medio RPMI (medio RPMI 1640 1x+Glutamax (Gibco)) que
10 contenía un 10 % de FCS inactivado con calor y un 0,8 % de DMF, durante 3 días a 37 °C. Después del lavado, el número de células se ajustó hasta una concentración final de $5,28 \times 10^6$ células/ml en medio RPMI que contenía un 10 % de FCS y glucosa 20 mM.

15 Se cultivaron suspensiones bacterianas de cepas de *C. acnes* (p. ej., tipos IA1 (NCTC737) y IB (KPA171202) de secuencia multilocus de *C. acnes*) en caldo de tioglicolato a 37 °C en atmósfera anaeróbica hasta alcanzar una DO_{600nm} en el intervalo de 0.3 a 1.7. Las bacterias se lavaron y resuspendieron en tampón HBSS que contenía un 2 % de BSA, hasta una concentración final de 6×10^4 UFC/mL
20 (correspondiente a un número final de 1500 bacterias por pocillo durante la reacción) y se incubó a temperatura ambiente durante al menos 30 minutos como paso de saturación.

Se dejó que las muestras de suero inactivado con calor y el suero de control del ensayo alcanzaran la TA. En caso necesario, se realizó una predilución en medio
25 RPMI que contenía un 10 % de FCS y glucosa 20 mM. Se depositaron 50 µL de una dilución en serie con un factor de dilución de 2 de las muestras de suero en una placa de reacción de 96 pocillos.

Se mezclaron células HL-60 con las bacterias en una dilución de 1:6 (para tener una relación de 440 células HLA-60 por 1 bacteria) y se añadieron 150 µL de
30 la suspensión de células HL-60/bacterias a los pocillos que contenían las muestras

de suero diluidas. Después de una reacción de dos días, se sembraron 100 μ L de cada reacción en agar de sangre *Brucella* en tres diluciones diferentes. P. ej., se depositaron 40 μ L de mezcla de reacción diluida (1/50 para la cepa NCTC737 y 1/200 para la cepa KPA171202) en BBA. Después de la incubación anaeróbica de las placas a 37 °C durante un mínimo de 70 horas, se contaron las colonias en las placas con un contador de colonias (AES Laboratories); se tomó una foto de la placa de agar con una microcámara y se realizó un análisis de las imágenes con el software Cybel para contar las colonias. Se comparó el número de UFC en condiciones experimentales (con HL-60 diferenciadas) con las UFC de los controles negativos correspondientes. La actividad OPK se expresó como el título correspondiente a la dilución sérica recíproca que induce un 50 % de disminución en los conteos bacterianos viables (UFC) en comparación con los sueros de control negativo (título K50), según se determinó utilizando un modelo de regresión logístico de cuatro parámetros.

Ensayo de neutralización de la cohemólisis

Este ensayo se utilizó para medir los títulos serológicos de anticuerpos específicos de polipéptido CAMP2 de *C. acnes* recombinante (rCAMP2) neutralizantes.

Resumiendo, se purificaron IgG de los sueros murinos con el kit de proteína G Spintrap de alto rendimiento (Cytiva), según las instrucciones del fabricante.

Se prepararon glóbulos rojos de oveja (SRBC, por sus siglas en inglés) a partir de sangre entera suspendida en anticoagulante Alsever (al 50 % v/v), se lavaron tres veces con PBS frío y se resuspendieron en PBS añadiendo un volumen equivalente a 10 veces el del sedimento. Los SRBC se trataron posteriormente con esfingomielinasa (concentración final de 0.025 U/mL) durante 30 minutos a 37 °C, después se lavaron tres veces con PBS a TA. Se ajustó la concentración de SRBC a $8 \cdot 10^7$ células/mL.

Se depositaron 25 μ L de una dilución en serie con un factor de dilución de 2 de IgG purificadas y 25 μ L de rCAMP2 en una concentración de 10 μ g/mL en una placa de reacción de 96 pocillos, que se incubó a 37 °C durante 1 hora. A

continuación, se añadieron 50 μ L de SRBC y la reacción final se incubó durante 2 horas a 37 °C. Se registró el área de sedimento en cada pocillo con un lector de placas Multimode Imagine.

La presencia de anticuerpos que neutralizan la actividad biológica de rCAMP2 provocó la inhibición de la cohemólisis y, por lo tanto, permitió el depósito de glóbulos rojos intactos en el fondo del pocillo, que formaron un sedimento. Los títulos neutralizantes se definieron como la dilución recíproca que corresponde al 75 % del área de sedimento de control negativo tratada, que se denomina efecto de hemólisis 75 (HE75, por sus siglas en inglés). La determinación del título correspondiente a HE75 se basó en un modelo de regresión logística de cuatro parámetros.

Ejemplo 2 - Comparación de la plataforma de ARNm frente a la plataforma de proteínas, para los antígenos CAMP2, H4-V3 y P028-V7

El objetivo de este ejemplo era comparar las formulaciones que contenían ARNm que codificaba antígenos de *C. acnes* con formulaciones que contenían polipéptidos de *C. acnes* para determinar su capacidad de inducir una respuesta inmunitaria funcional. Los antígenos evaluados incluían polipéptidos CAMP2 de *C. acnes*, un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico (H4-V3) y polipéptido PITP de *C. acnes* (P028-V7).

Preparación de ARNm-LNP

Cada ARNm comprendía una cap1, una 5'UTR de CMV dada por la secuencia:

GGACAGAUCCGCGGAGACGCCAUCCACGCUGUUUUGACCUCCAUA
GAAGACACCGG

GACCGAUCCAGCCUCCGCGGCCGGGAACGGUGCAUUGGAACGCGGA
UUCCTCCGUGCC

AAGAGUGACUCACCGUCCUUGACACG (SEQ ID NO: 265), una 3' UTR de hGH dada por la secuencia:

CGGGUGGCAUCCUGUGACCCUCCCCAGUGCCUCUCCUGGCCCUG
GAAGUUGCCAC

UCCAGUGCCCACCAGCCUUGUCCUAAUAAAAUUAAGUUGCAUC (SEQ ID NO : 266),

y una cola de poliA. Cada ARNm se encapsuló en nanopartículas lipídicas (LNP) compuestas por cuatro lípidos: lípido ionizable (catiónico) / DOPE / colesterol / DMG-PEG, en una relación molar de 40: 30: 28.5: 1.5. En este ejemplo, se utilizó ckk-E10 como lípido ionizable para los ARNm que codificaban polipéptidos CAMP2 de *C. acnes* y se utilizó GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10 como lípido ionizable para el ARNm que codificaba H4-V3 y el ARNm que codificaba P028-V7.

Se prepararon LNP utilizando un proceso T-mix. Resumiendo, se disolvieron los lípidos en etanol (EtOH) en una concentración final de 9.331 mg/ml y se preparó una solución de ARNm en solución salina de tampón de citrato (CBS con una concentración de citrato 1mM, pH 4.5 y cloruro de sodio 150 mM). Se cargaron 3 mL de la solución lipídica y 12 mL de la solución de ARNm, respectivamente, en una jeringa de 5 mL y 20 mL. Utilizando un sistema T-mix de 3/32" y bombas, se mezclaron la solución de ARNm y lípidos en una tasa de flujo total de 250 mL/min (tasa de flujo de 50 mL/min para los lípidos y tasa de flujo de 200 mL/min para el ARNm). La mezcla se trató después mediante intercambio de tampón. En primer lugar, se realizó una diálisis en 80:20 de agua:EtOH durante 2 h a temperatura ambiente (TA), después se realizó una segunda diálisis en agua durante la noche a +4 °C. El último paso fue una concentración hasta 1 mg/mL de ARNm y un intercambio de tampón en Amicon a +4 °C con un 10 % de trehalosa. A continuación, se filtraron las LNP en condiciones estériles y se almacenaron a -80 °C.

Inmunización de ratones

Se inmunizaron ratones exogámicos OF-1 (de 6 semanas el día 0) con el ARNm o antígeno proteico (en dosis que variaban entre 0.2 y 10 µg para ARNm de CAMP2, y en dosis de 1 y 5 µg para los ARNm de H4-V3 y P028-V7, y en 10 µg para todas las proteínas), dos veces, en un intervalo de 3 o 4 semanas, por la vía intramuscular (IM) (50 µL en los cuádriceps de las patas traseras, alternando de la pata derecha a la izquierda entre ambas inyecciones). Las LNP solas sirvieron como controles negativos para las inmunizaciones con ARNm. Se realizó una última

extracción de sangre 7 o 14 días después de la última inyección, y los sueros obtenidos se analizaron en un ensayo de neutralización de la cohemólisis (como se describe en el Ejemplo 1), en un ensayo de unión a la superficie (como se describe en el Ejemplo 1) y/o en un ensayo OPK (como se describe en el Ejemplo 1).

5 *La inmunización con antígenos CAMP2 de C. acnes induce anticuerpos que disminuyen la actividad cohemolítica de CAMP2*

Se evaluaron antígenos CAMP2 de *C. acnes* para determinar su capacidad de inducir anticuerpos que reduzcan la actividad inflamatoria de CAMP2 de *C. acnes*, utilizando un ensayo de neutralización de la cohemólisis.

10 Se evaluaron los siguientes antígenos:

- Dos ARNm con codones optimizados diferentes, que codificaban ambos un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* natural con una HA SS aminoterminal (SEQ ID NO: 2): “ssHA-CAMP2_WT_GA” (SEQ ID NO: 87) y “ssHA-CAMP2_WT_GS” (SEQ ID NO: 88)

15 • Dos ARNm con codones optimizados diferentes, que codificaban ambos un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* con mutaciones en sitios de N-glucosilación y con una HA SS aminoterminal (SEQ ID NO: 10): “ssHA-CAMP2_G-_GA” (SEQ ID NO: 95) y “ssHA-CAMP2_G-_GS” (SEQ ID NO: 96)

20 • El polipéptido CAMP2 de *C. acnes* recombinante de la SEQ ID NO: 1

Se diseñaron secuencias de ARNm para codificar la forma secretada de CAMP2. Cada secuencia de ARNm se optimizó utilizando dos algoritmos diferentes y se realizó una síntesis de ARNm utilizando nucleótidos sin modificar. Se evaluó cada constructo de antígeno de ARNm (encapsulado en una LNP con ckk-E10 como lípido ionizable) en dosis que variaban de 0.2 a 10 µg por ratón. El polipéptido CAMP2 de *C. acnes* recombinante de la SEQ ID NO: 1 se formuló en ya sea hidróxido de aluminio (AlOOH) o SPA14 y se evaluó en una dosis de 10 µg por ratón. Los ratones se inmunizaron dos veces en un intervalo de 3 semanas. Los sueros se obtuvieron el día 35 después de la primera inmunización y se purificaron

30

las IgG a partir de los sueros. Como se muestra en la Figura 1, todas las formulaciones que contenían ARNm indujeron títulos neutralizantes equivalentes o superiores a las formulaciones con CAMP2 recombinante. La dosis óptima para las formulaciones que contenían ARNm fue de 5 µg.

5 *Evaluación de antígenos DsA1/DsA2 de C. acnes quiméricos*

Un ARNm que codifica un polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico, H4-V3 (SEQ ID NO: 28, que tiene una secuencia de nucleótidos que corresponde a la SEQ ID NO: 113) se evaluó para determinar su capacidad de inducir anticuerpos opsonizantes. Se diseñaron secuencias de ARNm para codificar la forma secretada de H4-V3. El ARNm se sintetizó utilizando nucleótidos modificados (en los que todos los nucleósidos de uridina se reemplazaron por 1-metilpseudouridina). El ARNm (encapsulado en una LNP con GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10 como lípido ionizable) se evaluó en una dosis de 1 y 5 µg por ratón. El polipéptido H4-V3 recombinante de la SEQ ID NO: 29 (formulado en adyuvante AIOOH) se evaluó en una dosis de 10 µg por ratón. Los ratones se inmunizaron dos veces en un intervalo de 4 semanas. Los sueros se obtuvieron el día 42 después de la primera inmunización, y se realizaron ensayos de unión a la superficie (SB) y muerte opsonofagocítica (OPK) de mezclas de sueros (OPK) en una cepa de *C. acnes* NCTC737 (IA1, RT1). Esta cepa expresó DsA1, DsA2 y PITP. Como se muestra en la Figura 2, la plataforma de ARNm se comportó al menos igual de bien que la plataforma de proteínas cuando se utilizó una quimera de DsA1/DsA2 (H4-V3) como antígeno, como se demostró mediante un ensayo de unión a la superficie y un ensayo OPK.

15 *Evaluación de antígenos PITP de C. acnes*

Un ARNm que codificaba un polipéptido PITP de *C. acnes*, P028-V7 (SEQ ID NO: 31, que tiene una secuencia de nucleótidos que corresponde a la SEQ ID NO: 115) se evaluó para determinar su capacidad de inducir anticuerpos opsonizantes. Se diseñaron secuencias de ARNm para codificar la forma secretada de P028-V7. El ARNm se sintetizó utilizando nucleótidos modificados (en los que todos los nucleósidos de uridina se reemplazaron por 1-metilpseudouridina). El ARNm (encapsulado en una LNP con GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10 como lípido ionizable)

se evaluó en una dosis de 1 y 5 µg por ratón. El polipéptido P028-V7 recombinante de la SEQ ID NO: 32 (formulado en adyuvante AIOOH) se evaluó en una dosis de 10 µg por ratón. Los ratones se inmunizaron dos veces en un intervalo de 4 semanas. Los sueros se obtuvieron el día 42 después de la primera inmunización, y se realizaron ensayos de unión a la superficie (SB) y muerte opsonofagocítica (OPK) de mezclas de sueros en cepas de *C. acnes* NCTC737 y KPA171202. La plataforma de ARNm se comportó al menos igual de bien que la plataforma de proteínas cuando se utilizó una variante de PITP (P028-V7) como antígeno, como se demostró mediante un ensayo de unión a la superficie y un ensayo OPK, utilizando una cepa de *C. acnes* NCTC737 (IA1, RT1) o una cepa de *C. acnes* KPA171702, como se muestra en la Figura 3a y 3b respectivamente. La cepa NCTC737 expresó DsA1, DsA2 y PITP. La cepa KPA171202 expresó PITP, pero no DsA1 o DsA2.

Ejemplo 3 - Evaluación de antígenos de ARNm de CAMP2

El objetivo de este ejemplo era evaluar una serie de constructos de antígeno CAMP2 de *C. acnes* para determinar su capacidad de inducir una respuesta inmunitaria funcional, según se evaluó utilizando ensayos de neutralización de la cohemólisis y ensayos ELISA.

Diseño de constructos de polipéptido CAMP2 de C. acnes

Todas las secuencias de polipéptido CAMP2 de *C. acnes* provenían de la secuencia de polipéptido CAMP2 de la cepa de *C. acnes* KPA171202 que carecía de una secuencia de señal nativa.

Se diseñaron seis constructos de ARNm, que codificaban constructos de polipéptido CAMP2 de *C. acnes* secretados, como se representa en las tres primeras líneas en la Tabla de la Figura 4. Cada constructo comprendía una secuencia de péptido señal de secreción aminoterminal (HA, H1N1 A/Caledonia/20/1999) (HA SS) para dirigir la proteína codificada para su secreción. Los constructos no N-desglucosilados (LHS) incluyen:

- un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* nativo ("HA SS CAMP2_WT") (el ARNm de acuerdo con la SEQ ID NO: 89),

- un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* con mutaciones de aminoácidos en el resto conector (“HA SS CAMP2_mL”) (ARNm de acuerdo con la SEQ ID NO: 98)

5 - un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* con mutaciones de aminoácidos dentro de su dominio carboxiterminal (“HA SS CAMP2_mCTer”) (ARNm de acuerdo con la SEQ ID NO: 100)

Para cada uno de los tres constructos no N-desglucosilados, se diseñó un constructo homólogo N-desglucosilado con mutaciones en un sitio de N-glucosilación (una sustitución de Asn166 por Ser) (RHS):

10 - un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* con una mutación N166S (“HA SS CAMP2_G(-)”) (ARNm de acuerdo con la SEQ ID NO: 97)

- un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* con mutaciones de aminoácidos en el resto conector y con una mutación N166S (“HA SS CAMP2_G(-)_mL”) (ARNm de acuerdo con la SEQ ID NO: 99)

15 - un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* con mutaciones de aminoácidos dentro de su dominio carboxiterminal y con una mutación N166S (“HA SS CAMP2_G(-)mCTer”) (ARNm de acuerdo con la SEQ ID NO: 101)

Adicionalmente, se diseñaron cuatro constructos de ARNm, que codificaban
20 constructos de polipéptido CAMP2 de *C. acnes* anclados a la membrana, como se representa en las dos últimas líneas en la Tabla de la Figura 4. Los constructos no N-desglucosilados (LHS) incluyen:

25 - un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* nativo dirigido a la membrana a través de una secuencia de dominio transmembranario carboxiterminal (HA TMB) de la hemaglutinina de la gripe (HA, H1N1 A/Caledonia/20/1999) (“HA SS CAMP2_WT HA TMB”) (ARNm de acuerdo con la SEQ ID NO: 90)

30 - un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* nativo dirigido a la membrana a través de una secuencia de dominio transmembranario aminoterminal (NA TMB) de la neuraminidasa (HA, H1N1

A/Caledonia/20/1999) ("NA TMB CAMP2_WT") (ARNm de acuerdo con la SEQ ID NO: 92)

Para cada uno de los dos constructos no N-desglucosilados, se diseñó un constructo homólogo N-desglucosilado con una mutación en un sitio de N-glucosilación (una sustitución de Asn166 por Ser) (RHS):

- un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* con una mutación N166S dirigido a la membrana a través de una secuencia de dominio transmembranario carboxiterminal (HA TMB) de la hemaglutinina de la gripe (HA, H1N1 A/Caledonia/20/1999) ("HA SS CAMP2_G(-) HA TMB") (ARNm de acuerdo con la SEQ ID NO: 94)

- un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* con una mutación N166S dirigido a la membrana a través de una secuencia de dominio transmembranario aminoterminal (NA TMB) de la neuraminidasa (HA, H1N1 A/Caledonia/20/1999) ("NA TMB CAMP2_G(-)") (ARNm de acuerdo con la SEQ ID NO: 93)

Generación de anticuerpos policlonales

Los anticuerpos policlonales anti-CAMP2 de conejo utilizados en este ejemplo se proporcionaron en forma de una mezcla de 3 sueros policlonales de conejo. Un conejo blanco KBL NZ hembra recibió tres inmunizaciones de polipéptido CAMP2 de *C. acnes* recombinante (SEQ ID NO: 1) formulado en SPA14 y administrado por vía IM en la semana, semana 3 y semana 6. Las últimas extracciones de sangre se realizaron el día 56. Se obtuvieron los sueros recogiendo el sobrenadante después de la coagulación y la centrifugación de la sangre. Se almacenaron alícuotas de los sueros a ≤ -20 °C

Generación de anticuerpos monoclonales

Los anticuerpos monoclonales G05, G03 y D07 se identificaron mediante presentación en fagos utilizando una colección de VHH sintéticos humanizados. Los fagos se seleccionaron frente al polipéptido CAMP2 de *C. acnes* (SEQ ID NO: 1) expresado en un sistema de expresión acelular basado en *E. coli*. Después de un cribado por ELISA, los clones seleccionados se secuenciaron, se reformatearon en

minicuerpos (VHH-Fc humano), se produjeron en células de mamífero y se purificaron. A continuación, se caracterizaron los minicuerpos mediante BLI para verificar y caracterizar la afinidad y el epítipo dentro del polipéptido CAMP2 de *C. acnes* recombinante. La actividad funcional se caracterizó utilizando un ensayo de neutralización de la cohemólisis (como se describe en el Ejemplo 1). Se seleccionaron los clones G05, G03 y D07 como los clones con los mejores resultados. Se concluyó que G05, D07 y G03 (que se dirige al mismo epítipo que D07) eran mAb funcionales, ya que se demostró que disminuían la actividad cohemolítica de CAMP2.

Caracterización de los productos de la expresión de constructos de CAMP2 de *C. acnes* en células HEK

A continuación, los constructos de ARNm que codificaban polipéptidos CAMP2 de *C. acnes* representados en la Figura 4 se transfectaron en células HEK (transfección celular *in vitro*). Se monitoreó la expresión de las proteínas en el compartimento celular donde se esperaba la expresión (es decir, en el sobrenadante celular para los constructos diseñados para secretarse y en la membrana para los constructos diseñados para anclarse a la membrana). El compartimento de expresión de los polipéptidos CAMP2 de *C. acnes* se evaluó mediante inmunotransferencia de tipo Western utilizando anticuerpos policlonales (pAb) anti-CAMP2 de conejo y anticuerpos monoclonales (mAb G05 y D07). Como se muestra en la Figura 5, los polipéptidos CAMP2 de *C. acnes* diseñados para secretarse se detectaron en el sobrenadante para todos los constructos como se esperaba. Los polipéptidos CAMP2 de *C. acnes* diseñados para anclarse a la membrana utilizando un HA TMB carboxiterminal se detectaron en la membrana celular para todos los constructos como se esperaba. En cambio, los polipéptidos CAMP2 *C. de acnes* CAMP2 diseñados para anclarse a la membrana utilizando un NA TMB aminoterminal se detectaron en el sobrenadante, lo cual indica que este constructo no se localizó a la membrana.

A continuación, se evaluaron los productos de la expresión de los constructos de ARNm que codificaban polipéptidos CAMP2 de *C. acnes* representados en la

Figura 4 para determinar su actividad cohemolítica, con el objetivo de su identificación adicional evaluando si el anclaje de la proteína a la membrana y las mutaciones en polipéptidos CAMP2 de *C. acnes* afectan a la actividad cohemolítica de las proteínas. Como se muestra en la Tabla de la Figura 5, HA SS CAMP2_WT ("WT G(+)") y su homólogo N-desglucosilado HA SS CAMP2_G(-) ("WT G(-)") mostraron una fuerte actividad cohemolítica. El polipéptido CAMP2 de *C. acnes* se ancló con éxito a la membrana, HA SS CAMP2_WT HA TMB ("WT C-Ter (HA) TMB G(+)") y HA SS CAMP2_G(-) HA TMB ("WT C-Ter (HA) TMB G(-)") mostraron una actividad cohemolítica reducida o suprimida. Las mutaciones en la hélice carboxiterminal (constructos "Mutated C-ter Helix") o el conector (constructos "Mutated Linker") redujeron o suprimieron la actividad cohemolítica de CAMP2. Los constructos NA TMB CAMP2_WT y NA TMB CAMP2_G(-) ("WT N-Ter (NA) TMB") (que se diseñaron para anclarse a la membrana, pero que sin embargo se detectaron en el sobrenadante) originaron actividad cohemolítica en el sobrenadante. En conjunto, estas observaciones indicaron que el conector y la hélice carboxiterminal contenían o contribuían a dominios funcionales de la proteína.

Los productos de la expresión de los constructos de ARNm que codificaban polipéptidos CAMP2 de *C. acnes* se estudiaron además utilizando anticuerpos monoclonales para detectar la presencia de epítomos funcionales. Como se muestra en la Figura 5, G05 y D07 son mAb funcionales, ya que son capaces de disminuir la actividad cohemolítica de CAMP2. Por lo tanto, la detección de un polipéptido CAMP2 de *C. acnes* dado con estos mAb se interpretó como una indicación de que el polipéptido contenía epítomos funcionales. Todos los mAb detectaron HA SS CAMP2_WT y su homólogo N-desglucosilado HA SS CAMP2_G(-). Sin embargo, la detección con mAb G05 se suprimió con constructos de CAMP2 con un conector mutado, mientras que mAb D07 se suprimió con constructos de CAMP2 con la hélice carboxiterminal mutada. En conjunto, estas observaciones indicaron que el conector y la hélice carboxiterminal contenían epítomos funcionales.

La inmunización con antígenos CAMP2 de C. acnes induce anticuerpos que disminuyen la actividad cohemolítica de CAMP2

Se sintetizaron siete constructos de ARNm que codificaban polipéptidos CAMP2 de *C. acnes*, frente a los 10 constructos descritos en la Figura 4, utilizando nucleótidos modificados (en los que todos los nucleósidos de uridina se reemplazaron por 1-metilpseudouridina) y se encapsularon en una LNP que comprendía GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10 como lípido catiónico. La LNP sola sirvió como control negativo. Estas formulaciones se utilizaron para inmunizar ratones dos veces en un intervalo de 4 semanas, cada vez con una dosis de 5 µg por ratón. Los ratones se inmunizaron dos veces en un intervalo de 4 semanas. Los sueros se obtuvieron el día 42 después de la primera inmunización y se purificaron las IgG a partir de los sueros. Como se muestra en la Figura 6, los polipéptidos CAMP2 de *C. acnes* anclados a la membrana (“HA SS CAMP2_WT HA TMB” y “HA SS CAMP2_G(-) HA TMB”) mostraron ambos unos títulos neutralizantes homogéneos significativamente más altos en comparación con los otros constructos evaluados. “HA SS CAMP2_WT HA TMB” y “HA SS CAMP2_G(-) HA TMB” se comportaron de forma semejante.

La inmunización con antígenos CAMP2 de C. acnes induce una respuesta de IgG anti-CAMP2

Se sintetizaron constructos de ARNm que codificaban polipéptidos CAMP2 de *C. acnes* (como se describen en la Figura 4) utilizando nucleótidos modificados (en los que todos los nucleósidos de uridina se reemplazaron por 1-metilpseudouridina) y se encapsularon en una LNP que comprendía GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10 como lípido catiónico. La LNP sola sirvió como control negativo. Estas formulaciones se utilizaron para inmunizar ratones dos veces en un intervalo de 4 semanas, cada vez con una dosis de 5 µg por ratón. Los sueros se obtuvieron el día 42 después de la primera inmunización y se purificaron las IgG a partir de los sueros.

En la Figura 7 se muestran los títulos de Ig anti-CAMP2 de *C. acnes* tal como se midieron por ELISA. Todos los constructos de ARNm (lista de constructos) indujeron títulos de Ig anti-CAMP2 homogéneos, altos y comparables.

Análisis de la glucosilación de polipéptidos CAMP2 de C. acnes en células HEK

El polipéptido CAMP2 de *C. acnes* nativo (SEQ ID NO: 203) contiene un sitio de N-glucosilación. Su secuencia también tiene 15 residuos de serina y 28 de treonina.

Se realizó una inmunotransferencia de tipo Western utilizando mAb anti-CAMP2 G05 para polipéptido CAMP2 de *C. acnes* recombinante (rCAMP2) y polipéptidos CAMP2 de *C. acnes* expresados en células HEK transfectadas ya sea con ARNm que codificaba CAMP2 sin mutar secretado (CAMP2 Nativo) o CAMP2 secretado con sitio de glucosilación mutado (CAMP2 Nglyc-neg). Los polipéptidos CAMP2 de *C. acnes* expresados por células HEK presentaron un peso molecular aparente más alto en comparación con rCAMP2 en SDS PAGE, lo cual indica que los polipéptidos CAMP2 de *C. acnes* experimentan glucosilación en células HEK (datos no mostrados). Como se esperaba, el peso molecular de CAMP2 Nglyc-neg fue menor que CAMP2 sin mutar, lo cual indica que el CAMP2 sin mutar experimentó tanto N- como O-glucosilación. Se mostró además que la proteína estaba alta y heterogéneamente O-glucosilada como se demostró por espectrometría de masas.

Los análisis por interferometría de biocapa (BLI) mostraron que el CAMP2 glucosilado fue reconocido por los mAb funcionales G05 y D07 así como proteína sin glucosilar con parámetros de la cinética de unión similares (Tabla 9).

Tabla 9: Datos de afinidad de los mAb y polipéptidos CAMP2 de *C. acnes* obtenidos mediante análisis por BLI

mAb	KD (M)	
	Sin glucosilar rCAMP2 #1 (<i>E. coli</i>)	Glucosilados rCAMP2-His #1 (HEK)
mAb G05	1,5E-9	1,6E-9
mAb D07	6,2E-9	4,1E-9

Ejemplo 4 - Evaluación de antígenos de ARNm de DsA1, DsA2 y PITP específicos

Ejemplo 4A: Evaluación de antígenos de ARNm de DsA1, DsA2 y DsA1/DsA2 quimérico específicos

Se evaluaron constructos que codificaban el polipéptido DsA1 de *C. acnes*, polipéptido DsA2 de *C. acnes* y polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico para determinar su capacidad de inducir anticuerpos funcionales en ratones:

- un constructo de ARNm que codificaba la forma secretada de DsA1 ("HA SS_DSA1_WT_trunc") (SEQ ID NO: 103)

- un constructo de ARNm que codificaba la forma secretada de DsA2 ("HA SS_DSA2_WT_trunc") (SEQ ID NO: 107)

- un constructo de ARNm que codificaba la forma secretada de DsA2 mutH (es decir, con una mutación que tenía como objetivo evitar la posible reactividad cruzada en humanos) ("HA SS_DSA2 mutH") (SEQ ID NO: 108)

- un constructo de ARNm que codificaba la forma secretada de H4-V3 (SEQ ID NO: 113)

- un constructo de ARNm que codificaba la forma anclada a la membrana de DsA1 ("HA SS_DSA1_HA TMB") (SEQ ID NO: 102)

- un constructo de ARNm que codificaba la forma anclada a la membrana de DsA1 (con un conector Ser-Gly-Ser entre el antígeno y el HA-TMB) ("HA SS_DSA1_HA TMB-sgs linker") (SEQ ID NO: 104)

- un constructo de ARNm que codificaba la forma anclada a la membrana de DsA2 ("HA SS_DSA2_HA TMB") (SEQ ID NO: 105)

- un constructo de ARNm que codificaba la forma anclada a la membrana de DsA2 (con un conector Ser-Gly-Ser entre el antígeno y el HA-TMB) ("HA SS_DSA2_HA TMB-sgs linker") (SEQ ID NO: 106)

- un constructo de ARNm que codificaba la forma anclada a la membrana de DsA2 mutH ("HA SS_DSA2-mutH_HA TMB") (SEQ ID NO: 109)

- un constructo de ARNm que codificaba la forma anclada a la membrana de DsA2 mutH (con un conector Ser-Gly-Ser entre el antígeno y el HA-TMB) (SEQ ID NO: 110)

- un constructo de ARNm que codificaba la forma anclada a la membrana de DsA2 con mutaciones de N-glucosilación (“DSA2 Nglyc-neg sgs linker”) (SEQ ID NO: 111)

- un constructo de ARNm que codificaba la forma anclada a la membrana de DsA2 con mutaciones de N-glucosilación (“DSA2 Nglyc-neg”) (SEQ ID NO: 112)

- una formulación que contenía 10 µg de proteína recombinante H4-V3 formulada en AIOOH (SEQ ID NO: 29)

La síntesis de ARNm se realizó utilizando nucleótidos modificados (en los que todos los nucleósidos de uridina se reemplazaron por 1-metilpseudouridina). Los constructos de ARNm se encapsularon en una LNP que comprendía GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10 como lípido catiónico. La LNP sola sirvió como control negativo. Los ratones se inmunizaron dos veces en un intervalo de 4 semanas. El contenido de ARNm en la formulación evaluada fue de 1 µg y 5 µg por dosis. Los sueros se obtuvieron el día 42 después de la primera inmunización.

Los antígenos de ARNm de DsA1, DsA2 y DsA1/DsA2 quimérico inducen una respuesta de IgG anti-DsA1

Se evaluaron constructos que codificaban el polipéptido DsA1 de *C. acnes*, polipéptido DsA2 de *C. acnes* y polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico para determinar su capacidad de inducir una respuesta de IgG anti-DsA1.

Como se muestra en la Figura 8, todas las formulaciones evaluadas que contenían 5 µg de ARNm indujeron títulos de IgG anti-DsA1 de ELISA ya sean comparables o superiores en comparación con las formulaciones que contenían 1 µg de ARNm. Todas las formulaciones de ARNm que contenían la misma cantidad de ARNm indujeron títulos de IgG anti-DsA1 de ELISA comparables que fueron ya sean superiores (5 µg de ARNm por dosis) o equivalentes (1 µg de ARNm por dosis) en comparación con formulaciones de proteína recombinante.

Los antígenos de ARNm de DsA1, DsA2 y DsA1/DsA2 quimérico inducen una respuesta de IgG anti-DsA2

Se evaluaron constructos que codificaban el polipéptido DsA1 de *C. acnes*, polipéptido DsA2 de *C. acnes* y polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico para determinar su capacidad de inducir una respuesta de IgG anti-DsA2.

Como se muestra en la Figura 9, todas las formulaciones evaluadas que contenían 5µg de ARNm indujeron títulos de IgG anti-DsA2 de ELISA ya sean comparables o superiores a las formulaciones que contenían 1µg de ARNm. Todas las formulaciones de ARNm que contenían la misma cantidad de ARNm indujeron títulos de IgG anti-DsA2 de ELISA comparables que fueron ya sean superiores (5 µg de ARNm por dosis) o equivalentes (1 µg de ARNm por dosis) a las formulaciones de proteína recombinante.

Los antígenos de ARNm de DsA1, DsA2 y DsA1/DsA2 quimérico inducen anticuerpos que se unen a la superficie de C. acnes

Se realizaron ensayos de unión a la superficie (SB) en una cepa de *C. acnes* NCTC737 a partir de mezclas de sueros generados con una dosis de 5 µg. Los resultados con los constructos anclados a la membrana ilustran las medias de 2 experimentos independientes. Como se muestra en la Figura 10, todas las formulaciones de ARNm indujeron títulos de SB comparables.

Los antígenos de ARNm de DsA1, DsA2 y DsA1/DsA2 quimérico inducen anticuerpos con actividad opsonofagocítica

Se evaluaron constructos que codificaban el polipéptido DsA1 de *C. acnes*, polipéptido DsA2 de *C. acnes* y polipéptido DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico para determinar su capacidad de inducir anticuerpos con actividad opsonofagocítica.

Se realizaron ensayos OPK en cepas de *C. acnes* NCTC737 a partir de mezclas de sueros generados con una dosis de 5 µg. Los resultados ilustran las medias de 2 (constructos secretados) o 3 (constructos anclados a la membrana) experimentos independientes. Como se muestra en la Figura 11, todas las formulaciones de ARNm indujeron títulos de OPK comparables.

El ARNm que codifica el polipéptido DsA1/DsA2 quimérico no experimenta N-glucosilación

Se realizó una inmunotransferencia de tipo Western para la proteína H4-V3 recombinante (SEQ ID NO: 29) y la proteína expresada por células HE transfectadas ya sea con ARNm que codificaba H4-V3 sin mutar secretada (SEQ ID NO: 113) o H4-V3 con sitio de glucosilación mutado (H4-V3 Nglyc-neg) (SEQ ID NO: 114). Las proteínas expresadas por HEK presentaron un peso molecular más alto que la proteína H4-V3 recombinante, lo cual indica que las proteínas experimentan glucosilación en células HEK (datos no mostrados). El peso molecular de la proteína del constructo H4-V3 Nglyc-neg resultó ser el mismo que el del constructo H4-V3 sin mutar, lo cual sugiere que la proteína no experimentó N-glucosilación. H4-V3 experimentó solamente O-glucosilación.

Ejemplo 4B: Evaluación de antígenos de ARNm de PITP específicos

Se evaluaron los siguientes constructos de ARNm que codificaban el polipéptido PITP de *C. acnes* para determinar su capacidad de inducir anticuerpos funcionales en ratones:

- ARNm que codificaba PITP nativo, secretado ("ssHA_PITP_WT_trunc") (SEQ ID NO: 117)
- ARNm que codificaba PITP secretado con mutaciones en sitios de N-glucosilación (PITP Nglyc-neg) (SEQ ID NO: 118)
- ARNm que codificaba P028-V7 secretado (SEQ ID NO: 115)
- ARNm que codificaba P028-V7 secretado con mutaciones en sitios de N-glucosilación (P028-V7 Nglyc-neg) (SEQ ID NO: 119)
- ARNm que codificaba PITP nativo anclado a la membrana (SEQ ID NO: 120)
- ARNm que codificaba PITP anclado a la membrana con mutaciones en sitios de N-glucosilación (PITP Nglyc-neg) (SEQ ID NO: 121)
- proteína recombinante P028-V7 (SEQ ID NO: 32)

La síntesis de ARNm se realizó utilizando nucleótidos modificados (en los que todos los nucleósidos de uridina se reemplazaron por 1-metilpseudouridina).

Los constructos de ARNm se encapsularon en una LNP que comprendía GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10 como lípido catiónico. Se utilizó LNP sola como control negativo. Los ratones se inmunizaron dos veces en un intervalo de 4 semanas. El contenido de ARNm en la formulación evaluada fue de 5 µg por dosis. Se utilizó una formulación que contenía 10 µg de proteína recombinante P028-V7 formulada en AIOOH como referencia. Los sueros se obtuvieron el día 42 después de la primera inmunización.

Los antígenos de ARNm de PITP inducen una respuesta de IgG anti-PITP

Se midieron los títulos de IgG anti-PITP a partir de sueros individuales de ratones. Como se muestra en la Figura 12, el PITP anclado a la membrana indujo títulos de anti-PITP superiores en comparación con los inducidos por la formulación proteica. Todas las demás formulaciones de ARNm indujeron títulos de IgG anti-PITP que fueron comparables con la formulación proteica.

Los antígenos de ARNm de PITP inducen anticuerpos que se unen a la superficie de C. acnes

Se midieron los títulos de unión a la superficie (SB) en mezclas de sueros y el ensayo se realizó en una cepa de *C. acnes* NCTC737. Como se muestra en la Figura 13, todas las formulaciones de ARNm indujeron títulos de SB comparables que también son comparables a la formulación proteica.

Se realizó el mismo experimento en una cepa de *C. acnes* KPA171202. Como se muestra en la Figura 14, todas las formulaciones de ARNm indujeron títulos de SB comparables que también son comparables a la formulación proteica.

Los antígenos de ARNm de PITP inducen anticuerpos con actividad opsonofagocítica

Se midieron los títulos de muerte opsonofagocítica (OPK) en cepas de *C. acnes* NCTC737, a partir de mezclas de sueros de ratones. Los resultados con los constructos anclados a la membrana ilustran las medias de 3 experimentos independientes. Como se muestra en la Figura 15, todas las formulaciones de ARNm indujeron títulos de OPK comparables que parecían mediblemente superiores a la formulación proteica.

Se realizó el mismo experimento con la cepa de *C. acnes* KPA171202, salvo que los resultados con los constructos anclados a la membrana ilustran las medias de 2 experimentos independientes. Como se muestra en la Figura 16, todas las formulaciones de ARNm indujeron títulos de OPK comparables que parecían mediblemente superiores a la formulación proteica.

Ejemplo 5 – La inmunización con ARNm de H4-V3 y ARNm de P28-V7 origina respuestas de anticuerpos que reconocen una serie de cepas de *C. acnes* (reactividad cruzada)

La síntesis de ARNm se realizó utilizando nucleótidos modificados (en los que todos los nucleósidos de uridina se reemplazaron por 1-metilpseudouridina). Los constructos de ARNm se encapsularon en una LNP que comprendía GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10 como lípido catiónico. La LNP sola sirvió como control negativo. Los ratones se inmunizaron dos veces en un intervalo de 4 semanas con los mismos antígenos de ARNm que se describen en el Ejemplo 4 como se ilustra en las figuras 10a, 11a (constructos de DsA1 y DsA2 respectivamente) y 16a (constructos de PITP). El contenido de ARNm en la formulación evaluada fue de 1 µg y 5 µg por dosis. Los sueros se obtuvieron el día 42 después de la primera inmunización.

Se evaluaron los títulos de unión a la superficie (SB) de un ensayo realizado en cepas de *C. acnes* NCTC737, KPA171202 y otras cinco cepas (como se enumeran en la Tabla 10) a partir de mezclas de sueros. Las cepas se seleccionaron para reflejar la proporción de filotipos encontrados en el acné vulgar y que se basa en i) el nivel de expresión de antígenos y ii) el ribotipo. Los resultados para la dosificación de 5 µg se muestran en la Figura 17. El ARNm que codificaba H4-V3 secretado y el ARNm que codificaba P028-V7 secretado se comportaron al menos igual de bien que otros constructos de ARNm que codificaban antígenos DsA1, DsA2 o PITP secretados o sus homólogos de proteína recombinante, contra una serie de cepas de *C. acnes*.

Tabla 10. Colección de cepas utilizadas en el Ejemplo 5

	Cepa	Nombre de cepa alternativo	Filotipo	Ribotipo (RT)	Fuente	Referencia para el análisis filogénico
5	NCTC737	PAC205	IA1	1	NCTC	Liu <i>et al.</i> 2014
	HL043PA1	PAC134	IA1	5	BEI Resources	McDowell <i>et al.</i> 2012 Tomida <i>et al.</i> 2013
10	HL043PA2	PAC135	IA1	5	BEI Resources	McDowell <i>et al.</i> 2012 Tomida <i>et al.</i> 2013
	HL053PA1	PAC138	IA1	4	BEI Resources	McDowell <i>et al.</i> 2012 Tomida <i>et al.</i> 2013
15	HL056PA1	PAC185	IA1	4	BEI Resources	McDowell <i>et al.</i> 2012 Tomida <i>et al.</i> 2013
20	KPA171202	PAC204	IB	1	DSMZ	Bruggeman <i>et al.</i> 2004 Brzuszkiewicz <i>et al.</i> 2011 Tomida <i>et al.</i> 2013
25	HL050PA2	PAC137	II	1	BEI Resources	Tomida <i>et al.</i> 2013

Bibliografía

Bruggemann, H., Henne, A., Hoster, F., Liesegang, H., Wiezer, A., Strittmatter, A., Hujer, S., Durre, P. y Gottschalk, G. "The complete genome sequence of *Propionibacterium acnes*, a commensal of human skin". *Science* (2004) 305:671-673.

Brzuszkiewicz, E.; Weiner, J.; Wollherr, A.; Thürmer, A.; Hüpeden, J.; Lomholt, H.B.; Kilian, M.; Gottschalk, G.; Daniel, R.; Mollenkopf, H.J.; *et al.* "Comparative genomics and transcriptomics of *Propionibacterium acnes*". *PLoS One* (2011), 6: e21581

5 Liu J, Cheng A, Bangayan NJ, Barnard E, Curd E, Craft N, Li H. "Draft Genome Sequences of *Propionibacterium acnes* Type Strain ATCC6919 and Antibiotic-Resistant Strain HL411PA1". *Genome Announc.* (2014) 2:e00740-14.

McDowell A, Barnard E, Nagy I, Gao A, Tomida S, Li H, Eady A, Cove J, Nord CE, Patrick S. "An expanded multilocus sequence typing scheme for *Propionibacterium acnes*: investigation of 'pathogenic', 'commensal' and antibiotic resistant strains". *PLoS One.* (2012)7:e41480

10 Tomida S, Nguyen L, Chiu BH, Liu J, Sodergren E, Weinstock GM, Li H. "Pan-genome and comparative genome analyses of *Propionibacterium acnes* reveal its genomic diversity in the healthy and diseased human skin microbiome". *mBio.* (2013) 4:e00003-13.

Ejemplo 6 – Síntesis y reproducibilidad de constructos de ARNm de CAMP2

Síntesis y caracterización de ARNm que codifica polipéptido CAMP2 de C. acnes

20 Se evaluaron el tamaño de ARNm, el tamaño de cola, % de la población con cola y % de cap1 para 4 lotes diferentes de ARNm que codificaba CAMP2 de *C. acnes* (secuencia polipeptídica de acuerdo con la SEQ ID NO: 5) producido a partir de 2 secuencias plasmídicas optimizadas diferentes (ARNm#1 CAMP2 (SEQ ID NO: 90) y ARNm#2 CAMP2 (SEQ ID NO: 91), respectivamente) (2 lotes/secuencia plasmídica: lote 1 y lote 2). La síntesis de ARNm se realizó utilizando nucleótidos modificados (en los que todos los nucleósidos de uridina se reemplazaron por 1-metilpseudouridina). En lo que respecta al tamaño de ARNm, el tamaño de cola, % de la población con cola y % de cap1, todos los ARNm cumplieron las especificaciones deseadas. Los análisis de secuenciación confirmaron que se generaron las secuencias de ARNm esperadas.

25

30

Caracterización de la formulación de ARNm-LNP

Se midieron el tamaño de LNP, % de encapsulación (% de EE) e integridad de ARNm para los 4 lotes de ARNm producidos a partir de ARNm#1 CAMP2 (SEQ ID NO: 90) y ARNm#2 CAMP2 (SEQ ID NO: 91) (correspondientes a dos optimizaciones de codones diferentes). Cada antígeno de ARNm se encapsuló en una LNP que comprendía GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10 como lípido catiónico. Con respecto al tamaño de LNP y % de encapsulación (% de EE), todas las LNP entraron dentro del intervalo de tamaño esperado y el % de EE deseado.

Inmunización de ratones

Los 4 lotes de ARNm de CAMP2 se evaluaron para determinar su capacidad de inducir anticuerpos funcionales en ratones:

Se inmunizaron ratones dos veces en un intervalo de 4 semanas, con ya sea ARNm#1 CAMP2 (lote 1), ARNm#1 CAMP2 (lote 2), ARNm#2 CAMP2 (lote 1) o ARNm#2 CAMP2 (lote 2) encapsulados en LNP. El contenido de ARNm en la formulación evaluada fue de 1 µg por dosis. Se creó una formulación que contenía 10 µg de proteína recombinante CAMP2 formulada en AIOOH como referencia. Los sueros se obtuvieron el día 42 después de la primera inmunización. Se utilizó la LNP sola como control negativo.

Se evaluó el aumento de peso con el tiempo de los ratones inmunizados con ARNm que codificaba polipéptido CAMP2 de *C. acnes*. No se observó inflamación en el sitio de inyección y se monitoreó el aumento de peso regular a lo largo del periodo de estudio para todos los grupos experimentales (por tanto, ninguna reacción local ni impacto en el peso corporal).

La inmunización con antígenos CAMP2 de C. acnes induce una respuesta de IgG anti-CAMP2

Se midieron los títulos de IgG anti-CAMP2 a partir de sueros individuales de ratones el día 42 después de la primera inmunización y se evaluaron por ELISA. Como se muestra en la Figura 18, todas las formulaciones de ARNm indujeron títulos de IgG anti-CAMP2 comparables, que también fueron comparables a los inducidos por la formulación proteica.

El ARNm que codifica polipéptidos CAMP2 de C. acnes disminuye la actividad cohemolítica de CAMP2

Se midieron los títulos neutralizantes cohemolíticos para IgG purificadas a partir de sueros individuales de ratones. Como se muestra en la Figura 19, todas las formulaciones de ARNm indujeron títulos neutralizantes comparables que también fueron comparables a la formulación proteica. La correlación entre los títulos de IgG anti-CAMP2 de ELISA y los títulos neutralizantes cohemolíticos fue buena ($R=0.76$).

Ejemplo 7 – Combinaciones de ARNm

Diseño de constructos de antígeno de C. acnes

En la Figura 20 se proporciona la visualización esquemática de los dominios proteicos de DSA1, DSA2 y P1TP, y los constructos de ARNm que se han sintetizado a partir de estas proteínas: ARNm H4-V3 (una quimera de DSA1 y DSA2) y ARNm P028-V7 (que provenía de P1TP) así como el constructo de ARNm de ARNm#1 CAMP2.

La visualización esquemática de la Figura 20 proporciona detalles sobre los dominios proteicos de DSA1, DSA2 y P1TP, y los 2 constructos de ARNm que se han sintetizado a partir de estas proteínas: ARNm H4-V3 (un constructo de DSA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico) (SEQ ID NO: 113) y ARNm P028-V7 (que provenía de P1TP) (SEQ ID NO: 115), así como el constructo de ARNm que codificaba CAMP2, ARNm#1 CAMP2 (SEQ ID NO: 90). El constructo de CAMP2 ARNm#1 comprendía una secuencia de CAMP2 sin mutar, la secuencia de señal (HA SS) y la secuencia de dominio transmembranario (HA TMB) de la hemaglutinina de la gripe (HA, H1N1 A/Caledonia/20/1999) en el extremo N y el extremo C, respectivamente. Los constructos de ARNm de H4-V3 y P028-V7 comprendían la secuencia de proteína y secuencia de señal (HA SS) de la hemaglutinina de la gripe (HA, H1N1 A/Caledonia/20/1999) en el extremo N. Las secuencias de CAMP2, H4-V3 y P028-V7 provenían de la secuencia de proteína de la cepa de *C. acnes* KPA171202. Ninguna de las secuencias de proteína contenía la secuencia de señal nativa de las proteínas.

Síntesis y caracterización de ARNm que codifica polipéptidos de C. acnes

La síntesis de ARNm se realizó utilizando nucleótidos modificados (en los que todos los nucleósidos de uridina se reemplazaron por 1-metilpseudouridina). Se evaluaron el tamaño de ARNm, el tamaño de cola, % de la población con cola y % de cap1 para los constructos de ARNm sintetizados descritos en la Figura 20: ARNm H4-V3 (SEQ ID NO: 113), ARNm P028-V7 (SEQ ID NO: 115) y ARNm#1 CAMP2 (SEQ ID NO: 90). En lo que respecta al tamaño de ARNm, el tamaño de cola, % de la población con cola y % de cap1, todos los ARNm cumplieron las especificaciones deseadas. Los análisis de secuenciación confirmaron que se generaron las secuencias de ARNm esperadas (datos no mostrados).

Expresión in vitro de ARNm que codifica polipéptidos de C. acnes en células HEK

Se realizaron inmunotransferencias de tipo Western para determinar los productos de la expresión *in vitro* en células HEK de ARNm H4-V3, ARNm P028-V7 y ARNm#1 CAMP2 (constructos descritos en la Figura 20) sintetizados, 48 h después de la transfección. Las proteínas se detectaron en el compartimento esperado, a saber, en la fracción membranaria para CAMP2 y en el sobrenadante para H4-V3 y P028-V7.

Caracterización de la formulación de ARNm-LNP

Se evaluaron el tamaño de LNP, % de encapsulación (% de EE) e integridad de ARNm para ARNm H4-V3, ARNm P028-V7 y ARNm#1 CAMP2 (constructos descritos en la Figura 20) encapsulados individualmente o coencapsulados en una LNP. La LNP comprendía OF-02, cKK-E10 o GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10, como lípido catiónico. Con respecto al tamaño de LNP y % de encapsulación (% de EE), todas las LNP entraron dentro del intervalo de tamaño esperado y el % de EE deseado. La integridad de ARNm en todas las LNP fue la esperada.

Ejemplo 7A: Evaluación de combinaciones de ARNm en diferentes formulaciones lipídicas

Se utilizaron los siguientes constructos en el Ejemplo 7A: los constructos de ARNm que codificaban la forma anclada a la membrana de CAMP2 (SEQ ID NO:

90) y las formas secretadas de H4-V3 (SEQ ID NO: 113) y P028-V7 (SEQ ID NO: 115) se evaluaron ya sean solos o combinados: [H4-V3 junto con P028-V7] o [H4-V3 junto con P028-V7 junto con CAMP2]. También se evaluó una formulación de mezcla con LNP que contenía GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10 y los tres constructos de ARNm (es decir, en donde los tres constructos de ARNm se encapsularon por separado en las LNP). Se utilizó la LNP que contenía GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10 sola como control negativo.

Inmunización de ratones con formulaciones que contienen combinaciones de ARNm y monitorización de los ratones

Se monitorearon los ratones para detectar cambios en su peso corporal y temperatura después de inmunizarlos dos veces en un intervalo de 4 semanas, con uno de los siguientes constructos de ARNm, encapsulados (un constructo de ARNm) o coencapsulados (dos o tres constructos de ARNm) en LNP que comprendían OF-02, cKK-E10 o GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10 como lípido catiónico. Se evaluaron los constructos de ARNm que codificaban la forma anclada a la membrana de CAMP2 y las formas secretadas de H4-V3 y P028-V7 ya sean solos o combinados: [H4-V3 junto con P028-V7] o [H4-V3 junto con P028-V7 junto con CAMP2]. También se evaluó una formulación de mezcla con LNP que contenía GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10 y los tres constructos de ARNm (es decir, en donde los tres constructos de ARNm se encapsularon por separado en las LNP). Se utilizó la LNP que contenía GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10 sola como control negativo. La síntesis de ARNm se realizó utilizando nucleótidos modificados (en los que todos los nucleósidos de uridina se reemplazaron por 1-metilpseudouridina). El contenido de ARNm para cada constructo en las formulaciones evaluadas fue de 1 µg por dosis. Ninguna de las formulaciones evaluadas mostró impacto en el aumento de peso ni cambios en las temperaturas corporales.

Los ratones también se monitorearon para detectar inflamación en el sitio de inyección. Se registraron frecuencias más altas de ratones con inflamación después del refuerzo que después de la primovacunación. La formulación bi- o trivalente provocó una frecuencia de inflamación más alta que las formulaciones

monovalentes. En conjunto, se demostró que las formulaciones que contenían OF-02 eran más reactógenas que las que contenían cKK-E10 y GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10, que fueron comparables.

Las formulaciones que contienen ARNm que codifica CAMP2 de C. acnes combinado con ARNm que codifican otros antígenos de C. acnes disminuyen la actividad cohemolítica de CAMP2

La Figura 21 muestra los títulos de IgG anti-CAMP2 de ELISA y los títulos neutralizantes cohemolíticos de IgG purificadas de sueros de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas, con los antígenos de ARNm descritos anteriormente. Como se muestra en la Figura 21, no se observaron interferencias ya que las respuestas de ARNm de CAMP2 fueron comparables entre el ARNm coencapsulado y el ARNm de CAMP2 por sí solo. Las formulaciones coencapsuladas y comezcladas también mostraron respuestas comparables para ambos ensayos.

Las formulaciones que contienen combinaciones de ARNm que codifican antígenos de C. acnes originan respuestas de IgG

Se evaluaron los títulos de IgG anti-DSA1, -DSA2 y -PITP de sueros individuales de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas con los antígenos de ARNm como se ha descrito anteriormente. Como se muestra en la Figura 22, las IgG de ELISA mostraron que los títulos de anti-DSA1, -DSA2 y -PITP fueron considerablemente comparables cuando los tres ARNm se coencapsularon o comezclaron (combinaciones trivalentes). No se detectó ninguna interferencia global en comparación con la formulación monovalente correspondiente, independientemente del lípido catiónico en la LNP. Se observaron pequeñas interferencias cuando cada ARNm se formuló ya sea solo o en una combinación bivalente, siendo la LNP que contenía OF-02 significativamente más potente en la inducción de títulos de anti- DSA1, -DSA2 y -PITP en comparación con cKK-E10 y GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10 que fueron comparables.

Las formulaciones que contienen combinaciones de ARNm que codifican antígenos de C. acnes originan anticuerpos que se unen a la superficie de C. acnes y con actividad opsonofagocítica

Los experimentos de los títulos de muerte opsonofagocítica (OPK) y títulos de unión a la superficie (SB) se realizaron ambos en cepas de *C. acnes* NCTC737, a partir de sueros individuales de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas con los antígenos de ARNm como se ha descrito anteriormente. Como se muestra en la Figura 23, ambos ensayos registraron títulos comparables o superiores cuando los tres ARNm se coencapsularon o comezclaron (combinaciones trivalentes). No se detectó ninguna interferencia global en comparación con la formulación monovalente correspondiente, independientemente del lípido catiónico en la LNP. No se observó ninguna interferencia cuando cada ARNm se formuló ya sea solo o en una combinación bivalente, sin embargo, las respuestas funcionales estuvieron dominadas por el antígeno H4-V3. La LNP que contenía OF-02 fue significativamente más potente en la inducción de títulos de OPK en comparación con cKK-E10 y GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10 que fueron comparables.

Se repitió el mismo experimento con cepas de *C. acnes* KPA171202, con sueros individuales de ratones (para el ensayo de SB) o mezcla de sueros (para el ensayo de OPK). Como se muestra en la Figura 24, ambos ensayos registraron títulos comparables o superiores cuando los tres ARNm se coencapsularon o comezclaron (combinaciones trivalentes). No se detectó ninguna interferencia global en comparación con la formulación monovalente correspondiente, independientemente del lípido catiónico en la LNP. No se observó ninguna interferencia cuando cada ARNm se formuló ya sea solo o en una combinación bivalente, sin embargo, las respuestas funcionales estuvieron dominadas por el antígeno H4-V3. La LNP que contenía OF-02 fue significativamente más potente en la inducción de títulos de OPK en comparación con cKK-E10 y GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10 que fueron comparables.

Ejemplo 7B: Modo de acción de la vacuna de la combinación

Correlaciones entre las respuestas de anticuerpos inducidas por ARNm de H4-V3, P28-V7 y CAMP2

Se analizaron las correlaciones de Pearson entre los títulos de IgG anti-DSA1, -DSA2, -PITP y -CAMP2 de ELISA y títulos neutralizantes cohemolíticos (CAMP2), o títulos de unión a la superficie (PITP, DSA1 y DSA2) o títulos de muerte opsonofagocítica (DSA1 y DSA2), de ensayos realizados ambos en ya sea cepas de *C. acnes* KPA 171202 (PITP) o NCTC737 (DSA1/DSA2), de sueros individuales de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas con los mismos antígenos de ARNm que se describen en la Figura 32 y que estaban encapsulados en las mismas LNP. Los resultados se muestran en la Figura 25. r = factor de correlación de Pearson calculado entre cada variable. Todos los ensayos correlacionados presentaron buenos valores de r .

Ejemplo 8 – Vacunas a base de proteínas y elección de adyuvantes

En el Ejemplo 8, se evaluaron las siguientes proteínas recombinantes: H4-V3 (SEQ ID NO: 29), P028-V7 (SEQ ID NO: 32) y CAMP2 (SEQ ID NO: 1).

Las formulaciones que contienen combinaciones de proteínas de C. acnes originan respuestas de IgG

Se midieron los títulos de IgG anti-DSA1 de ELISA en sueros individuales de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas con proteínas recombinantes H4-V3 (SEQ ID NO: 29), P028-V7 (SEQ ID NO: 32) y CAMP2 (SEQ ID NO: 1), formuladas ya sean solas o combinadas [H4-V3 junto con P028-V7] o [H4-V3 junto con P028-V7 junto con CAMP2]. Estas formulaciones se prepararon con adyuvantes ALOOH, AF03, SPA14 o sin adyuvante. Un grupo adicional de ratones recibió 4 inmunizaciones de la vacuna bivalente [H4-V3 junto con P028-V7] en ALOOH en un intervalo de 2 semanas. Los sueros se obtuvieron el día 42 después de la primera inmunización. Se utilizaron ALOOH y AF03 solos como control negativo. El contenido de las proteínas recombinantes H4-V3 y P028-V7 en la formulación evaluada fue de 1 μ g o 10 μ g de cada una por dosis (en mono-, bi- y trivalente). El contenido de la proteína recombinante CAMP2 en la formulación

evaluada fue de 10 µg por dosis (en mono- y trivalente). Como se muestra en la
 Figura 26, las IgG de ELISA mostraron que los títulos de anti-DSA1 fueron
 considerablemente comparables cuando las tres proteínas recombinantes se
 coformularon (combinaciones bi- y trivalentes). No se detectó ninguna interferencia
 global en comparación con la formulación monovalente correspondiente,
 independientemente del adyuvante. Se observaron pequeñas interferencias en 1 µg
 en el grupo experimental sin adyuvante. Entre los grupos con adyuvante, las
 formulaciones que contenían SPA14 y AIOOH indujeron los títulos de IgG anti-DSA1
 de ELISA más altos y más bajos, respectivamente. Los títulos de IgG anti-DSA1 de
 ELISA fueron comparables entre los grupos que recibieron 2 y 4 inmunizaciones,
 separadas 4 y 2 semanas respectivamente. El patrón de respuesta de IgG Anti-
 DSA2 fue similar (datos no mostrados).

Títulos de IgG anti-PITP de ELISA de sueros individuales de ratones
 inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas con los mismos antígenos de
 proteína recombinante que se describen en las Figura 26 y que estaban formulados
 en los mismos adyuvantes. Como se muestra en la Figura 27, las IgG de ELISA
 mostraron que los títulos de anti-PITP fueron considerablemente comparables
 cuando las tres proteínas recombinantes se coformularon en 10 µg de cada proteína
 recombinante por dosis (formulaciones bivalentes y trivalentes). En esta dosis de 10
 µg por antígeno, no se observó ninguna interferencia independientemente del
 adyuvante que indujo títulos comparables. Se registraron títulos de IgG anti-PITP
 de ELISA heterogéneos y bajos en 1µg de cada proteína recombinante por dosis,
 salvo en la formulación bivalente en 1 µg formulado en AIOOH. Los títulos de IgG
 anti-PITP de ELISA fueron comparables entre los grupos que recibieron 2 y 4
 inmunizaciones, separadas 4 y 2 semanas respectivamente.

*Las formulaciones que contienen combinaciones de proteínas de C. acnes
 que incluyen CAMP2 de C. acnes originan respuestas de IgG y disminuyen la
 actividad cohemolítica de CAMP2*

Los títulos de IgG anti-CAMP2 de ELISA de sueros individuales y títulos
 neutralizantes cohemolíticos de IgG purificadas de sueros individuales de ratones

inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas con los mismos antígenos de proteína recombinante que se describen en la Figura 26 y que estaban formulados en los mismos adyuvantes. Como se muestra en la Figura 28, se observaron interferencias para IgG anti-CAMP2 de ELISA y títulos de neutralización cuando se formularon H4-V3 y P028-V7 en 10 µg por dosis, ambos sin adyuvante y con AF03. Esto también se midió en dosis de 1µg y 10 µg de H4-V3 y P028-V7 formulados en ALOOH. La adyuvantación de SPA14 evitó las interferencias observadas en otras formulaciones.

Las formulaciones que contienen combinaciones de proteínas C. acnes que incluyen polipéptido DsA1/DsA2 de C. acnes quimérico originan anticuerpos que se unen a la superficie de C. acnes y con actividad opsonofagocítica

Se realizaron ensayos de los títulos de muerte opsonofagocítica (OPK) y unión a la superficie (SB) en cepas de *C. acnes* NCTC737, a partir de sueros individuales (SB) y una mezcla de sueros (OPK) de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas con los mismos antígenos de proteína recombinante que se describen en la Figura 26 y que estaban formulados en los mismos adyuvantes. Como se muestra en la Figura 29, ambos ensayos registraron títulos comparables o superiores cuando las tres proteínas recombinantes se coformularon en 10 µg de cada proteína recombinante por dosis (formulaciones bivalentes y trivalentes). En esta dosis de 10 µg por antígeno, no se observó ninguna interferencia independientemente del adyuvante que indujo títulos comparables. Se registraron títulos inferiores en 1µg de cada proteína recombinante por dosis, salvo en la formulación bivalente en 1 µg formulado en ALOOH. Los títulos fueron comparables entre los grupos que recibieron 2 y 4 inmunizaciones, separadas 4 y 2 semanas respectivamente.

Se repitió el mismo experimento en cepas de *C. acnes* KPA171202, a partir de sueros individuales (SB) y mezcla de sueros (OPK) de ratones. Como se muestra en la Figura 30, ambos ensayos registraron títulos comparables o superiores cuando las tres proteínas recombinantes se coformularon en 10 µg de cada proteína recombinante por dosis (formulaciones bivalentes y trivalentes). En esta dosis de 10

µg por antígeno, no se observó ninguna interferencia independientemente del adyuvante que indujo títulos comparables. Se registraron títulos inferiores en 1µg de cada proteína recombinante por dosis, salvo en la formulación bivalente en 1 µg formulado en AIOOH. Los títulos fueron comparables entre los grupos que recibieron 2 y 4 inmunizaciones, separadas 4 y 2 semanas respectivamente.

Ejemplo 9 – Antígenos de *C. acnes* quiméricos

*Diseño de constructos de antígenos de *C. acnes* quiméricos*

La Figura 31 muestra los constructos de ARNm que codifican proteínas quiméricas que se han diseñado y sintetizado:

Dos constructos comprendían ya sea una secuencia de H4-V3 sin mutar (SEQ ID NO: 113) o una secuencia de H4-V3 modificada: H4-V3-lowglyc (SEQ ID NO: 123). Esta última se diseñó para obtener la probabilidad más baja de glucosilación. H4-V3-lowglyc comprende una secuencia de H4-V3 donde se eliminaron los 7 primeros residuos en el extremo N. Esta secuencia modificada comprendía un sitio de N-glucosilación mutado, una truncación de repetición PT carboxiterminal a una copia solamente, y dos mutaciones adicionales: S291M y S292G. La inmunotransferencia de tipo Western mostró que las proteínas expresadas por células HEK transfectadas con constructo H4-V3-lowglyc presentaron un peso molecular menor que H4-V3, lo cual indica que las modificaciones de la secuencia fueron eficaces para reducir el nivel de glucosilación de las proteínas.

Se diseñaron otros tres constructos que codificaban una quimera triple: Se fusionaron fragmentos de P028-V7 con H4-V3: ya sea el fragmento P028-V7-C12 correspondiente al dominio ENFD (lo cual dio como resultado la quimera de la secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO: SEQ ID NO: 41) o el fragmento P028-V7-F16 que comprendía el dominio ENFD y parte del dominio SR1 (lo cual dio como resultado la quimera de la secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO: SEQ ID NO: 38) (véase la Figura 20 para la visualización esquemática de dominios P028). Para la quimera triple que comprendía P028-V7-C12 (la triple quimera tiene una secuencia de aminoácidos correspondiente con la

SEQ ID NO: 41), se diseñó un constructo de quimera triple homólogo para obtener la probabilidad más baja de glucosilación: P028-V7-C12lowglyc (SEQ ID NO: 40). Este constructo comprendía H4-V3-lowglyc y un conector flexible GGGGG (en lugar de una repetición PT) conectado a una forma mutada del fragmento P028-V7-C12.

5 Tres de los cinco posibles sitios de O-glucosilación de P028-V7-C12 se mutaron a glicina (Gly). El fragmento P028-V7-C12 carece de sitios de N-glucosilación previstos. La inmunotransferencia de tipo Western mostró que las proteínas expresadas por células HEK transfectadas con constructo P028-V7-C12lowglyc presentaron un peso molecular menor que P028-V7-C12 lo cual indica que las
10 modificaciones de la secuencia fueron eficaces para reducir el nivel de glucosilación de las proteínas.

Todos estos constructos comprendían la secuencia de señal de la hemaglutinina de la gripe (HA, H1N1 A/Caledonia/20/1999) (HA SS) en el extremo N para dirigir la proteína para su secreción.

15 Todas las secuencias provenían de la secuencia de proteína de la cepa de *C. acnes* KPA171202.

Los antígenos de C. acnes quiméricos inducen anticuerpos que se unen a la superficie de C. acnes

La FIGURA 32 muestra los títulos de unión a la superficie (SB) de un ensayo
20 realizado en una cepa de *C. acnes* NCTC737, de sueros individuales de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas con los antígenos de ARNm descritos en la Fig. 31 (“H4-V3” (SEQ ID NO: 113), “H4-V3-lowglyc” (SEQ ID NO: 123), “P028-V7-F16” (SEQ ID NO: 122), “P028-V7-C12” (SEQ ID NO: 125) y “P028-V7-C12lowglyc” (SEQ ID NO: 124)) y con los constructos de ARNm que codificaban
25 P028-V7 (SEQ ID NO: 115). Estos constructos de ARNm se encapsularon en la LNP con GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10. Los sueros se obtuvieron el día 42 después de la primera inmunización. Se utilizó la LNP sola como control negativo. La síntesis de ARNm se realizó utilizando nucleótidos modificados (en los que todos los nucleósidos de uridina se reemplazaron por 1-metilpseudouridina). El contenido de
30 ARNm en la formulación evaluada fue de 1 µg y 5 µg por dosis. El constructo P028-

V7 indujo títulos de SB significativamente más bajos que todos los demás, que indujeron títulos de SB comprables en una dosis de 5 µg. En la dosis de 1 µg, el ARNm de H4-V3 y H4-V3-lowglyc indujo títulos de SB comparables que fueron significativamente más altos que la quimera triple.

La FIGURA 33 muestra los títulos de unión a la superficie (SB) de un ensayo realizado en una cepa de *C. acnes* KPA171202, de sueros individuales de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas con los mismos antígenos de ARNm que se describen en la Figura 31 y que estaban encapsulados en la misma LNP. Los sueros se obtuvieron el día 42 después de la primera inmunización. Se utilizó la LNP sola como control negativo. La síntesis de ARNm se realizó utilizando nucleótidos modificados (en los que todos los nucleósidos de uridina se reemplazaron por 1-metilpseudouridina). El contenido de ARNm en la formulación evaluada fue de 1 µg y 5 µg por dosis. Todos los constructos de quimera triple fueron superiores al constructo P028-V7 en una dosis de 5 µg de ARNm. No se pudo observar ninguna diferencia significativa entre todas las quimeras triples en una dosis de 5 µg. En una dosis de 1µg de ARNm, los títulos de SB fueron comparables entre P028-V7-C12lowglyc y P028-V7-F16, que fueron significativamente superiores a P028-V7-C12.

Evaluación de los ratones después de la inmunización con antígenos de C. acnes quiméricos

Se midieron el aumento de peso con el tiempo y el porcentaje de ratones que presentaron inflamación en el sitio de inyección de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas con los mismos antígenos de ARNm que se describen en las Figura 31 y que estaban encapsulados en la misma LNP. Los sueros se obtuvieron el día 42 después de la primera inmunización. Se utilizó la LNP sola como control negativo. La síntesis de ARNm se realizó utilizando nucleótidos modificados (en los que todos los nucleósidos de uridina se reemplazaron por 1-metilpseudouridina). El contenido de ARNm en la formulación evaluada fue de 1 µg y 5 µg por dosis. Se observó inflamación local limitada y transitoria en el sitio de inyección y no se observó inflamación después de la segunda inyección. Se

monitoreó el aumento de peso regular a lo largo del periodo de estudio para todos los grupos experimentales (por tanto, ninguna reacción local ni impacto en el peso corporal).

Los antígenos de C. acnes quiméricos inducen anticuerpos que originan una respuesta de IgG anti-DsA1, -DsA2 y -PITP

La FIGURA 34 muestra los títulos de IgG anti-DsA1, -DsA2 y -PITP de ELISA de sueros individuales de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas con los mismos antígenos de ARNm que se describen en las Figura 31 y que estaban encapsulados en las mismas LNP. Los sueros se obtuvieron el día 42 después de la primera inmunización. Se utilizó la LNP sola como control negativo. La síntesis de ARNm se realizó utilizando nucleótidos modificados (en los que todos los nucleósidos de uridina se reemplazaron por 1-metilpseudouridina). El contenido de ARNm en la formulación evaluada fue de 1 µg por dosis. Las quimeras triples indujeron títulos de IgG anti-DsA1 y -DsA2 de ELISA inferiores a las dos quimeras dobles H4-V3 y H4-V3-lowglyc. Estas dos quimeras dobles indujeron títulos comparables. Las quimeras triples indujeron títulos de IgG anti-PITP de ELISA comparables en comparación con P028-V7.

La FIGURA 35 muestra los títulos de IgG anti-DsA1, -DsA2 y -PITP de ELISA de sueros individuales de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas con los mismos antígenos de ARNm que se describen en las Figura 31 y que estaban encapsulados en las mismas LNP. Los sueros se obtuvieron el día 42 después de la primera inmunización. Se utilizó la LNP sola como control negativo. La síntesis de ARNm se realizó utilizando nucleótidos modificados (en los que todos los nucleósidos de uridina se reemplazaron por 1-metilpseudouridina). El contenido de ARNm en la formulación evaluada fue de 5 µg por dosis. Todos los constructos de ARNm indujeron títulos de IgG anti-DsA1 y -DsA2 de ELISA comparables, salvo el constructo de ARNm de H4-V3 que indujo una respuesta superior a la de P028-V7-C12lowglyc. Todos los constructos de ARNm indujeron títulos de IgG anti-PITP de ELISA comparables, salvo el constructo de ARNm de P028-V7 que indujo una respuesta superior a la de P028-V7-F16.

Los antígenos de C. acnes quiméricos inducen anticuerpos que tienen actividad opsonofagocítica

La FIGURA 36 muestra los títulos de muerte opsonofagocítica (OPK) de un ensayo realizado en una cepa de *C. acnes* KPA171202, de mezclas de sueros de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas con los mismos antígenos de ARNm que se describen en la Figura 31 y que estaban encapsulados en la misma LNP. Los sueros se obtuvieron el día 42 después de la primera inmunización. Se utilizó la LNP sola como control negativo. La síntesis de ARNm se realizó utilizando nucleótidos modificados (en los que todos los nucleósidos de uridina se reemplazaron por 1-metilpseudouridina). El contenido de ARNm en la formulación evaluada fue de 1 µg y 5 µg por dosis. Los resultados ilustran las medias de 2 experimentos independientes. En una dosis equivalente, los constructos de ARNm evaluados indujeron títulos de OPK comparables.

La FIGURA 37 muestra los títulos de muerte opsonofagocítica (OPK) de un ensayo realizado en una cepa de *C. acnes* KPA171202, de sueros individuales de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas con los mismos antígenos de ARNm que se describen en la Figura 31 y que estaban encapsulados en la misma LNP. La gráfica ilustra los resultados para los constructos de ARNm P028-V7-F16, P028-V7-C12 y P028-V7. Los sueros se obtuvieron el día 42 después de la primera inmunización. Se utilizó la LNP sola como control negativo. La síntesis de ARNm se realizó utilizando nucleótidos modificados (en los que todos los nucleósidos de uridina se reemplazaron por 1-metilpseudouridina). El contenido de ARNm en la formulación evaluada fue de 1 µg y 5 µg por dosis. En una dosis equivalente, los constructos de ARNm evaluados indujeron títulos de OPK comparables.

La FIGURA 38 muestra los títulos de muerte opsonofagocítica (OPK) de un ensayo realizado en una cepa de *C. acnes* NCTC737, de mezclas de sueros de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas con los mismos antígenos de ARNm que se describen en la Figura 31 y que estaban encapsulados en la misma LNP. Los sueros se obtuvieron el día 42 después de la primera

inmunización. Se utilizó la LNP sola como control negativo. La síntesis de ARNm se realizó utilizando nucleótidos modificados (en los que todos los nucleósidos de uridina se reemplazaron por 1-metilpseudouridina). El contenido de ARNm en la formulación evaluada fue de 1 µg y 5 µg por dosis. Los resultados ilustran las medias de 2 experimentos independientes. El constructo P028-V7 indujo títulos de OPK significativamente menores a todos los demás, que indujeron títulos de SB comparables en una dosis equivalente, salvo el constructo de ARNm H4-V3-lowglyc que parece inducir títulos de OPK más altos que otro constructo en una dosis de 1 µg.

La FIGURA 39 muestra los títulos de muerte opsonofagocítica (OPK) de un ensayo realizado en una cepa de *C. acnes* NCTC737, de sueros individuales de ratones inmunizados dos veces en un intervalo de 4 semanas con los mismos antígenos de ARNm que se describen en la Figura 31 y que estaban encapsulados en la misma LNP. La gráfica ilustró los resultados para los constructos de ARNm P028-V7-C12, P028-V7-C12-lowglyc, H4-V3 y H4-V3-lowglyc. Los sueros se obtuvieron el día 42 después de la primera inmunización. Se utilizó la LNP sola como control negativo. La síntesis de ARNm se realizó utilizando nucleótidos modificados (en los que todos los nucleósidos de uridina se reemplazaron por 1-metilpseudouridina). El contenido de ARNm en la formulación evaluada fue de 1 µg y 5 µg por dosis. En una dosis de 5 µg, los constructos de ARNm evaluados indujeron títulos de OPK comparables. En una dosis de 1 µg, el constructo de ARNm H4-V3-lowglyc indujo títulos de OPK más altos que tanto P028-V7-C12 como P028-V7-C12-lowglyc, y el constructo de ARNm H4-V3 indujo títulos de OPK más altos que P028-V7-C12.

Ejemplo 10 – Comparación de un antígeno de ARNm de DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico en relación con una combinación de un antígeno de ARNm de DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico y de un antígeno de ARNm de PITP de *C. acnes*

El objetivo de este ejemplo era comparar una formulación de ‘quimera triple’ que contenía un ARNm que codificaba una proteína DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes*

quimérica (P028-V7-C12), en donde un fragmento de P028-V7 correspondiente al dominio ENFD se fusionó con H4-V3 (como se describe en el Ejemplo 9 y la Figura 31), en relación con una formulación de ‘combinación bivalente’ que contenía una combinación de dos ARN, que codificaban proteínas H4-V3 y P028-V7, encapsulados en una LNP, para determinar su capacidad de inducir una respuesta inmunitaria funcional.

Síntesis y caracterización de los ARNm y formulaciones de ARNm-LNP

La síntesis de ARNm se realizó utilizando nucleótidos modificados (en los que todos los nucleósidos de uridina se reemplazaron por 1-metilpseudouridina). Para la formulación de ‘quimera triple’, se utilizó un ARNm de la SEQ ID NO: 125 que codificaba la proteína quimérica P028-V7-C12 de la SEQ ID NO: 41. Para la formulación de ‘combinación bivalente’, se utilizó una combinación de dos ARNm de la SEQ ID NO: 113 y la SEQ ID NO: 115, que codificaban las proteínas H4-V3 de la SEQ ID NO: 28 y P028-V7 de la SEQ ID NO: 31, respectivamente. Todos los ARNm comprendían una cap1, una 5'UTR de CMV de la SEQ ID NO: 265, una 3' UTR de hGH de la SEQ ID NO: 266 y una cola de poliA, y se encapsularon en una LNP que contenía GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10 como lípido catiónico, como se ha descrito previamente. Para la formulación de ‘combinación bivalente’, los dos ARNm se coencapsularon en la LNP.

En lo que respecta al tamaño de ARNm, el tamaño de cola, % de la población con cola y % de cap1, todos los ARNm cumplieron las especificaciones deseadas. Los análisis de secuenciación confirmaron que se generaron las secuencias de ARNm esperadas. Con respecto al tamaño de LNP y % de encapsulación (% de EE), todas las LNP entraron dentro del intervalo de tamaño esperado (entre 50 y 150 nm) y el % de EE deseado (superior al 80 %).

Inmunizaciones de ratones

Se inmunizaron ratones exogámicos OF-1 (de 6 semanas el día 0) con la formulación de ‘quimera triple’ (en dosis que variaban entre 0.04 µg y 5 µg de ARNm; 8 ratones por grupo) o con la formulación de ‘combinación bivalente’ (en dosis que variaban entre 0.04 µg y 5 µg para cada uno de los dos ARNm; 8 ratones por grupo),

dos veces, separadas 4 semanas (es decir, el día 0 y el día 28), por la vía intramuscular (IM) (50 µL en los cuádriceps de las patas traseras, alternando de la pata derecha a la izquierda entre ambas inyecciones). Se utilizó la LNP sola (5 ratones por grupo) como control negativo. Se realizó una última extracción de sangre 14 días después de la última inmunización (es decir, el día 42 después de la primera inmunización), y los sueros obtenidos se evaluaron en un ensayo ELISA de IgG totales (como se describe en el Ejemplo 1), en un ensayo de unión a la superficie (como se describe en el Ejemplo 1) y/o en un ensayo OPK (como se describe en el Ejemplo 1).

Los ratones inmunizados de cada grupo experimental se monitorearon clínicamente para detectar signos locales, a lo largo del periodo de estudio. Las inmunizaciones no tuvieron ningún impacto en el peso corporal o en la temperatura corporal. Solamente se observó una inflamación local muy limitada y transitoria en el sitio de inyección, sin ninguna otra reacción clínica.

Un antígeno de ARNm de DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico y una combinación de un antígeno de ARNm de DsA1/DsA2 de *C. acnes* quimérico y un antígeno de ARNm de PITP inducen respuestas de IgG anti-DsA1, anti-DsA2 y anti-PITP

Tanto la formulación de 'quimera triple' como la formulación de 'combinación bivalente' indujeron títulos de IgG anti-DsA1, anti-DsA2 y anti-PITP, como se midió mediante un ensayo ELISA y se muestra en la Figura 40. En dosis bajas, la formulación de 'quimera triple' indujo títulos de IgG inferiores a la formulación de 'combinación bivalente'. Se observó un efecto significativo de la dosis para ambas formulaciones. En dosis óptimas, la formulación de 'quimera triple' indujo títulos de IgG similares a la formulación de 'combinación bivalente'.

Un antígeno de ARNm de DsA1/DsA2/PITP de C. acnes quimérico y una combinación de un antígeno de ARNm de DsA1/DsA2 de C. acnes quimérico y un antígeno de ARNm de PITP inducen anticuerpos que se unen a la superficie de C. acnes

- 5 Tanto la formulación de 'quimera triple' como la formulación de 'combinación bivalente' indujeron títulos de SB, como se midió con un ensayo de unión a la superficie (SB) y como se muestra en la Figura 41. En dosis bajas, la formulación de 'quimera triple' indujo títulos de SB inferiores a la formulación de 'combinación bivalente'. Se observó un efecto significativo de la dosis para ambas formulaciones.
- 10 En dosis óptimas, la formulación de 'quimera triple' indujo títulos de SB similares a la formulación de 'combinación bivalente'.

Un antígeno de ARNm de DsA1/DsA2/PITP de C. acnes quimérico y una combinación de un antígeno de ARNm de DsA1/DsA2 de C. acnes quimérico y un antígeno de ARNm de PITP inducen anticuerpos con actividad opsonofagocítica

- 15 Tanto la formulación de 'quimera triple' como la formulación de 'combinación bivalente' indujeron anticuerpos con actividad opsonofagocítica, como se midió con un ensayo de muerte opsonofagocítica (OPK) y como se muestra en la Figura 42. En dosis bajas, la formulación de 'quimera triple' indujo títulos de OPK inferiores a la formulación de 'combinación bivalente'. Se observó un efecto significativo de la
- 20 dosis para ambas formulaciones. En dosis óptimas, la formulación de 'quimera triple' indujo títulos de OPK similares a la formulación de 'combinación bivalente'.

Correlaciones entre las respuestas de anticuerpos inducidas por un antígeno de ARNm de DsA1/DsA2/PITP de C. acnes quimérico y una combinación de un antígeno de ARNm de DsA1/DsA2 de C. acnes quimérico y un antígeno de ARNm de PITP

- 25 Se analizaron, por un lado, las correlaciones de Pearson entre los títulos de IgG anti-DsA1 y -DsA2 de ELISA, títulos de unión a la superficie y títulos de muerte opsonofagocítica de ensayos realizados en una cepa de C. acnes NCTC737 y, por otro lado, las correlaciones de Pearson entre los títulos de IgG anti-PITP de ELISA,
- 30 títulos de unión a la superficie y títulos de muerte opsonofagocítica de ensayos

realizados en una cepa de *C. acnes* KPA171202. Todos los ensayos correlacionados presentaron buenos valores de r (r = factor de correlación de Pearson calculado entre cada variable) y valores de $p < 0.001$.

Ejemplo 11 – Ubicación de los productos de la expresión de antígenos de *C. acnes* con diferentes secuencias de péptido señal de secreción y dominios transmembranarios heterólogos en células HEK Expi293F

Este Ejemplo expone el análisis de la viabilidad celular, la expresión de proteínas y la localización después de la transfección de ARNm que codificaba CAMP2 de *C. acnes* y ARNm que codificaba PITP de *C. acnes* (véanse los constructos en la Tabla 11) en células HEK Expi293F.

Transfección y análisis por inmunotransferencia de tipo Western

Para la transfección de células, se transfectaron células HEK Expi293F en suspensión (5 mL a razón de 2×10^6 células/mL – agitador de 125mL) con 5 μ g de ARNm desnudo en una concentración de 1 μ g/ μ L mezclado con un volumen igual de reactivo TransIT-mRNA y reactivo mRNA Boost – Kit de transfección TransIT-mRNA de Mirus (Ref MIR 2250) durante 2-5 minutos. La mezcla se añadió a las células gota a gota y se incubó a 37 °C, 100 rpm, 8 % de CO₂ durante de 48 a 72 horas.

Se midieron los conteos de células HEK Expi293F y el porcentaje de viabilidad celular resultante de dos pruebas de expresión con el panel de constructos de ARNm después de la transfección. Todos los valores de viabilidad celular superaron el 80 % 24 y 48 horas después la transfección, lo cual indica que las condiciones fueron normales y que ninguno de los constructos de ARNm produjo citotoxicidad celular inespecífica.

A continuación, se analizaron las células transfectadas con ARNm mediante inmunotransferencia de tipo Western: Después de la transfección, se recolectaron las células y el medio y se centrifugaron (500 x g) para recoger los sobrenadantes. Los sedimentos celulares se lisaron utilizando Lisozima (Solución de Lisozima lista para lisar- ref de Lucigen R1804M) + Benzonasa (ref-Sigma E1014) + Cóctel de inhibidor de proteasa (ref-Sigma P8340) durante 10 min a 20 °C en 800 rpm. La lisis

de los sedimentos celulares a continuación se centrifugó (11,000 x g) para recoger los sobrenadantes y los extractos brutos.

Se analizaron extractos de células HEK293T transfectadas con ARNm mediante PAGE desnaturalizante (95 °C) con gel al 4-12 % de Bis-Tris/MES (Invitrogen) e inmunotransferencia de tipo Western. Se realizó la transferencia a una membrana de nitrocelulosa (Bio-Rad) utilizando un sistema de transferencia semiseco (sistema de transferencia Trans-Blot Turbo, Bio-Rad). Las proteínas transferidas se detectaron con anticuerpos policlonales que reconocen CAMP2 (anticuerpo policlonal de conejo, de fabricación propia, en una dilución 1:1500) o P1TP (anticuerpo policlonal murino, de fabricación propia, en una dilución 1:1000), respectivamente, y un anticuerpo secundario (anticuerpo caprino anti-IgG de conejo DyLight 800 – Rockland, ref 611-145-002, o anti-IgG de ratón). Se obtuvieron imágenes de las membranas de filtro con un aparato para la obtención de imágenes de infrarrojo Odyssey -- LICOR.

CAMP2

Se consiguió la expresión *in vitro* de CAMP2 fusionado con secuencias de señal (denominadas “SS” en los geles) que provenían de glucoproteínas de la gripe A, gripe B, rabia, VZV y ébola con o sin sus respectivos dominios transmembranarios (“TMB”) 48 horas después de la transfección en células HEK Expi293F. CAMP2 (tamaño esperado de aproximadamente 26-32 kDa) se detectó utilizando un anticuerpo policlonal de conejo contra CAMP2 (de fabricación propia) con una dilución 1:1500. Los controles incluían un constructo de CAMP2 sin ninguna SS así como CAMP2 recombinante. En lo que respecta al estudio de la localización de CAMP2, se recogieron muestras de extractos brutos (lisado total), sobrenadantes celulares y muestras de células fraccionadas que contenían compartimentos ya sean intracelulares o transmembranarios. Estos resultados demuestran que añadir un dominio transmembranario induce la localización de CAMP2 a la membrana celular, y reduce la secreción y localización intracelular. El análisis por inmunotransferencia de tipo Western demostró que CAMP2 se expresa bien y se

localiza en las fracciones esperadas dependiendo de la presencia de un péptido señal de secreción o un dominio transmembranario.

PITP

Se consiguió la expresión *in vitro* de PITP fusionado con secuencias de señal (denominadas “SS” en los geles) que provenían de glucoproteínas de la gripe A, gripe B, rabia, VZV y ébola con o sin sus respectivos dominios transmembranarios (“TMB”) 48 horas después de la transfección en células HEK Expi293F. PITP (tamaño esperado de aproximadamente 42-48 kDa) se detectó utilizando un anticuerpo policlonal murino contra PITP (de fabricación propia) con una dilución 1:1000. Los controles incluían un constructo de PITP sin ninguna SS o ningún TMB así como PITP recombinante. En lo que respecta al estudio de la localización de PITP, se recogieron muestras de extractos brutos (lisado total), sobrenadantes celulares y muestras de células fraccionadas que contenían compartimentos ya sean intracelulares o transmembranarios. Al igual que el análisis de la localización del antígeno CAMP2, estos resultados demuestran que añadir un dominio transmembranario induce la localización de PITP a la membrana celular, y reduce la secreción y localización intracelular. No obstante, los constructos que contenían PITP transmembranario mostraron cierto escape a la fracción de sobrenadante.

Este análisis por inmunotransferencia de tipo Western demostró que PITP se expresa bien y se localiza en las fracciones esperadas dependiendo de la presencia de un péptido señal de secreción o un dominio transmembranario.

Sumario

Para comparar el análisis por inmunotransferencia de tipo Western de CAMP2 y PITP, se tabularon la expresión de proteínas y su localización como se muestra en la FIG. 43. En general, los constructos que contenían CAMP2 o PITP se expresaron en sus localizaciones esperadas pero con diferentes grados de expresión y presentaron cierto escape al sobrenadante en diferentes grados cuando se introdujo el dominio transmembranario.

Tabla 11. Diseños de secuencias de aminoácidos de constructos de CAMP2 y PITP

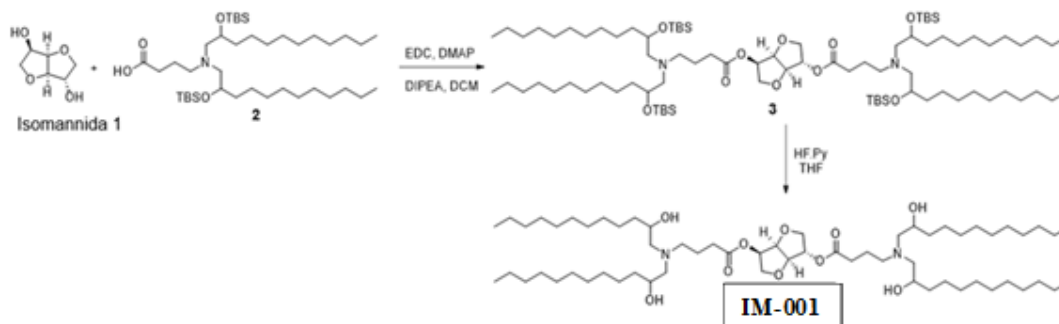
Descripción / SEQ ID NO	Nombre de constructo en la Figura 43	Codificado por la secuencia de nucleótidos de acuerdo con la SEQ ID NO:
Camp2 SEQ ID NO: 1	CAMP2 No SS-TMB	SEQ ID NO: 289
Camp2_SS_Flu- HA_A/California/7/ 2009 SEQ ID NO: 268	CAMP2 SS Flu HA-A	SEQ ID NO: 290
Camp2_SS_Flu- HA_B/Phuket/307 3/2013 SEQ ID NO: 269	CAMP2 SS Flu HA-B	SEQ ID NO: 291
Camp2_SS_Rabie s-G_Pasteur- vaccins SEQ ID NO: 270	CAMP2 SS Rabies-G	SEQ ID NO: 292
Camp2_SS_VZV- gl_Oka-vaccine SEQ ID NO: 271	CAMP2 SS VZV-gl	SEQ ID NO: 293
Camp2_SS_Ebola -GP_Mayinga-76 SEQ ID NO: 272	CAMP2 SS Ebola-GP	SEQ ID NO: 294
Camp2_SS_Flu- HA_A/California/7/ 2009_TMB SEQ ID NO: 273	CAMP2 SS-TMB Flu HA-A	SEQ ID NO: 295

5	Camp2_SS_Flu- HA_B/Phuket/307 3/2013_TMB SEQ ID NO: 274	CAMP2 SS-TMB Flu HA-B	SEQ ID NO: 296
	Camp2_SS_Rabies- G_Pasteur- vaccins_TMB SEQ ID NO: 275	CAMP2 SS-TMB Rabies-G	SEQ ID NO: 297
10	Camp2_SS_VZV- gl_Oka- vaccine_TMB SEQ ID NO: 276	CAMP2 SS-TMB VZV-gl	SEQ ID NO: 298
15	Camp2_SS_Ebola -GP_Mayinga- 76_TMB SEQ ID NO: 277	CAMP2 SS-TMB Ebola-GP	SEQ ID NO: 299
20	PITP SEQ ID NO: 278	PITP No SS-TMB	SEQ ID NO: 300
	PITP_SS_Flu- HA_A/California/7/ 2009 SEQ ID NO: 279	PITP SS Flu HA-A	SEQ ID NO: 301
	PITP_SS_Flu- HA_B/Phuket/307 3/2013 SEQ ID NO: 280	PITP SS Flu HA-B	SEQ ID NO: 302
30	PITP_SS_Rabies- G_Pasteur- vaccins	PITP SS Rabies-G	SEQ ID NO: 303

	SEQ ID NO: 281		
5	PITP_SS_VZV-gl_Oka-vaccine SEQ ID NO: 282	PITP SS VZV-gl	SEQ ID NO: 304
	PITP_SS_Ebola-GP_Mayinga-76 SEQ ID NO: 283	PITP SS Ebola-GP	SEQ ID NO: 305
10	PITP_SS_Flu-HA_A/California/7/2009_TMB SEQ ID NO: 284	PITP SS-TMB Flu HA-A	SEQ ID NO: 306
15	PITP_SS_Flu-HA_B/Phuket/3073/2013_TMB SEQ ID NO: 285	PITP SS-TMB Flu HA-B	SEQ ID NO: 307
20	PITP_SS_Rabies-G_Pasteur-vaccins_TMB SEQ ID NO: 286	PITP SS-TMB Rabies-G	SEQ ID NO: 308
	PITP_SS_VZV-gl_Oka-vaccine_TMB SEQ ID NO: 287	PITP SS-TMB VZV-gl	SEQ ID NO: 309
25	PITP_SS_Ebola-GP_Mayinga-76_TMB SEQ ID NO: 288	PITP SS-TMB Ebola-GP	SEQ ID NO: 310

Ejemplo 12 - Síntesis de IM-001 de acuerdo con el Esquema 2

Esquema 2: Esquema de síntesis general para el lípido de Fórmula (X)



Abreviaturas:

DCM: Diclorometano

DIPEA: *N,N*-Diisopropiletilamina

DMAP: 4-Dimetilaminopiridina

EDC: 1-Etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida

EtOAc: Acetato de etilo

NaHCO₃: Hidrogenocarbonato de sodio

Py: Piridina

Na₂SO₄: Sulfato de sodio

TEA: Trietilamina

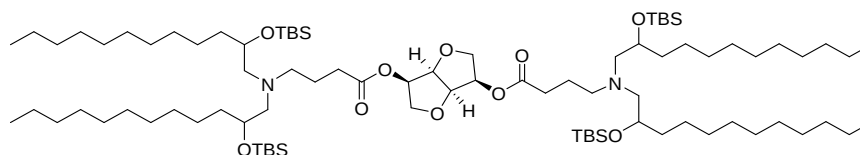
TFA: Ácido trifluoroacético

MS: Espectrometría de masas

ESI-MS: Espectrometría de masas con ionización por electronebulización

TLC: Cromatografía de capa fina

Paso 1: Síntesis del Intermedio (3)

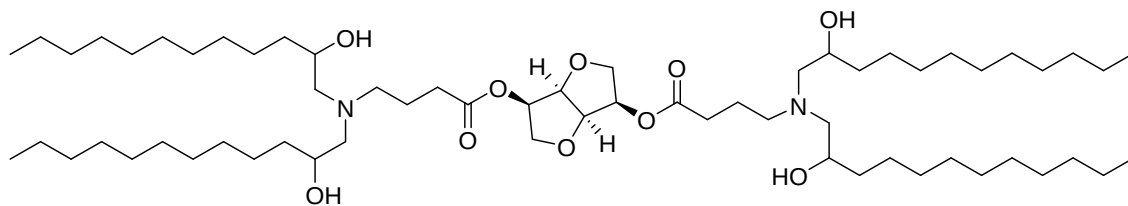


Como se muestra en el Esquema 2: A una solución de ácido (2) (4.58 g, 6.55 mmol) e isomanida (1) (0.38 g, 2.62 mmol) en diclorometano (40 ml) se le añadieron DIPEA (3.65 ml, 20.96 mmol), DMAP (0.32 g, 2.62 mmol) y EDC (1.5 g, 7.86 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Después de 16 h, el análisis de MS y TLC (EtOAc al 30 % en hexanos) indicó que la reacción había finalizado. La mezcla de reacción se diluyó con diclorometano y se lavó con solución saturada de NaHCO₃, agua y solución de salmuera. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró. El residuo bruto se purificó y el producto deseado se eluyó con EtOAc al 6 % en hexanos. Las fracciones que contenían el producto se concentraron para obtener 2.58 g (65 %) de producto puro.

Resultados:

ESI-MS: C₈₆H₁₇₇N₂O₁₀Si₄ calculado, [M + H⁺] = 1510.25, Observado = 1510.3

Paso 2: Síntesis de IM-001



Como se muestra en el Esquema 2: A una solución de Intermedio (3) (2.58 g, 1.70 mmol) en tetrahidrofurano (14 ml) se añadió fluoruro de hidrógeno (complejo de HF.py al 70 %, 7 ml, 51.23 mmol) a 0 °C y se agitó a la misma temperatura durante 5 minutos. A continuación, la mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 16 h. El análisis de MS indicó que la reacción había finalizado. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo y se inactivó mediante la adición lenta de NaHCO₃ sólido a 0 °C, seguido de solución saturada de NaHCO₃. La capa orgánica se lavó con solución sat. de NaHCO₃, agua y salmuera. Después se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró. El residuo bruto se purificó y el producto deseado se eluyó con EtOAc al 67 % en hexanos. Las fracciones más puras se concentraron para obtener 1.1 g (61 %) de producto puro.

Resultados:

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 5.13 – 5.03 (m, 2H), 4.73 – 4.65 (m, 2H), 4.29 – 3.83 (m, 8H), 3.52 – 2.98 (m, 12H), 2.69 – 2.49 (m, 4H), 2.32 – 2.09 (m, 4H), 1.73 – 1.12 (m, 72H), 0.88 (t, $J = 6.6$ Hz, 12H).

ESI-MS: $\text{C}_{62}\text{H}_{121}\text{N}_2\text{O}_{10}$ calculado, $[\text{M} + \text{H}^+] = 1053.90$, Observado = 1053.2 y 527.2 $[\text{M}/2 + \text{H}^+]$.

Ejemplo 13 - Antígenos de ARNm DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quiméricos

El objetivo de este ejemplo era evaluar las formulaciones que contenían constructos de ARNm DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quiméricas (es decir, en donde los cuatro antígenos están ubicados en la misma molécula de ARNm) para determinar su capacidad para inducir una respuesta inmunitaria funcional, y compararlas con formulaciones que contenían una combinación "bivalente" de un constructo de ARNm de CAMP2 y un constructo de ARNm DsA1/DsA2/PITP de *C. acnes* quimérico.

Diseño de constructos DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quiméricas

La Figura 45 muestra los constructos DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* que se han diseñado y sometido a prueba en los siguientes experimentos:

- una quimera cuádruple ("quimera cuádruple #1"), que comprende una CAMP2 de longitud completa en N-ter de quimera triple H4-V3-f-PRO-028-V7-F16, con una secuencia señal de hemaglutinina de la gripe (HA, H1N1 A/Caledonia/20/1999) (HA SS) en N-ter de la quimera cuádruple para abordar la proteína para la secreción,

- una quimera cuádruple ('quimera cuádruple #2'), que comprende una CAMP2 de longitud completa en N-ter de quimera triple H4-V3-f-PRO-028-V7-F16, con una HA SS en N-ter y un dominio transmembranario de hemaglutinina de la gripe (HA, H1N1 A/Caledonia/20/1999) en C-ter de la quimera cuádruple para anclar la Proteína en la célula,

- una quimera cuádruple ("quimera cuádruple #3"), que comprende las porciones N-ter y enlazadora de CAMP2 en N-ter de la quimera triple H4-V3-f-PRO-028-V7-F16, con una HA SS en N-ter de la quimera cuádruple para abordar la proteína para la secreción,

5 - una quimera cuádruple ("quimera cuádruple #4") que comprende la porción C-ter de CAMP2 en C-ter de quimera triple H4-V3-f-PRO-028-V7-F16, con una HA SS en N-ter de la quimera cuádruple para abordar la proteína para la secreción.

Caracterización de la expresión y localización de constructos de ARNm

10 DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quiméricas en células HEK

Para este experimento, los ARNm utilizados fueron los siguientes:

- Dos ARNm con codones optimizados que codifican una quimera cuádruple que comprende la SEQ ID NO: 374 (quimera cuádruple #1):

- 15 o Quimera cuádruple #1 (CO1) de la SEQ ID NO: 379 y
 o Quimera cuádruple #1 (CO2) de la SEQ ID NO: 380 que codifica la quimera cuádruple de la SEQ ID NO: 370

- Dos ARNm con codones optimizados que codifican la quimera cuádruple de SEQ ID NO: 369 (quimera cuádruple #2):

- 20 o Quimera cuádruple #2 (CO1) de la SEQ ID NO: 377 y
 o Quimera cuádruple #2 (CO2) de la SEQ ID NO: 378

- Dos ARNm con codones optimizados que codifican la quimera cuádruple de SEQ ID NO: 371 (quimera cuádruple #3):

- 25 o Quimera cuádruple #3 (CO1) de la SEQ ID NO: 381 y
 o Quimera cuádruple #3 (CO2) de la SEQ ID NO: 382

- Un ARNm con codones optimizados que codifica la quimera cuádruple de la SEQ ID NO: 372 (quimera cuádruple #4):

- o Quimera cuádruple #4 (CO2) de la SEQ ID NO: 383

- como controles: un ARNm de la SEQ ID NO: 113 que codifica H4-V3, un ARNm de SEQ ID NO: 115 que codifica P028-V7, un ARNm de

SEQ ID NO: 91 que codifica CAMP2-TMB y un ARNm de SEQ ID NO: 125 que codifica la quimera triple PRO-028-V7-C12.

Cada ARNm comprendían una cap1, una 5'UTR de CMV de la SEQ ID NO: 265, una 3' UTR de hGH de la SEQ ID NO: 266, y una cola poliA. La síntesis de ARNm se realizó utilizando nucleótidos modificados (en los que todos los nucleósidos de uridina se reemplazaron con 1-metil pseudouridina), y los constructos de ARNm se transfectaron en células HEK (transfección celular *in vitro*).

Después, la expresión de proteínas se evaluó y se midió en el sobrenadante y en el lisado celular total mediante HPLC-MS. Como se muestra en la Figura 46, todas los constructos se expresaron en sus compartimentos esperados. En particular, la quimera cuádruple #2 con un dominio transmembrana se encontró en el lisado celular total, pero no en el sobrenadante. Las otras tres quimeras cuádruples, diseñadas para secretarse, se encontraron tanto en el sobrenadante como en el lisado celular total. Se descubrió que la quimera cuádruple #3 con CAMP2 N-ter y porciones enlazadoras era la más altamente secretada. Se descubrió que la quimera cuádruple #4 con una porción C-ter de CAMP2 se secretaba a los niveles más bajos.

Se obtuvieron resultados similares mediante Western blot (utilizando como anticuerpos primarios: Un anticuerpo policlonal de conejo anti-CAMP2, un anticuerpo monoclonal de ratón anti-DsA2 o un anticuerpo monoclonal de ratón anti-PITP), expresándose todas las proteínas quimeras cuádruples en su compartimento esperado (lisado celular y/o sobrenadante).

Inmunización de ratones

A continuación, los constructos se sometieron a prueba para determinar su capacidad para provocar anticuerpos funcionales en ratones. En estos experimentos, se utilizaron los siguientes constructos de ARNm:

- Un ARNm de la SEQ ID NO: 380 que codifica la quimera cuádruple #1
- Un ARNm de la SEQ ID NO: 378 que codifica la quimera cuádruple #2

- Un ARNm de la SEQ ID NO: 382 que codifica la quimera cuádruple #3

- Un ARNm de la SEQ ID NO: 383 que codifica la quimera cuádruple #4

5 - a modo de comparación: una "combinación bivalente" de un ARNm de la SEQ ID NO: 91 que codifica un CAMP2-TMB y un ARNm de SEQ ID NO: 122 que codifica la quimera triple H4-V3-f-PRO-028-V7-F16.

Cada ARNm comprendían una cap1, una 5'UTR de CMV de la SEQ ID NO: 265, una 3' UTR de hGH de la SEQ ID NO : 266, y una cola de políA. La síntesis de
10 ARNm se realizó utilizando nucleótidos modificados (en los que todos los nucleósidos de uridina se reemplazaron con 1-metil pseudo uridina). Los constructos de ARNm se encapsularon en una LNP compuesta por cuatro lípidos: GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10 (como lípido ionizable) / DOPE / colesterol / DMG-PEG, en la relación molar de 40: 30: 28.5: 1.5. La LNP sola sirvió como control
15 negativo.

Los ratones OF-1 superados (6 semanas de edad el día 0) se inmunizaron dos veces en un intervalo de 4 semanas a través de la vía intramuscular (IM) (50 µL en la pata trasera del músculo cuádriceps, con alternancia de la pierna derecha e izquierda entre ambas inyecciones). El contenido de ARNm en la formulación
20 sometida a prueba fue de 1 µg o 5 µg por dosis (para las quimeras cuádruples) y de [1 µg + 1 µg] o [5 µg + 5 µg] por dosis (para la combinación de CAMP2-TMB y quimera triple).

Los ratones se monitorizaron para detectar signos clínicos. Solo se observó una hinchazón local limitada y transitoria en el sitio de inyección después de la
25 segunda inyección en todos los grupos experimentales, sin ninguna otra reacción clínica (tal como pelo liso, pérdida de movilidad, apatía...). Además, se controló el aumento de peso regular durante el período de estudio para todos los grupos experimentales. En general, no hubo impacto significativo de las inyecciones de las diferentes formulaciones en los signos clínicos.

Los sueros se obtuvieron el día 42 después de la primera inmunización y se probaron para detectar IgG total mediante ELISA, en un ensayo de OPK, en un ensayo de unión a la superficie y en un ensayo de neutralización de cohemólisis (como se describe en el Ejemplo 1). Los resultados se presentan a continuación.

Los constructos de ARNm DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico y una combinación bivalente de un constructo de ARNm CAMP2-TMB y un constructo de ARNm DsA1/DsA2/PITP provocan respuestas de IgG anti-DsA1, anti-DsA2, anti-PITP y anti-CAMP2

Tanto las formulaciones de "quimera cuádruple" como la formulación de "combinación bivalente" provocaron respuestas de IgG anti-DsA1, anti-DsA2, anti-PITP y anti-CAMP2, como se muestra en la Figura 47.

A una dosis equivalente, todas las quimeras cuádruples provocaron títulos de IgG anti-DsA1 (Figura 47a) y anti-DsA2 (Figura 47b) comparables. A una dosis de 1µg, los títulos de Ig anti-DsA1 y anti-DsA2 fueron significativamente menores que la combinación bivalente. A dosis de 5µg, todas las quimeras cuádruples indujeron títulos de IgG similares a la combinación bivalente. Hubo una diferencia significativa entre las dosis de 1 µg y 5 µg para todos los grupos, excepto para la quimera cuádruple #1 y la combinación bivalente.

Como se muestra en la Figura 47c, a una dosis de 1µg, los títulos de Ig anti-PITP inducidos por quimeras cuádruples fueron significativamente inferiores a la combinación bivalente, excepto para la quimera cuádruple #2. En esta dosis de 1µg, la quimera cuádruple #2 provocó un título de IgG anti-PITP equivalente a la quimera cuádruple #1 y significativamente superior a las quimeras cuádruples #3 y #4. A una dosis de 5 µg, todas las quimeras cuádruples provocaron títulos de IgG anti-PITP equivalentes en comparación con la combinación bivalente.

Como se muestra en la Figura 47d, a una dosis de 1µg, la combinación bivalente provocó títulos de Ig anti-CAMP2 comparables a los inducidos por las quimeras cuádruples #1 y #2 y significativamente más altos que los inducidos por las quimeras cuádruples #3 y #4. A 1 µg, el título de Ig anti-CAMP2 inducido por la quimera cuádruple #4 fue significativamente menor que todas las formulaciones

sometidas a prueba. A una dosis de 5 µg, todas las quimeras cuádruples provocaron títulos de IgG anti-CAMP2 comparables a la combinación bivalente, excepto la quimera cuádruple #4 para la que los títulos de IgG fueron inferiores.

Los constructos de ARNm DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de C. acnes quimérico y una combinación bivalente de un constructo de ARNm CAMP2-TMB y un constructo de ARNm DsA1/DsA2/PITP inducen anticuerpos que tienen actividad opsonofagocítica

Tanto las formulaciones de “quimera cuádruple” como la formulación de ‘combinación bivalente’ indujeron anticuerpos con actividad opsonofagocítica, como se midió con un ensayo de muerte opsonofagocítica (OPK) y como se muestra en la Figura 48.

Las cuatro quimeras cuádruples se realizaron de manera similar en el ensayo OPK en la cepa de C. acnes NCTC737 (Figura 48a). Hubo una diferencia significativa entre las dosis de 1µg y 5µg para todos los grupos, excepto para la quimera cuádruple #1 y la combinación bivalente. A la dosis de 1µg, todas las quimeras cuádruples indujeron títulos de OPK comparables, que fueron inferiores a los de la combinación bivalente. A la dosis de 5µg, todas las quimeras cuádruples (excepto la quimera cuádruple #3) indujeron títulos de OPK similares a la combinación bivalente.

Las cuatro quimeras cuádruples se realizaron de manera similar en el ensayo OPK en la cepa de C. acnes KPA171202 (Figura 48b). Hubo una diferencia significativa entre las dosis de 1µg y 5µg para la quimera cuádruple #3 y #4. A la dosis de 1µg, las quimeras cuádruples indujeron títulos de OPK más bajos que la combinación bivalente, excepto quimera cuádruple #2 para la que los títulos de OPK fueron equivalentes. A la dosis de 5µg, todas las quimeras cuádruples indujeron títulos de OPK similares a la combinación bivalente.

Los constructos quiméricos de ARNm de C. acnes DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 y una combinación bivalente de un constructo de ARNm de CAMP2-TMB y un constructo de ARNm de DsA1/DsA2/PITP provocan anticuerpos que se unen a la superficie de C. acnes

Tanto las formulaciones de 'quimera cuádruple' como la formulación de 'combinación bivalente' indujeron títulos de SB, como se midió con un ensayo de unión a la superficie (SB) y como se muestra en la Figura 49.

A la dosis de 1µg, todas las quimeras cuádruples (excepto la quimera cuádruple #3) indujeron un valor de SB similar al de la combinación bivalente, en el ensayo de SB en la cepa de *C. acnes* NCTC737 (Figura 49a). A la dosis de 5µg, las cuatro quimeras cuádruples se realizaron de manera similar. A esta dosis de 5 µg, todas las quimeras cuádruples (excepto la quimera cuádruple # 2) indujeron valores de SB más bajos que la combinación bivalente.

En el ensayo de SB en la cepa KPA171202 de *C. acnes* (Figura 49b), tanto en las dosis de 1 µg como en las de 5 µg, todas las quimeras cuádruples indujeron un valor de SB menor que la combinación bivalente. La quimera cuádruple #3 indujo un valor de SB más alto que la quimera cuádruple #1 a dosis de 5 µg, y la quimera cuádruple #2 indujo un valor de SB más alto que la quimera cuádruple #3 a dosis de 1 µg.

Los constructos de ARNm DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quimérico y una combinación bivalente de un constructo de ARNm CAMP2-TMB y un constructo de ARNm DsA1/DsA2/PITP inducen anticuerpos que neutralizan la actividad cohemolítica de CAMP2

Tanto las formulaciones de "quimera cuádruple" como la formulación de "combinación bivalente" provocaron anticuerpos que neutralizan la actividad cohemolítica de CAMP2, medida con un ensayo de neutralización cohemolítica de CAMP2 (Figura 50).

A una dosis equivalente, todas las quimeras cuádruples (excepto la quimera cuádruple #4) y la combinación bivalente provocaron títulos de HE75 de neutralización de la actividad cohemolítica comparables.

Correlaciones entre las respuestas de anticuerpos provocadas por constructos de ARNm DsA1/DsA2/PITP/CAMP2 de *C. acnes* quiméricas y una combinación bivalente de un constructo de ARNm de CAMP2-TMB y un constructo de ARNm DsA1/DsA2/PITP

5 Se demostraron correlaciones de Pearson buenas y significativas (valores de r que varían de 0.8 a 0.9 y todos los valores de p por debajo de 0.001) entre los títulos de IgG anti -DsA1 y -DsA2 de ELISA, títulos de unión a la superficie y títulos de destrucción opsonofagocítica realizados en la cepa de *C. acnes* NCTC737.

10 También se demostraron correlaciones de Pearson buenas y significativas (valores de r que varían de 0.69 a 0.77 y todos los valores de p por debajo de 0.001) entre los títulos de IgG anti-PITP de ELISA, los títulos de unión a la superficie y los títulos de destrucción opsonofagocítica en la cepa de *C. acnes* KPA171202.

15 Finalmente, se demostró una correlación de Pearson buena y significativa (valor de r de 0.82 con un valor de p inferior a 0.001) entre los títulos de IgG anti-CAMP2 de ELISA y el título de neutralización de la actividad cohemolítica de CAMP2.

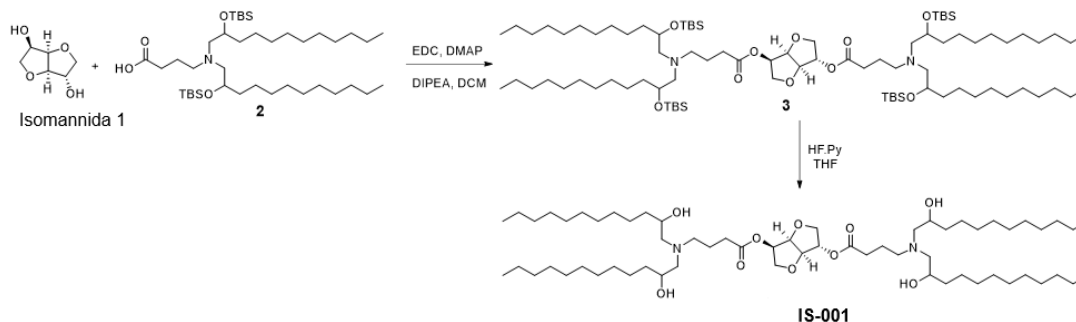
Conclusión

20 En general, todas las quimeras cuádruples indujeron respuestas funcionales de anticuerpos, que fueron comparables a las inducidas por la combinación bivalente para la dosis más alta de 5 μ g, excepto la quimera cuádruple #4 que comprende la porción C-ter de CAMP2, con respecto a la respuesta de CAMP2. La alta correlación de resultados entre todas las lecturas consolida las conclusiones de este estudio, y las quimeras cuádruples parecen ser de interés para su uso como antígenos del acné. En comparación con la combinación bivalente, las quimeras

25 cuádruples podrían ofrecer ventajas, ya que pueden ayudar a limitar la reactogenicidad (al permitir usar una menor cantidad de lípido catiónico/LNP por dosis) y pueden permitir un proceso de fabricación más fácil, más rápido y menos costoso.

Ejemplo 14 - Síntesis de IS-001 de acuerdo con el Esquema 3

Esquema 3: Esquema sintético general para el lípido de Fórmula (XI)



Abreviaturas:

DCM: Diclorometano

DIPEA: *N,N*-Diisopropiletilamina

DMAP: 4-Dimetilaminopiridina

EDC: 1-Etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida

EtOAc: Acetato de etilo

NaHCO₃: Hidrogenocarbonato de sodio

Py: Piridina

Na₂SO₄: Sulfato de sodio

TEA: Trietilamina

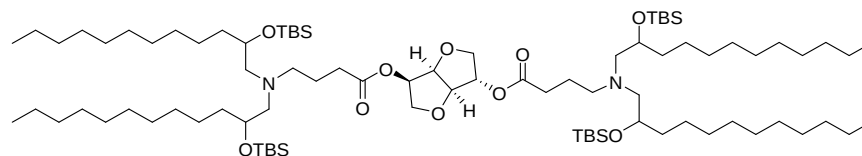
TFA: Ácido trifluoroacético

MS: Espectrometría de masas

ESI-MS: Espectrometría de masas con ionización por electronebulización

TLC: Cromatografía de capa fina

Paso 1: Síntesis de intermedio (3)



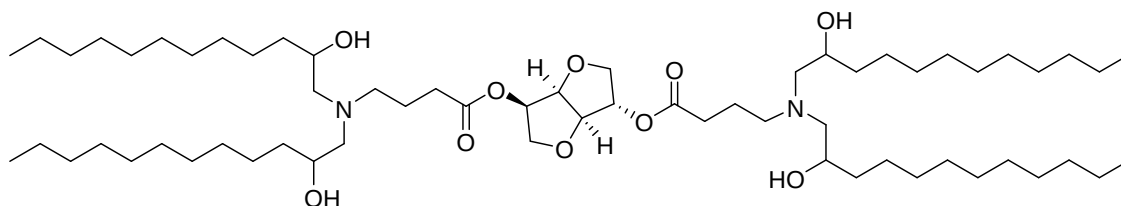
30 Como se muestra en el Esquema 3: A una solución de ácido (2) (1.2 g, 1.71 mmol) e isosorbida (1) (0.100 g, 0.68 mmol) en diclorometano (10 ml) se le

añadieron DIPEA (0.95 ml, 5.47 mmol), DMAP (0.084 g, 0.68 mmol) y EDC (0.393 g, 2.05 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Después de 16 h, el análisis de MS y TLC (EtOAc al 30 % en hexanos) indicó que la reacción había finalizado. La mezcla de reacción se diluyó con diclorometano y se lavó con solución saturada de NaHCO₃, agua y solución de salmuera. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró. El residuo bruto se purificó y el producto deseado se eluyó con EtOAc al 6 % en hexanos. Las fracciones que contenían el producto se concentraron para obtener 0.72 g (69 %) de producto puro.

Resultados:

ESI-MS: C₈₆H₁₇₇N₂O₁₀Si₄ calculado, [M + H⁺] = 1510.25, observado = 1510.3 y 755.4 [M/2 + H⁺]

Paso 2: Síntesis de IS-001



Como se muestra en el Esquema 3: A una solución de Intermedio (**3**) (0.72 g, 0.476 mmol) en tetrahidrofurano (4 ml) se añadió fluoruro de hidrógeno (complejo de HF.py al 70 %, 2 ml, 14.298 mmol) a 0 °C y se agitó a la misma temperatura durante 5 minutos. A continuación, la mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 16 h. El análisis de MS indicó que la reacción había finalizado. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo y se inactivó mediante la adición lenta de NaHCO₃ sólido a 0 °C, seguido de solución saturada de NaHCO₃. La capa orgánica se lavó con solución sat. de NaHCO₃, agua y salmuera. Después se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró. El residuo bruto se purificó y el producto deseado se eluyó con EtOAc al 65 % en hexanos. Las fracciones más puras se concentraron para obtener 0.120 g (24 %) de producto puro.

Resultados:

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 5.30 – 5.00 (m, 2H), 4.97 – 4.68 (m, 2H), 4.55 – 3.71 (m, 8H), 3.57 – 2.92 (m, 8H), 2.84 – 2.04 (m, 8H), 1.99 – 1.01 (m, 76H), 0.88 (t, $J = 6.8$ Hz, 12H).

5 ESI-MS: $\text{C}_{62}\text{H}_{121}\text{N}_2\text{O}_{10}$ calculado, $[\text{M} + \text{H}^+] = 1053.90$, observado = 1053.2 y 527.3 $[\text{M}/2 + \text{H}^+]$

Ejemplo 15 – Síntesis y caracterización de constructos de ARNm de CAMP2 modificados

10 Plásmidos con una secuencia de ADN que codifica un polipéptido CAMP2 modificado (una secuencia CAMP2, una secuencia señal (HA SS) y una secuencia de dominio transmembranario (HA TMB) de hemaglutinina de la gripe (HA, H1N1 A/Caledonia/20/1999; SEQ ID NO: 84) en el extremo N y el extremo C, respectivamente) unidos operativamente al promotor de ARN polimerasa se linealizaron con una enzima de restricción y se purificaron. Los transcritos de ARNm
15 se sintetizaron utilizando nucleótidos modificados (en los que todos los nucleósidos de uridina se reemplazaron con 1-metil pseudouridina) mediante transcripción *in vitro* utilizando ARN polimerasa SP6 del plásmido purificado y linealizado como se describe en el documento US20230407358. El ARNm purificado de la etapa de transcripción *in vitro* se tapó y se colocó con cola como se describe en el documento
20 US20230407358.

Se generaron cuatro constructos de ARNm a partir de diferentes secuencias plásmidas:

- ARNm#1 que comprende la SEQ ID NO: 90
- ARNm#2 que comprende la SEQ ID NO: 91
- 25 - ARNm#3 que comprende la SEQ ID NO: 391
- ARNm#4 que comprende la SEQ ID NO: 392.

Cada ARNm también comprendía una cap1, una 5'UTR de CMV dada por la secuencia:

30 GGACAGAUCGCCUGGAGACGCCAUCCACGCUGUUUUGACCUCCAUA
GAAGACACCGG

GACCGAUCCAGCCUCCGCGGCCGGGAACGGUGCAUUGGAACGCGGA
UUCCCCGUGCC

AAGAGUGACUCACCGUCCUUGACACG (SEQ ID NO: 265),, una 3' UTR de
hGH dada por la secuencia:

CGGGUGGCAUCCCUGUGACCCCUCCCCAGUGCCUCUCCUGGCCCUG
GAAGUUGCCAC

UCCAGUGCCCACCAGCCUUGUCCUAAUAAAAUUAAGUUGCAUC (SEQ
ID NO : 266),

y una cola de poliA.

En lo que respecta al tamaño de ARNm, el tamaño de cola, % de la población
con cola y % de cap1, todos los ARNm cumplieron las especificaciones deseadas
(véase la Tabla 12). La cola de los transcritos de ARNm se evaluó mediante
electroforesis capilar como se describe en el documento US20230407358. La
longitud de la cola de ARNm se midió utilizando electroforesis capilar en un
instrumento analizador de fragmentos (Analítico avanzado). La protección con
caperuza de los transcritos de ARNm se evaluó mediante espectrometría de masas
por cromatografía líquida (LC/MS) como se describe en el documento
US20230407358.

Tabla 12: Caracterización de ARNm de HA SS_Camp2_WT_HA TMB

Secuencia de constructo	Longitud de la cola (nt)	% de cola	Cap1 %
SEQ ID NO: 90	455	95.5%	91%
SEQ ID NO: 91	430	97%	97%
SEQ ID NO: 391	481	86%	88%
SEQ ID NO: 392	423	95%	95%

ARNm que comprenden la secuencia de acuerdo con la SEQ ID NO: 90, 91
o 392 mostraron un mayor % de producto con cola/caperuza. Un mayor porcentaje
de producto con cola/con caperuza debería dar como resultado una mejor eficiencia
de traducción.

30

25

20

15

10

5

Secuencias polipeptídicas

Tabla 5

SEQ ID NO	secuencia de proteína	nombre	Nombre alternativo	contiene una secuencia de péptido señal de secreción de acuerdo con la SEQ ID NO	contiene un antígeno de <i>C. acnes</i> de acuerdo con la SEQ ID NO	contiene una secuencia de TMB de acuerdo con la SEQ ID NO	Codificada, por ejemplo, por la secuencia de nucleótidos de acuerdo con la SEQ ID NO:
1			rProt CAMP2		43		289
2		ssHA_CA MP2_WT_GA	mRNA / ssHA_CA MP2_WT_GA	42	44		87
3		ssHA_CA MP2_WT_GS	mRNA / ssHA_CA	42	45		88

			MP2_WT_ GS				
4		ssHA_CA MP2_WT_ G+	mRNA / HA SS_CAMP 2_WT	42	46		89
5		CAMP2_W T_HA TMB	mRNA / HA SS_CAMP 2_WT_HA TMB #1	42	47	84	90
6	MKAKLLVLLCTF TATYAVEPTTTI SATSTHELAS DARNISQLLNAH IATLQSVQKSVP GSDYSDQIRDLL KAAFDLRGLIET LAHGGIPFYDPS TIMPRIKLVATTI	CAMP2_W T_HA TMB	mRNA / HA SS_CAMP 2_WT_HA TMB #2	42	48	84	91

30

25

20

15

10

5

30	DTIHTATTTLQN KVRPAHVELGL EVTKAVLLTANP ASTAKELDAEG AALKARLEKVS QYPDLTPNDVA TVYVRTNFSKTI WQVRANRDRYI LGHKSAAVYKT LNHAITKAVGVR LNPKTTVGNIQA ARTELLAAYQTA FNSPDVKKAAsg sILAIYSTVASSL VLLVSLGAISFgs g						
7			mRNA / NA TMB_CAM P2_WT		49		92

5

10

15

20

25

30

30	25	20	15	10	5		
8			mRNA / NA TMB_CAM P2_Nglyc- neg		50		93
9		CAMP2_G- _HA TMB	mRNA / HA SS_CAMP 2_Nglyc- neg_HA TMB	42	51	84	94
10			mRNA / ssHA_CA MP2_G- GA	42	52		95
11			mRNA / ssHA_CA MP2_G- GS	42	53		96

30	25	20	15	10	5	
12		ssHA_CA MP2_WT_ G-	mRNA / HA SS_CAMP 2_Nglyc- neg	42	54	97
13		ssHA_CA MP2_mL	mRNA / HA SS_CAMP 2_mL	42	55	98
14		ssHA_CA MP2_G(-)_mL	mRNA / HA SS_CAMP 2_Nglyc- neg_mL	42	56	99
15		ssHA_CA MP2_mCte r	mRNA / HA SS_CAMP 2_mCter	42	57	100

30	25	20	15	10	5		
16		ssHA_CA MP2_G- _mCter	mRNA / HA SS_CAMP 2_Nglyc- neg_mCter	42	58	101	
17		ssHA_DSA 1_Native_T MB_WT_tr unc	mRNA / HA SS_DSA1_ HA TMB	42	59	85	102
18		ssHA_DSA 1_WT_trun c	mRNA / HA SS_DSA1_ WT_trunc	42	60		103
19		ssHA_DSA 1_SGS_T MB_WT_tr unc	mRNA / HA SS_DSA1_ HA TMB- sgs linker	42	61	84	104
20		ssHA_DSA 2_Native_T	mRNA / HA	42	62	85	105

		MB_WT_tr unc	SS_DSA2_ HA TMB				
21		ssHA_DSA 2_SGS_T MB_WT_tr unc	mRNA / HA SS_DSA2_ HA TMB- sgs linker	42	63	84	106
22		ssHA_DSA 2_WT_trun c	mRNA / HA SS_DSA2_ WT_trunc	42	64		107
23		ssHA_DSA 2_WT_trun c_mutH	mRNA / HA SS_DSA2 mutH	42	65		108
24		ssHA_DSA 2_Native_T MB_WT_tr unc_mut	mRNA / HA SS_DSA2- mutH_HA TMB	42	66	85	109

30

25

20

15

10

5

30	25	20	15	10	5		
25		ssHA_DSA 2_SGS_T MB_WT_tr unc_mut	mRNA / HA SS_DSA2- mutH_HA TMB-sgs linker	42	67	84	110
26			mRNA / HA SS_DSA2- Nglyc- neg_HA TMB-sgs linker	42	68	84	111
27			mRNA / HA SS_DSA2- Nglyc- neg_HA TMB	42	69	86	112

30 SEQ ID NO	25 secuencia de proteína	20 nombre	15 Nombre alternativo	10 contiene una secuencia de péptido señal de secreción de acuerdo con la SEQ ID NO	5 contiene un antígeno de <i>C. acnes</i> de acuerdo con la SEQ ID NO	contiene una secuencia de TMB de acuerdo con la SEQ ID NO	Codificada, por ejemplo, por la secuencia de nucleótidos de acuerdo con la SEQ ID NO:
28	MKAKLLVLLCTF TATYASSNRPR SVAQAAIATDG KGIIDKDSRDAV INDAKLRAAIAG ALVKAGFSSAD AVALAPRIAKEM AKEGVLLINHHK LKALIGAQLGLL TDAKIQRAAAAV DLGIKATLAATII	ssHA_H4_ V3	mRNA / ssHA H4- V3	42	70		113

30	25	20	15	10	5	
	PNALGSAAFKN AVIANLVAAGID KHLARATAVAIV ATALNPALGPIA KFELIKAEIAAQ AALLIRRGVHLQ KAAIEHVIGRAF DAAVATAIISSPI LSARIVTHLVRA GIDKSIAISLAPH IVKRLAKEPLLA FNTAKLMKNITR QIVDVITADKAIK TAEQLEKELPAL DDLVKKASSPP KPTPTPTPTPT					
29			rProt H4- V3		71	
30			mRNA / ssHA_H4-	42	72	114

30	25	20	15	10	5	
			V3 Nglyc- neg			
31	MKAKLLVLLCTF TATYAAGPTVT IPVGREGGDITIS GKGFSTTGFGV YVAVAPASVPEF YGNSDKFYGYD PSKDTTESPSTI WVYTPSQKAIG SRFAQGRPMNN DGSFTITMKAPP FEQGKDFVVLTT KAHGVGKTDHS DDTRTPVTYRE ATPAPTGPKTPI APSKQPSKQAA PSKQVKPSKQA GPNKQSTTPQQ KTAEHRSQTPA	ssHA_P02 8_V7	mRNA / P28-V7	42	73	115

5							
10							
15							
20							
25	AHRTMTKQVSTI						
	GASKVTSGSLT						
	WGIRTSFTSYLR						
	GPIANGSWKLS						
	GGANWNGSAFT						
	FPLTSGSFDPAT						
	KSGSLKYSGSV						
	HMTGHHGILDM						
	TLAEPSLQIKGS						
	TGHLYLDVKSSS						
	MDGKKTNYGRV						
	DFATFGVSVSG						
	NAAIKGSPVKLT						
	ATGAKAFAGFY						
	RAGEPMNPLST						
	NLTLSAEKVSHN						
	VTVDAVTGKVG						
	DDSGKGAGRGL						
30	PVT						

30	25	20	15	10	5		
SEQ ID NO	secuencia de proteína	nombre	Nombre alternativo	contiene una secuencia de péptido de señal de secreción de acuerdo con la SEQ ID NO	contiene un antígeno de C. acnes de acuerdo con la SEQ ID NO	contiene una secuencia de TMB de acuerdo con la SEQ ID NO	Codificada, por ejemplo, por la secuencia de nucleótidos de acuerdo con la SEQ ID NO:
32			rProt P28-V7		74		
33		ssHA_PIT P_WT_trunc	mRNA / ssHA_PIT P_WT_trunc	42	75		117
34			mRNA / ssHA_PIT P_Nglyc-neg	42	76		118

30	25	20	15	10	5		
35		P028_V7_ Glyneg	mRNA / ssHA_P28- V7_Nglyc- neg	42	77		119
36		ssHA_PIT P_SGS_T MB_HA_W T_trunc	mRNA / ssHA_PIT P_WT_HA TMB-sgs linker	42	78	84	120
37			mRNA / ssHA_PIT P_Nglyc- neg_HA TMB-sgs linker	42	79	84	121

30 SEQ ID NO	25 secuencia de proteína	20 nombre	15 Nombre alternativo	10 contiene una secuencia de péptido señal de secreción de acuerdo con la SEQ ID NO	5 contiene un antígeno de C. acnes de acuerdo con la SEQ ID NO	contiene una secuencia de TMB de acuerdo con la SEQ ID NO	Codificada, por ejemplo, por la secuencia de nucleótidos de acuerdo con la SEQ ID NO:
38	MKAKLLVLLCTF TATYASSNRPR SVAQAAIATDGK GIIDKDSRDAVIN DAKLRAAIAGAL VKAGFSSADAV ALAPRIAKEMAK EGVLLINHHKLK ALIGAQLGLLTD AKIQRAAAAVDL	nCO- ssHA_H4- V3-f-PRO- 028-V7- F16	H4-V3-f- PRO-028- V7-F16, quimera triple P22/P27/P 28	42	80		122

5							
10							
15							
20							
25							
30							
	GIKATLAATIIPN						
	ALGSAAFKNVI						
	ANLVAAGIDKHL						
	ARATAVAIVATA						
	LNPALGPIAKFE						
	LIKAEIAAQAALL						
	IRRGVHLQKAAI						
	EHVIGRAFDAAV						
	ATAIISPILSARI						
	VTHLVRAGIDKS						
	IAISLAPHIVKRL						
	AKEPLLAFTAK						
	LMKNITRQIVDVI						
	TADKAIKTAEQL						
	EKELPALDDLVK						
	KASSPPKPTPTP						
	TPTPTAGPTVTV						
	IPVGREGGDITIS						
	GKGFSTTGFGV						
	YVAVAPASVPE						

5						
10						
15						
20						
25	ALAPRIAKEMAK EGVLLINHHKLK ALIGAQLGLLTD AKIQRAAAAVDL GIKATLAATIIPN ALGSAAFKNVI ANLVAAGIDKHL ARATAVAIVATA LNPALGPIAKFE LIKAEIAAQAALL IRRGVHLQKAAI EHVIGRAFDAAV ATAISSPILSARI VTHLVRAGIDKS IAISLAPHIVKRL AKEPLAFNTAK LMKNITRQIVDVI TADKAIKTAEQL EKELPALDDLVK KAMGPPKPTGG					
30						

30	GGGAGPTVTVI PVGREGGDITIS GKGFSTTGFGV YVAVAPASVPE FYGNSDKFYGY DPSKDTTESPS TIWVYTPSQKAI GSRFAQGRPM NNDGSFTITMKA PPFEQ GKDFVV LTTKAHGVGKG DHGDDTRTPVG YR						
25							
20							
15							
10							
5							
41	MKAKLLVLLCTF TATYASSNRPR SVAQAAIATDGK GIIDKDSRDAVIN DAKLRAAIAGAL VKAGFSSADAV ALAPRIAKEMAK	nCO- ssHA_PRO -028-V7- C12	PRO-028- V7-C12, quimera triple P22/P27/P 28	42	83		125

5						
10						
15						
20						
25	EGVLLINHHKLK					
	ALIGAQLGLLTD					
	AKIQRAAAVDL					
	GIKATLAATIIPN					
	ALGSAAFKNVI					
	ANLVAAGIDKHL					
	ARATAVAIVATA					
	LNPALGPIAKFE					
	LIKAEIAAQAALL					
	IRRGVHLQKAAI					
	EHVIGRAFDAAV					
	ATAISSPILSARI					
	VTHLVRAGIDKS					
	IAISLAPHIVKRL					
	AKEPLLAFTAK					
	LMKNITRQIVDVI					
	TADKAIKTAEQL					
	EKELPALDDLK					
	KASSPPKPTPTP					
30	TPTPTAGPTVTV					

30	25	20	15	10	5	
	IPVGREGGDITIS GKGFSTTGFGV YVAVAPASVPE FYGNSDKFYGY DPSKDTTESPS TIWVYTPSQKAI GSRFAQGRPM NNDGSFTITMKA PPFEQGKDFVV LTTKAHGVGKT DHSDDTRTPVT YR					
313		CAMP2 de <i>C. acnes</i> de la cepa ATCC6919			339	

30	25	20	15	10	5																																																				
<table><tr><th>SEQ ID NO</th><th>contiene un antígeno de <i>C. acnes</i> de acuerdo con la SEQ ID NO</th></tr><tr><td>314</td><td>339</td></tr><tr><td>315</td><td>340</td></tr><tr><td>316</td><td>341</td></tr><tr><td>317</td><td>342</td></tr><tr><td>318</td><td>343</td></tr><tr><td>319</td><td>344</td></tr><tr><td>320</td><td>345</td></tr><tr><td>321</td><td>346</td></tr><tr><td>322</td><td>347</td></tr><tr><td>323</td><td>348</td></tr><tr><td>324</td><td>349</td></tr><tr><td>325</td><td>350</td></tr></table>		SEQ ID NO	contiene un antígeno de <i>C. acnes</i> de acuerdo con la SEQ ID NO	314	339	315	340	316	341	317	342	318	343	319	344	320	345	321	346	322	347	323	348	324	349	325	350	<table><tr><th>SEQ ID NO</th><th>contiene un antígeno de <i>C. acnes</i> de acuerdo con la SEQ ID NO</th></tr><tr><td>326</td><td>351</td></tr><tr><td>327</td><td>352</td></tr><tr><td>328</td><td>353</td></tr><tr><td>329</td><td>354</td></tr><tr><td>330</td><td>355</td></tr><tr><td>331</td><td>356</td></tr><tr><td>332</td><td>357</td></tr><tr><td>333</td><td>358</td></tr><tr><td>334</td><td>359</td></tr><tr><td>335</td><td>360</td></tr><tr><td>336</td><td>361</td></tr><tr><td>337</td><td>362</td></tr><tr><td>338</td><td>363</td></tr></table>		SEQ ID NO	contiene un antígeno de <i>C. acnes</i> de acuerdo con la SEQ ID NO	326	351	327	352	328	353	329	354	330	355	331	356	332	357	333	358	334	359	335	360	336	361	337	362	338	363
SEQ ID NO	contiene un antígeno de <i>C. acnes</i> de acuerdo con la SEQ ID NO																																																								
314	339																																																								
315	340																																																								
316	341																																																								
317	342																																																								
318	343																																																								
319	344																																																								
320	345																																																								
321	346																																																								
322	347																																																								
323	348																																																								
324	349																																																								
325	350																																																								
SEQ ID NO	contiene un antígeno de <i>C. acnes</i> de acuerdo con la SEQ ID NO																																																								
326	351																																																								
327	352																																																								
328	353																																																								
329	354																																																								
330	355																																																								
331	356																																																								
332	357																																																								
333	358																																																								
334	359																																																								
335	360																																																								
336	361																																																								
337	362																																																								
338	363																																																								

30	25	20	15	10	5		
SEQ ID NO	Secuencia de proteína	nombre	Nombre alternativo	contiene una secuencia de péptido señal de secreción de acuerdo con la SEQ ID NO	contiene un antígeno de C. acnes de acuerdo con la SEQ ID NO	contiene una secuencia de TMB de acuerdo con la SEQ ID NO	Codificada , por ejemplo, por la secuencia de nucleótido s de acuerdo con la SEQ ID NO:
367		P0 28-V7- C12- lowglyc- V2		42	368		
369	MKAKLLVLLCTFTATYAV EPTTTISATSTHELSASD ARNSIQLLNAHIATLQSV	Quad- CAMP2- H4V3-f-			373		377, 378

30	25	20	15	10	5	
	QKSVPGSDYSDQIRDLL KAAFDLRGLIETLAHGGI PFYDPSTIMPRIKLVATTI DTIHTATTTLQNKVRPAH VELGLEVTKAVLLTANPA STAKELDAEGAALKARL EKVSQYPDLTPNDVATV YVRTNFSKTIWQVRANR DRYILGHKSAAVYKTLN HAITKAVGVRLNPKTTV GNIQAARTELLAAYQTA FNSPDVKKAASSNRPRS VAQAAIATDGKGIIDKDS RDAVINDAKLRAAIAGAL VKAGFSSADAVAPRI AKEMAKEGVLLINHHKL KALIGAQLGLLTD AKIQR AAA AVDLGIKATLAATIIP NALGSAAFKNAVIANLVA AGIDKHLARATAVAIVAT	PRO-028- V7- F16_sgs_ HA- TM_gsg_ ssHA				

30	ALNPALGPIAKFELIKAEI AAQAALLIRRGVHLQKA AIEHVIGRAFDAAVATAII SSPILSARIVTHLVRAGID KSIAISLAPHIVKRLAKEP LLAFNTAKLMKNITRQIV DVITADKAIKTAEQLEKE LPALDDLKASSPPKP TPTPTPTPTAGPTVTVIP VGREGDITISGKGFST TGFGVYVAVAPASVPEF YGNSDKFYGYDPSKDTT ESPSTIWVYTPSQKAIGS RFAQGRPMNNDGSFTIT MKAPPFEQKDFVVLTT KAHGVGKTDHSDDTRT PVTYREATPAPTGPKTPI SGSILAIYSTVASSLVLLV SLGAISFGSG	25	20	15	10	5
----	--	----	----	----	----	---

30	25	20	15	10	5	
370	MKAKLLVLLCTFTATYAV EPTTTISATSTHELSASD ARNSIQLLNAHIATLQSV QKSVPGSDYSDQIRDLL KAAFDLRGLIETLAHGGI PFYDPSTIMPRIKLVATTI DTIHTATTTLQNKVRPAH VELGLEVTKAVLLTANPA STAKELDAEGAALKARL EKVSQYPDLTPNDVATV YVRTNFSKTIWQVRANR DRYILGHKSAAVYKTLN HAITKAVGVRLNPKTTV GNIQAARTELLAAYQTA FNSPDVKKAASSNRPRS VAQAAIATDGKGIIDKDS RDAVINDAKLRAAIAGAL VKAGFSSADAVALAPRI AKEMAKEGVLLINHHKL KALIGAQLGLLTDAKIQR	Quad- CAMP2- H4V3-f- PRO-028- V7- F16_ssH A			374	380

30	25	20	15	10	5	
	AAA	VDL	G	I	K	A
	T	L	A	A	T	I
	I	P				
	N	A	L	G	S	A
	A	F	K	N	A	V
	I	A	N	L	V	A
	A	G	I	D	K	H
	L	A	R	A	T	A
	V	A	I	V	A	T
	A	L	N	P	A	L
	G	P	I	A	K	F
	E	L	I	K	A	E
	I					
	A	A	Q	A	A	L
	L	I	R	R	G	V
	H	L	Q	K	A	
	A	I	E	H	V	I
	G	R	A	F	D	A
	A	A	V	A	T	A
	I					
	S	S	P	I	L	S
	A	R	I	V	T	H
	L	V	R	A	G	I
	D					
	K	S	I	A	I	S
	L	A	P	H	I	V
	K	R	L	A	K	E
	P					
	L	L	A	F	N	T
	A	K	L	M	K	N
	I	T	R	Q	I	V
	D	V	I	T	A	D
	K	A	I	K	T	A
	E	Q	L	E	K	E
	L	P	A	L	D	D
	L	V	K	K	A	S
	S	P	P	K	P	
	T	P	T	P	T	A
	G	P	T	V	T	V
	I	P				
	V	G	R	E	G	G
	D	I	T	I	S	G
	K	G	F	S	T	
	T	G	F	G	V	Y
	V	A	V	A	P	A
	S	V	P	E	F	
	Y	G	N	S	D	K
	F	Y	G	Y	D	P
	S	K	D	T	T	
	E	S	P	S	T	I
	W	V	Y	T	P	S
	Q	K	A	I	G	S
	R	F	A	Q	G	R
	P	M	N	N	D	G
	S	F	T	I	T	
	M	K	A	P	P	F
	E	Q	G	K	D	F
	V	V	L	T	T	
	K	A	H	G	V	G
	K	T	D	H	S	D
	D	T	R	T		
	P	V	T	Y	R	E
	A	T	P	A	P	T
	G	P	K	T	P	I

30	25	20	15	10	5	
371	MKAKLLVLLCTFTATYAV EPTTTISATSTHELSASD ARNSIQLLNAHIATLQSV QKSVPGSDYSDQIRDLL KAAFDLRGLIETLAHGGI PFYDPSTIMPRIKLVATTI DTIHTATTTLQNKVRPAH VELGLEVTKAVLLTANPA STAKELDAEGAALKARL EKVSQYPDLTPNDVATS SNRPRSVAQAAIATDGK GIIDKDSRDAVINDAKLR AAIAGALVKAGFSSADA VALAPRIAKEMAKEGVLL INHHKLKALIGAQLGLLT DAKIQRAAAVLDGIKAT LAATIIPNALGSAAFKNA VIANLVAAGIDKHLARAT AVAIVATALNPALGPIAK FELIKAEIAAQAALLIRRG	Quad- CAMP2- Nter-link- H4V3-f- PRO-028- V7- F16_ssH A		375		381, 382

30	VHLQKAAIEHVIGRAFDA AVATAIISSPILSARIVTHL VRAGIDKSIAISLAPHIVK RLAKEPLLAFNATAKLMK NITRQIVDVITADKAIKTA EQLEKELPALDDLKKA SSPPKPTPTPTPTTAG PTVTVIPVGREGGDITIS GKGFSTTGFGVYVAVAP ASVPEFYGNSDKFYGYD PSKDTTESPSTIWVYTP SQAIGSRFAQGRPMN NDGSFTITMKAPPFEQG KDFVVLTTKAHGVGKTD HSDDTRTPVTYREATPA PTGPKTPI	25	20	15	10	5	
372	MKAKLLVLLCTFTATYAS SNRPRSVAQAAIATDGK GIIDKDSRDAVINDAKLR AAIAGALVKAGFSSADA	Quad- H4V3-f- PRO-028- V7-F16-			376		383, 394

30	25	20	15	10	5	
	VALAPRIAKEMAKEGVLL INHHKLKALIGAQLGLLT DAKIQRAAAVIDLGKAT LAATIIPNALGSAAFKNA VIANLVAAGIDKHLARAT AVAIVATALNPALGPIAK FELIKAEIAAQAALLIRRG VHLQKAAIEHVIGRAFDA AVATAIISSPILSARIVTHL VRAGIDKSIAISLAPHIVK RLAKEPLAFNTAKLMK NITRQIVDVITADKAIKTA EQLEKELPALDDLKKA SSPPKPTPTPTPTAG PTVTVIPVGREGGDITIS GKGFSTTGFGVYVAVAP ASVPEFYGNSDKFYGYD PSKDTTESPSTIWVYTP SQAIGSRFAQGRPMN NDGSFTITMKAPPFEQG	nolink- Cter- Camp2_S SHA				

30	KDFVVLTTKAHGVGKTD HSDDTRTPVTYREATPA PTGPKTPIVYVRTNFSKT IWQVRANRDRYILGHKS AAVYKTLNHAITKAVGV RLNPKTTVGNIQAARTE LLAAYQTAFNSPDVKKA A	25	20	15	10	5
----	---	----	----	----	----	---

30

25

20

15

10

5

Tabla 6

SEQ ID NO	Codificada, por ejemplo, por la secuencia de nucleótidos de acuerdo con la SEQ ID NO:
42	una cualquiera de 126-152, 311
44	153
45	154
46	155
47	156
48	157
49	158
50	159
51	160
52	161
53	162
54	163
55	164

SEQ ID NO	Codificada, por ejemplo, por la secuencia de nucleótidos de acuerdo con la SEQ ID NO:
56	165
57	166
58	167
59	168
60	169
61	170
62	171
63	172
64	173
65	174
66	175
67	176
68	177
69	178

30

25

20

15

10

5

SEQ ID NO	Secuencia de aminoácidos	Codificada, por ejemplo, por la secuencia de nucleótidos de acuerdo con la SEQ ID NO:
70	SSNRPRSVAQAAIATDGKGIIDKDSRDAVINDAKLRAAIAGALVKAGFSS ADAVALAPRIAKEMAKEGVLLINHHKLKALIGAQLGLLTD AKIQRAAAAV DLGIKATLAATIIPNALGSAAFKNAVIANLVAAGIDKHLARATAVAIVATAL NPALGPIAKFELIKAEIAAQAALLIRRGVHLQKAAIEHVIGRAFDAAVATAII SSPILSARIVTHLVRAGIDKSIAISLAPHIVKRLAKEPLLA FNTAKLMKNITR QIVDVITADKAIKTAEQLEKELPALDDL VKKASSPPKPTPTPTPTPT	179
71	MSSNRPRSVAQAAIATDGKGIIDKDSRDAVINDAKLRAAIAGALVKAGFS SADAVALAPRIAKEMAKEGVLLINHHKLKALIGAQLGLLTD AKIQRAAAA VDLGIKATLAATIIPNALGSAAFKNAVIANLVAAGIDKHLARATAVAIVATA LNPALGPIAKFELIKAEIAAQAALLIRRGVHLQKAAIEHVIGRAFDAAVATA IISSPILSARIVTHLVRAGIDKSIAISLAPHIVKRLAKEPLLA FNTAKLMKNIT RQIVDVITADKAIKTAEQLEKELPALDDL VKKASSPPKPTPTPTPTPTPT	180
72	SSNRPRSVAQAAIATDGKGIIDKDSRDAVINDAKLRAAIAGALVKAGFSS ADAVALAPRIAKEMAKEGVLLINHHKLKALIGAQLGLLTD AKIQRAAAAV DLGIKATLAATIIPNALGSAAFKNAVIANLVAAGIDKHLARATAVAIVATAL NPALGPIAKFELIKAEIAAQAALLIRRGVHLQKAAIEHVIGRAFDAAVATAII	181

30

25

20

15

10

5

	SSPILSARIVTHLVRAGIDKSIAISLAPHIVKRLAKEPLLAFTAKLMKQITR QIVDVITADKAIKTAEQLEKELPALDDLKASSPPKPTPTPTPTPT	
73	AGPTVTVIPVGREGGDITISGKGFSTTGFGVYVAVAPASVPEFYGNSDK FYGYDPSKDTTESPSTIWVYTPSQKAIGSRFAQGRPMNNDGSFTITMK APPFEQKGKDFVVLTTKAHGVGKTDHSDDTRTPVTYREATPAPTGPKTP IAPSKQPSKQAAPSKQVKPSKQAGPNKQSTTPQQKTAEHRSTPAAH RTMTKQVSTIGASKVTSGSLTWGIRTSFTSYLRGPIANGSWKLSSGAN WNGSAFTFPLTSGSFDPAKSGSLKYSGSVHMTGHHGILDMTLAEPST QIKGSTGHLYLDVKSSSMDGKKTNYGRVDFATFGVSVSGNAAIKGSPV KLTATGAKAFAGFYRAGEPMNPLSTNLTLAEKVSHNVTVDVAVTGKVIG DDSGKGAGRGLPVT	182
74		183
75		184
76		185
77		186
78		187
79		188
80	SSNRPRSVAAAIATDGKGIIDKDSRDAVINDAKLRAAIAGALVKAGFSS ADAVALAPRIAKEMAKEGVLLINHHKLKALIGAQLGLLTDKIQRAAAV DLGIKATLAATIIPNALGSAAFKNAVIANLVAAGIDKHLARATAVAIVATAL	189

30

25

20

15

10

5

	NPALGPIAKFELIKAEIAAQAALLIRRGVHLQKAAIEHVIGRAFDAAVATAII SSPILSARIVTHLVRAGIDKSIAISLAPHIVKRLAKEPELLAFNTAKLMKNITR QIVDVITADKAIKTAEQLEKELPALDDLKASSPPKPTPTPTPTAGPT VTVIPVGREGGDITISGKGFSTTGFGVYVAVAPASVPEFYGNSDKFYGY DPSKDTTESPSTIWVYTPSQKAIGSRFAQGRPMNNDGSFTITMKAPPF EQGKDFVVLTTKAHGVGKTDHSDDRTPVTYREATPAPTGPKTPI	
81		190
82	SSNRPRSVAQAAIATDGKGIIDKDSRDAVINDAKLRAAIAGALVKAGFSS ADAVALAPRIAKEMAKEGVLLINHHKLKALIGAQLGLLTDAKIQRAAAAV DLGIKATLAATIIPNALGSAAFKNAVIANLVAAGIDKHLARATAVAIVATAL NPALGPIAKFELIKAEIAAQAALLIRRGVHLQKAAIEHVIGRAFDAAVATAII SSPILSARIVTHLVRAGIDKSIAISLAPHIVKRLAKEPELLAFNTAKLMKNITR QIVDVITADKAIKTAEQLEKELPALDDLKAMGPPKPTGGGGGAGPTV TVIPVGREGGDITISGKGFSTTGFGVYVAVAPASVPEFYGNSDKFYGYD PSKDTTESPSTIWVYTPSQKAIGSRFAQGRPMNNDGSFTITMKAPPFE QGKDFVVLTTKAHGVGKGDDHSDDRTPVGYR	191
83	SSNRPRSVAQAAIATDGKGIIDKDSRDAVINDAKLRAAIAGALVKAGFSS ADAVALAPRIAKEMAKEGVLLINHHKLKALIGAQLGLLTDAKIQRAAAAV DLGIKATLAATIIPNALGSAAFKNAVIANLVAAGIDKHLARATAVAIVATAL NPALGPIAKFELIKAEIAAQAALLIRRGVHLQKAAIEHVIGRAFDAAVATAII	192

30

25

20

15

10

5

	SSPILSARIVTHLVRAGIDKSIAISLAPHIVKRLAKEPLLAFTAKLMKNITR QIVDVITADKAIKTAEQLEKELPALDDLKASSPPKPTPTPTPTAGPT VTVIPVGREGGDITISGKGFSTTGFGVYVAVAPASVPEFYGNSDKFYGY DPSKDTTESPSTIWVYTPSQKAIGSRFAQGRPMNNDGSFTITMKAPPF EQGKDFVVLTTKAHGVGKTDHSDDTRTPVTYR	
84	sgsILAIYSTVASSLVLLVSLGAISFgsg	193, 194, 195, 197, 198, 200, 201, 395 o 396
85		196 o 199 o 312
86		196 o 199 o 312
203	VEPTTISATSTHELASDARNISQLLNAHIATLQSVQKSVPGSDYSDQ IRDLLKAAFDLRGLIETLAHGGIPFYDPSTIMPRIKLVATTIDTIHTATTL QNKVRPAHVELGLEVTKAVLLTANPASTAKELDAEGAALKARLEKVS QYPDLTPNDVATVYVRTNFSKTIWQVRANRDRYILGHKSAAVYKTLNH <u>AITKAVGVRLNPKTTVGNIQAARTELLAAYQTAFNSPDVKKAA</u>	
207	VEPTTISATSTHELASDARNISQLLNAHIATLQSVQKSVPGSDYSDQ IRDLLKAAFDLRGLIETLAHGGI PFYDPSTIMPRIKLVATTIDTIHTATTLQNKVRPAHVELGLEVTKAVLL TANPASTAKELDAEGAALKA RLEKVSQYPDLTPNDVATVYVRTNFSKTIWQVRANRDRYILGHKSAAV <u>YKTLNHAITKAVGVRLNPKTTV</u>	

30

25

20

15

10

5

	<u>GNIQAARTELLAAYQTAFNS</u>	
	<u>PDVKKAAsgsILAIYSTVASSLVLLVSLGAISFgsg</u>	

SEQ ID NO	Codificada, por ejemplo, por la secuencia de nucleótidos de acuerdo con la SEQ ID NO:
268	290
269	291
270	292
271	293
272	294
273	295
274	296
275	297
276	298
277	299
278	300

SEQ ID NO	Codificada, por ejemplo, por la secuencia de nucleótidos de acuerdo con la SEQ ID NO:
279	301
280	302
281	303
282	304
283	305
284	306
285	307
286	308
287	309
288	310

30

25

20

15

10

5

SEQ ID NO	Secuencia de aminoácidos	Codificada, por ejemplo, por la secuencia de nucleótidos de acuerdo con la SEQ ID NO:
368	VAQAAIATDGKGIIDKDSRDAVINDAKLRAAIAGALVKAGFSSADAVALAPRIAKEMAKE GVLLINHHKLKALIGAQLGLLTDAKIQRAAAAVDLGIKATLAATIIPNALGSAAFKNAVIAN LVAAGIDKHLARATAVAIVATALNPALGPIAKFELIKAEIAAQAALLIRRGVHLQKAAIEHV IGRAFDAAVATAIISSPILSARIVTHLVRAGIDKSIAISLAPHIVKRLAKEPLAFNTAKLMK AITRQIVDVITADKAIKTAEQLEKELPALDDLKAMGPPKPTGGGGGAGPTVTVIPVG REGGDITISGKGFSTTGFGVYVAVAPASVPEFYGNSDKFYGYDPSKDTTESPSTIWVY TPSQKAIGSRFAQGRPMNNDGSFTITMKAPPFEQKDFVVLTTKAHGVGKGDHGDDT RTPVGYR	
373	VEPTTISATSTHELASDARNISQLLNAHIATLQSVQKSVPGSDYSDQIRDLLKAAFDL RGLIETLAHGGIPFYDPSTIMPRIKLVATTIDTIHTATTTLQNKVRPAHVELGLEVTKAVLL TANPASTAKELDAEGAALKARLEKVSQYPDLTPNDVATVYVRTNFSKTIWQVRANRD RYILGHKSAAVYKTLNHAITKAVGVRLNPKTTVGNIQAARTELLAAYQTAFNSPDVKKA	384, 385

30

25

20

15

10

5

	ASSNRPRSVAQAAIATDGKGIIDKDSRDAVINDAKLRAAIAGALVKAGFSSADAVAP RIAKEMAKEGVLLINHHKLKALIGAQLGLLTDAKIQRAAAAVDLGIKATLAATIIPNALGSA AFKNAVIANLVAAGIDKHLARATAVAIVATALNPALGPIAKFELIKAEIAAQAALLIRRGVH LQKAAIEHVIGRAFDAAVATAIISPIALSARIVTHLVRAGIDKSIAISLAPHIVKRLAKEPLLA FNTAKLMKNITRQIVDVITADKAIKTAEQLEKELPALDDLKASSPPKPTPTPTPTPTA GPTVTVIPVGREGGDITISGKGFSTTGFGVYVAVAPASVPEFYGNSDKFYGYDPSKDT TESPSTIWVYTPSQKAIGSRFAQGRPMNNDGSFTITMKAPPFEQKDFVVLTTKAHGV GKTDHSDDTRTPVTYREATPAPTGPKTPI	
374	VEPTTISATSTHELASDARNISIQLLNAHIATLQSVQKSVPGSDYSDQIRDLLKAAFDL RGLIETLAHGGIPFYDPSTIMPRIKLVATTIDTIHTATTTLQNKVRPAHVELGLEVTKAVLL TANPASTAKELDAEGAALKARLEKVSQYPDLTPNDVATVYVRTNFSKTIWQVRANRD RYILGHKSAAVYKTLNHAITKAVGVRLNPKTTVGNIQAARTELLAAYQTAFNSPDVKA ASSNRPRSVAQAAIATDGKGIIDKDSRDAVINDAKLRAAIAGALVKAGFSSADAVAP RIAKEMAKEGVLLINHHKLKALIGAQLGLLTDAKIQRAAAAVDLGIKATLAATIIPNALGSA AFKNAVIANLVAAGIDKHLARATAVAIVATALNPALGPIAKFELIKAEIAAQAALLIRRGVH LQKAAIEHVIGRAFDAAVATAIISPIALSARIVTHLVRAGIDKSIAISLAPHIVKRLAKEPLLA FNTAKLMKNITRQIVDVITADKAIKTAEQLEKELPALDDLKASSPPKPTPTPTPTPTA GPTVTVIPVGREGGDITISGKGFSTTGFGVYVAVAPASVPEFYGNSDKFYGYDPSKDT TESPSTIWVYTPSQKAIGSRFAQGRPMNNDGSFTITMKAPPFEQKDFVVLTTKAHGV GKTDHSDDTRTPVTYREATPAPTGPKTPI	386, 387

30

25

20

15

10

5

375	VEPTTTISATSTHELASDARNISQLLNAHIATLQSVQKSVPGSDYSDQIRDLLKAAFDL RGLIETLAHGGIPFYDPSTIMPRIKLVATTIDTIHTATTTLQNKVRPAHVELGLEVTKAVLL TANPASTAKELDAEGAALKARLEKVSQYPDLTPNDVATSSNRPRSVAAAIATDGKGII DKDSRDAVINDAKLRAAIAGALVKAGFSSADAVAPRIAKEMAKEGVLLINHHKLKALI GAQLGLLTDAKIQRAAAAVDLGIKATLAATIIPNALGSAAFKNAVIANLVAAGIDKHLARA TAVAIVATALNPALGPIAKFELIKAEIAAQAALLIRRGVHLQKAAIEHVIGRAFDAAVATAII SSPILSARIVTHLVRAGIDKSIAISLAPHIVKRLAKEPLAFNTAKLMKNITRQIVDVITADK AIKTAEQLEKELPALDDLKASSPPKPTPTPTPTPTAGPTVTVIPVGREGGDITISGKG FSTTGFGVYVAVAPASVPEFYGNSDKFYGYDPSKDTTESPSTIWVYTPSQKAIGSRFA QGRPMNNDGSFTITMKAPPFEQGKDFVVLTTKAHGVGKTDHSDDRTPVTYREATPA PTGPKTPI	388, 389
376	SSNRPRSVAAAIATDGKGIIIDKDSRDAVINDAKLRAAIAGALVKAGFSSADAVAPRI AKEMAKEGVLLINHHKLKALIGAQLGLLTDAKIQRAAAAVDLGIKATLAATIIPNALGSAA FKNAVIANLVAAGIDKHLARATAVAIVATALNPALGPIAKFELIKAEIAAQAALLIRRGVHL QKAAIEHVIGRAFDAAVATAIISSPILSARIVTHLVRAGIDKSIAISLAPHIVKRLAKEPLAF NTAKLMKNITRQIVDVITADKAIKTAEQLEKELPALDDLKASSPPKPTPTPTPTPTAG PTVTVIPVGREGGDITISGKGFSTTGFGVYVAVAPASVPEFYGNSDKFYGYDPSKDTT ESPSTIWVYTPSQKAIGSRFAQGRPMNNDGSFTITMKAPPFEQGKDFVVLTTKAHGV GKTDHSDDRTPVTYREATPAPTGPKTPIVYVRTNFSKTIWQVRANRDRYILGHKSAA VYKTLNHAITKAVGVRLNPKTTVGNIQAARTELLAAYQTAFNSPDVKKAA	390, 393

30

25

20

15

10

5

Secuencias de nucleótidos

Tabla 7

SEQ ID NO	secuencia ARNm	de	Nombre	Nombre alternativo	secuencia de péptido señal de secreción de acuerdo con la SEQ ID NO	la secuencia de nucleótido s que codifica un antígeno de <i>C. acnes</i> es de acuerdo con la SEQ ID NO:	contiene una secuencia de TMB de acuerdo con la SEQ ID NO	Codifica el polipéptido de acuerdo con la SEQ ID NO
87			ssHA_CAM P2_WT_GA	mRNA / ssHA_CAM P2_WT_GA	126	153		2
88			ssHA_CAM P2_WT_GS	mRNA / ssHA_CAM P2_WT_GS	127	154		3

30	25	20	15	10	5	
89		ssHA_CAM P2_WT_G+	mRNA / HA SS_CAMP2 _WT	128	155	4
90	AUGAAGGCCAAG CUGCUGGUGCU GCUGUGCACCUU CACCGCCACCUA UGCCGUCGAGCC CACCACCACCAU CUCCGCCACAUC CACACACGAACU GUCCGCAAGCGA CGCCAGAAACAG CAUCCAGCUGCU GAACGCCCACAU CGCCACCCUCCA GAGCGUGCAGAA GAGUGUGCCCG GCAGCGAUUAUA GCGACCAGAUCC	CAMP2_W T_HA TMB	mRNA / HA SS_CAMP2 _WT_HA TMB #1	129	156	193 5

5						
10						
15						
20						
25	GGGACCUGCUCA AGGCCGCAUUCG ACCUGCGCGGCC UGAUCGAGACAC UGGCUCAUGGCG GGAUCCCCUUCU AUGAUCCCAGCA CCAUCAUGCCCA GGAUCAAGCUGG UCGCCACUACCA UCGACACCAUCC ACACCGCCACCA CCACCCUGCAGA ACAAAGUGCGCC CCGCCCACGUGG AGCUGGGGCUG GAGGUGACCAAA GCGGUGCUGCU GACAGCCAACCC UGCAUCCACCGC					
30						

5						
10						
15						
20						
25	CAAGGAGCUGGA CGCAGAGGGCGC UGCACUGAAGGC CCGGCUCGAGAA GGUGUCCCAGUA UCCCGACCUGAC CCCCAACGACGU GGCCACUGUGUA CGUGCGGACCAA CUUCAGCAAGAC CAUUUGGCAGGU CAGGGCCAAUAG AGACAGAUACAU CCUGGGGCACAA AAGCGCCGCCGU GUACAAGACCCU GAACCACGCCAU CACCAAGGCCGU GGGAGUGCGGC UGAAUCCAAAGA					
30						

				5	10	15	20	25	30
	CCACCGUGGGCA ACAUUCAGGCCG CCAGAACCGAGC UGCUGGCCCGCCU ACCAGACAGCUU UCAAUAGCCCCG ACGUGAAGAAGG CCGCCUCCGGCA GCAUCCUGGCCA UCUACUCCACCG UGGCCUCCAGCC UGGUGCUGCUG GUGAGCCUGGG CGCUAUCUCCUU CGGGUCUGGGU AA								
91	aUgaaagccaagcUg cUggUgcUgcUcUgc acUUUUUaccgccacc UacgccgUggagccca	CAMP2_W T_HA TMB	mRNA / HA SS_CAMP2 _WT_HA TMB #2	130	157	194	6		

5						
10						
15						
20						
25	ccacaacaaUcagcgc cacaUccacccacgaa cUgagcgccUccgacg ccagaaaUUccaUcc agcUgcUgaacgcca caUcgccacccUgcag agcgUgcagaaaagcg UgcccggcUcUgaUU acagcgaccagaUccg ggaccUgcUgaaggc cgccUUUgaccUgag aggccUgaUcgagac acUggcccacggaggc aUcccUUUcUacga UccUagcaccaUcaU gccUcggaUcaagcU ggUggccacaacaaU cgacaccaUccacacc gccaccaccacacUgc agaacaaagUgcggcc					
30						

5						
10						
15						
20						
25	UgcccaUgUggaacU gggccUggaagUgac caaggccgUgcUgcU gacagccaaUccUgc Uagcacagccaaggaa cUggaUgccgaggga gccgcccUgaaggcUa gacUggagaaggUga gccagUaccccgaccU gacccccaaUgacgUg gcaaccgUgUacgUg agaaccaaUUUcagc aagaccaUcUggcag gUgcggggccaaUcgg gacagaUacaUccUg ggccacaagagcgccg ccgUgUacaagaccc UgaaUcacgcccaUca ccaaggccgUgggcg UgcggcUgaaUccUa					
30						

30	25	20	15	10	5	
	agaccaccgUgggcaa UaUccaggccgcccgg acagaacUgcUggcc gccUaccagacagccU UUaaUagcccUgaU gUgaagaaggccgcca gcgggagcaUUcUgg ccaUcUacUcUaccg UggccUcUagccUgg UgcUgcUggUgUcU cUgggagccaUUagc UUcgggaUcUggcUg aUaa					
92			mRNA / NA TMB_CAM P2_WT		158	7
93			mRNA / NA TMB_CAM P2_Nglyc- neg		159	8

30	25	20	15	10	5		
94		CAMP2_G- _HA TMB	mRNA / HA SS_CAMP2 _Nglyc- neg_HA TMB	131	160	195	9
95			mRNA / ssHA_CAM P2_G-GA		161		10
96			mRNA / ssHA_CAM P2_G-GS		162		11
97		ssHA_CAM P2_WT_G-	mRNA / HA SS_CAMP2 _Nglyc-neg	132	163		12
98		ssHA_CAM P2_mL	mRNA / HA SS_CAMP2 _mL	133	164		13
99		ssHA_CAM P2_G(-)_mL	mRNA / HA SS_CAMP2	311	165		14

			_Nglyc- neg_mL				
100		ssHA_CAM P2_mCter	mRNA / HA SS_CAMP2 _mCter	134	166		15
101		ssHA_CAM P2_G- _mCter	mRNA / HA SS_CAMP2 _Nglyc- neg_mCter	135	167		16
102		ssHA_DSA 1_Native_T MB_WT_tru nc	mRNA / HA SS_DSA1_ HA TMB	136	168	196	17
103		ssHA_DSA 1_WT_trunc	mRNA / HA SS_DSA1_ WT_trunc	137	169		18
104		ssHA_DSA 1_SGS_TM B_WT_trun c	mRNA / HA SS_DSA1_ HA TMB- sgs linker	138	170	197	19

30

25

20

15

10

5

30	25	20	15	10	5	
105		ssHA_DSA 2_Native_T MB_WT_tru nc	mRNA / HA SS_DSA2_ HA TMB		171	20
106		ssHA_DSA 2_SGS_TM B_WT_trun c	mRNA / HA SS_DSA2_ HA TMB- sgs linker	139	172	198
107		ssHA_DSA 2_WT_trunc	mRNA / HA SS_DSA2_ WT_trunc	140	173	22
108		ssHA_DSA 2_WT_trunc _mutH	mRNA / HA SS_DSA2 mutH	141	174	23
109		ssHA_DSA 2_Native_T MB_WT_tru nc_mut	mRNA / HA SS_DSA2- mutH_HA TMB	142	175	199
110		ssHA_DSA 2_SGS_TM	mRNA / HA SS_DSA2-	143	176	200

		B_WT_trunc_mut	mutH_HA TMB-sgs linker				
111			mRNA / HA SS_DSA2- Nglyc- neg_HA TMB-sgs linker	137	177	200	26
112			mRNA / HA SS_DSA2- Nglyc- neg_HA TMB	137	178	312	27
113	AUGAAGGCCAAG CUGCUGGUGCU GCUGUGCACAUU CACAGCAACCUA UGCAUCAUCCAA CAGGCCUCGCUC	ssHA_H4_V 3	mRNA / ssHA H4- V3	144	179		28

5						
10						
15						
20						
25	CGUGGCCCAGGC UGCUAUUGCUAC CGACGGCAAGGG AAUCAUCGAUAA AGACUCCAGGGA UGCCGUGAUCAA CGAUGCCAAGCU CCGGGCCGCAAU UGCCGGAGCCCU GGUGAAAGCCGG GUUCAGCUCCGC CGAUGCUGUGGC UCUGGCUCCAAG GAUUGCUAAGGA GAUGGCCAAAGA GGGGGUGCUGC UGAUUAACCACC ACAAGCUGAAGG CACUGAUCGGAG CACAGCUGGGAC					
30						

5						
10						
15						
20						
25	UGCUGACUGACG CCAAAAUCCAGC GCGCCGCUGCAG CAGUCGACCUGG GCAUCAAGGCCA CACUGGCUGCUA CCAUCAUUCCUA ACGCUCUGGGCA GCGCAGCCUUUA AGAAUGCCGUUA UCGCCAAUCUCG UGGCUGCUGGAA UUGAUAAGCACC UGGCCAGAGCCA CAGCUGUGGCCA UCGUGGCCACUG CCCUGAACCCAG CAUUGGGCCCUA UCGCUAAGUUUG AGCUGAUUAAGG					
30						

5						
10						
15						
20						
25	CCGAGAUCGCCG CUCAGGCUGCCC UGCUGAUUCGCA GGGGAGUGCACC UGCAGAAGGCUG CCAUCGAGCACG UCAUCGGCAGAG CAUUCGACGCCG CUGUCGCCACUG CUAUCAUCUCUA GCCCAAUCCUGA GCGCCAGGAUCG UCACUCACCUGG UGAGAGCUGGGA UUGACAAAUCCA UCGCUAUCAGCC UGGCCCCUCACA UCGUGAAGAGGC UGGCUAAGGAAC CACUGCUGGCUU					
30						

	30 25 20 15 10 5						
	UUAACACUGCUA AGCUGAUGAAGA AUAUUACAAGAC AGAUCGUGGACG UCAUCACCGCCG ACAAAGCCAUCA AGACAGCCGAGC AGCUCGAGAAGG AGCUGCCUGCCC UGGAUGACCUUG UGAAGAAGGCAU CCUCCCCCCCCUA AGCCAACCCCUA CCCCAACCCCUA CACCUACUUA						
114			mRNA / ssHA_H4- V3 Nglyc- neg	137	181		30

30	25	20	15	10	5	
115	AUGAAGGCAAAG CUGCUGGUGCU GCUGUGCACAUU UACUGCCACUUA CGCAGCAGGCCC UACCGUCACAGU GAUCCCUGUGGG CAGAGAAGGUGG CGACAUCACCAU CAGCGGCAAGGG CUUCAGCACCAC AGGCUUUGGCGU GUACGUGGCCGU GGCACCUGCUAG CGUGCCCGAAUU CUACGGCAAUAG CGACAAGUUCUA CGGCUACGACCC CAGCAAGGACAC CACCGAGAGCCC	ssHA_P028 _V7	mRNA / P28-V7	145	182	31

5						
10						
15						
20						
25	UAGCACCAUCUG GGUGUACACCCC UAGCCAGAAGGC CAUCGGCUCUCG GUUCGCCCAGGG CAGACCCAUGAA CAAUGACGGCAG CUUCACAAUCAC CAUGAAGGCCCC CCCUUUCGAGCA GGGCAAAGACUU CGUGGUGCUGAC CACAAAGGCCCA UGGCGUGGGCAA AACCGAUCACAG CGACGACACACG GACACCUGUCAC CUACAGAGAGGC UACCCCUGCCCC UACAGGCCCUAA					
30						

5						
10						
15						
20						
25	GACACCCAUCGC CCCUAGCAAGCA GCCUAGCAAGCA GGCCGCCCCUAG CAAGCAGGUGAA GCCUUCUAAGCA GGCCGGCCCCAA CAAGCAGUCCAC CACACCUCAGCA GAAGACAGCCGA GCACAGAAGCCA GACCCCUGCCGC CCACCGGACCAU GACAAAGCAGGU GAGCACCAUCGG CGCCAGCAAGGU GACAAGCGGCUC UCUGACCUGGGG CAUCAGAACCUC UUUUACCUCCUA					
30						

5						
10						
15						
20						
25	CCUGAGAGGCCC UAUCGCCAACGG CUCUUGGAAGCU GAGCGGAGGCG CCAAUUGGAAUG GCUCCGCCUUCA CCUUCCCUCUGA CCAGCGGCAGCU UCGACCCAGCCA CCAAGUCCGGAA GCCUGAAGUACA GCGGCAGCGUG CACAUGACAGGC CACCACGGCAUC CUGGACAUGACC CUGGCCGAGCCA AGCCUGCAGAUC AAGGGAAGCACC GGCCACCUGUAU CUGGACGUGAAA					
30						

5						
10						
15						
20						
25	AGCAGCAGCAUG GACGGCAAGAAG ACCAAUUACGGC AGAGUGGACUUC GCCACCUUCGGA GUGAGCGUGUCU GGCAACGCCGCC AUCAAGGGCAGC CCUGUGAAGCUG ACCGCCACAGGC GCUAAGGCUUUU GCCGGCUUCUAC AGAGCCGGCGAG CCUAUGAACCCU CUGAGCACCAAU CUGACCCUGAGC GCCGAGAAGGUG UCCCACAACGUG ACCGUGGACGCA GUGACAGGCAAG					
30						

	30	25	20	15	10	5	
	GUGAUCGGCGAC GACUCUGGCAAG GGAGCCGGCCG GGGCCUGCCCG UGACAUAA						
117		ssHA_PITP _WT_trunc	mRNA / ssHA_PITP _WT_trunc	146	184		33
118			mRNA / ssHA_PITP _Nglyc-neg	137	185		34
119		P028_V7_G lyneg	mRNA / ssHA_P28- V7_Nglyc- neg	147	186		35
120		ssHA_PITP _SGS_TMB _HA_WT_tr unc	mRNA / ssHA_PITP _WT_HA TMB-sgs linker	148	187	201	36

30	25	20	15	10	5		
121			mRNA / ssHA_PITP _Nglyc- neg_HA TMB-sgs linker	137	188	200	37
122	aUgaaggccaaacUg cUggUgcUgcUgUg UaccUUUacagccac aUaUgccUccUcUaa UagaccaagaUccgU ggcUcaggccgccaUc gcUacagaUgggaaa ggaaUcaUcgaUaag gaUagUcgggaUgca gUgaUcaacgacgcc aaacUccgagcUgcca UcgccggcgcccUgg UgaaggcUgggUUU Uccagcgccgacgcag	nCO- ssHA_H4- V3-f-PRO- 028-V7-F16	H4-V3-f- PRO-028- V7-F16, quimera triple P22/P27P2 8	149	189		38

5						
10						
15						
20						
25	UggcccUggcaccUa gaaUcgccaaggaga Uggcaaaggagggcg UccUgcUgaUUaaU caccacaagcUgaaag cUcUgaUUggggcU cagcUcggacUgcUg acUgacgccaagaUcc agagggccgcagcUgc cgUggaUcUggggaU caaggccacUcUggcc gcUacUaUUaUUcc UaacgcUcUggggUc UgccgccUUcaagaa UgcUgUcaUUgcca accUggUggcUgcUg gcaUcgacaaacaccU cgccagggcUaccgcU gUggccaUcgUUgcc acagcccUgaaUccU					
30						

5						
10						
15						
20						
25	gcccUgggcccUcg cUaaaUUUgagcUg aUUaaggcUgagaUc gccgcccaggccgcac UgcUgaUcagaagg gggUccaUcUgcaga aggccgcUaUUgaac aUgUgaUcggccgcg caUUcgacgcUgccg UggccaccgcUaUca UUUccUcUccaaUc cUgagcgcacggaUU gUgaccaccUggUg agggcUggaaUUga UaaaagcaUcgcUaU cUcccUggcUccUca UaUcgUgaagcgccU ggccaaggagccccUg cUggcUUUcaacacc gccaagcUgaUgaag					
30						

5						
10						
15						
20						
25	aaUaUUacaagacag aUcgUUGacgUgaU cacagccgaUaaagcc aUcaaaacagcUgag cagcUggaaaaggagc UccccgcccUggacga ccUggUcaaaaaagc UagcUccccUccUaa gccUacccccacaccU acUccaacccccaccg ccggggcccaccgUgac agUgaUccccgUggg aagggaggggggcgac aUUaccaUUagcgga aaagggUUCcaca accgggUUCggcgUc UacgUggccgUggcU ccUgccUcUgUgcca gagUUCUaUggcaa UagcgacaagUUCUa					
30						

30	UgggUacgaUccaUc Uaaggacaccaccgaa agUcccagcaccaUc UgggUgUaUacacca UcccagaaagcaaUc ggcagcagaUUcgccc aaggcaggcccaUgaa UaaUgaUggcUcUU UcaccaUUacaaUga aggccccUccUUUcg agcagggaaggaUU UcgUggUgcUgacca ccaaagcacaUggcg UUggaaagaccgacc acagcgacgaUacUc ggaccccUgUgacUU acagagaggccacccc UgcUccaaccggccc UaaaacUcccaUcUg aUaa	25	20	15	10	5
----	---	----	----	----	----	---

30	25	20	15	10	5	
123		nCO- ssHA_PRO- H4-V3- lowglyc	H4-V3 low glyc	150	190	39
124	aUgaaggccaagcUg cUggUgcUgcUgUg caccUUCaccgccacc UacgccUccagcaacc ggccUagaagcgUgg cccaggccgccUcgc caccgacggcaagggc aUcaUcgacaaggaU UcccgggacgccgUga UcaaUgacgccaagc UgagagccgccUcgc cggcgcccUggUgaa ggccggcUUCagcagc gccgacgccgUggccc UggccccagaaUcgc caaggagaUggccaag	gc.CO- ssHA_PRO- 028-V12- lowglyc	PRO-028- V7-C12 low glyc	151	191	40

5						
10						
15						
20						
25	gaaggcgUgcUgcUg aUcaaUcaccacaagc UgaaggcccUgaUcg gcgcccagcUgggccU gcUgacagaUgccaa gaUccagagagccgc UgccgccgUggaccU gggcaUcaaggccacc cUggccgccaccaUca UcccUaacgcccUgg gcagcgcUgccUUca agaaUgccgUgaUcg ccaaccUggUggccgc cggcaUcgacaagcac cUggccagagccacag ccgUggccaUcgUgg ccaccgcccUgaaUcc UgcccUgggcccccaU cgccaagUUcgagcU gaUcaaggccgagaU					
30						

5						
10						
15						
20						
25	cgccgcccaggccgccc UgcUgaUccggcggg gcgUgcaccUgcaga aggccgccaUcgaaca cgUgaUcggcagagc cUUcgaUgccgccgU ggccaccgccaUcaUc agcUcccccaUccUg agcgccagaaUcgUg accaccUggUgcggg ccggcaUcgacaagUc caUcgccaUUagccU ggccccUcacaUcgU gaagcgccUggccaag gagccccUgcUggcc UUcaaUaccgccaag cUgaUgaagaaUaUc accagacagaUcgUg gaUgUgaUcaccgcc gaUaaggccaUcaag					
30						

5						
10						
15						
20						
25	accgccgagcagcUgg agaaagagcUgcccgc ccUggacgaccUggU gaaaaaggccaUgggc cccccUaagccUacag gcggcggcggaggcgc UggaccUaccgUgac cgUgaUccccgUggg cagagagggcggcgaU aUcaccaUcagcggca agggcUUcagcaccac cggcUUcggcgUgUa cgUggccgUggcccc UgccagcgUgcccgag UUcUacggcaaUagc gacaagUUcUacggc Uacgaccccagcaagg acaccacagaaUcUcc cagcaccaUcUgggU gUacacccccagccag					
30						

30	25	20	15	10	5	
	aaggccaUUggcagc cggUUcgcccagggcc ggccUaUgaacaaUg aUggcagcUUcacia UaccaUgaaggcccc acccUUcgagcagggc aaggacUUcgUggUg cUgaccaccaaggccc acggagUgggcaagg gcgaccacggcgacga cacacggacccccgUg ggcUacagaUgaUaa					
125	aUgaaagccaagcUg cUggUgcUgcUgUg UacUUUUacUgcaa ccUacgccagcagcaa ccgccaaggUcUgU cgcacaggcUgcUaU cgccacagaUggcaag ggaaUcaUUgaUaa	nCO- ssHA_PRO- 028-V7-C12	PRO-028- V7-C12, quimera triple P22/P27/P2 8	152	192	41

5						
10						
15						
20						
25	ggacagcaggggaUgc UgUgaUcaacgacgc aaaacUgagagccgcc aUcgccggcgcacUgg UgaaagccggcUUU UcUUccgccgacgca gUggcUcUggcUccc agaaUcgcUaaggaa aUggccaaggaggga gUgcUgcUgaUcaa UcaccacaaacUgaa ggcUcUgaUcggggc UcagcUggggccUgcU gacUgacgcUaagaU Ucagagagcagcagca gcUgUcgaccUggga aUcaaggcaacccUg gcagccacUaUcaUU ccaaaUgcUcUgggc UcUgccgccUUcaaa					
30						

5						
10						
15						
20						
25	aacgccgUgaUUgcc aaUcUcgUggcagcU ggaaUcgaUaagcac cUggcacgggccaccg ccgUggcUaUcgUgg ccaccgcUcUgaaUc ccgcccUgggcccUa UUgccaagUUUgaa cUgaUcaaagccgag aUcgcUgcacaggccg cccUgcUcaUccgca ggggggUccaccUgc agaaagcagccaUcga gcacgUgaUcggcag ggccUUUgaUgcagc cgUcgccacUgccaU caUcagcUcUccaaU ccUgUcUgcccggaU UgUgacUcaccUgg UgcgcgccggcaUcga					
30						

30	UaagUccaUcgcaaU cUcUcUggccccacac aUcgUgaagagacUg gccaaagaaccacUcc UggcUUUcaaUacc gccaaacUcaUgaaa aacaUcaccgcgcaga UcgUcgaUgUgaUU accgccgacaaggcUa Ucaagaccgccgagca gcUcgaaaaggagcU gccUgcccUggacgac cUggUgaagaaagcc UccUcUccacccaaac ccaccccaacUccaac UccaaccccUacagc UggccccaccgUgacc gUcaUcccagUggga agggaaggaggagaca UcaciaUcUcUggaa	25	20	15	10	5
----	--	----	----	----	----	---

30	aggggUUUagcaciaa ccggaUUUggagUg UacgUcgccgUggcc cccgaUccgUgccag aaUUcUacggcaaU UccgaUaaaUUcUa cgggUacgaccccUcc aaggacacUacagaga gccccUcUacaaUUU gggUgUacaccccaa gccagaaggccaUcgg aagcagaUUUgcUca gggccggccaaUgaac aacgacggaUccUUc acaaUcaciaaUgaaa gcaccUcccUUUgag cagggaaggaUUUU gUggUgcUgaccacc aaggcUcacggggUc ggaaagaccgaUcaca	25	20	15	10	5
----	---	----	----	----	----	---

30	25	20	15	10	5		
	gcgacgaUacaagaac ccccgUgacaUaccgg UgaUaa						

SEQ ID NO	secuencia de ARNm	Nombre	la secuencia de nucleótidos que codifica un antígeno de <i>C. acnes</i> es de acuerdo con la SEQ ID NO:	contiene una secuencia de TMB de acuerdo con la SEQ ID NO	Codifica el polipéptido de acuerdo con la SEQ ID NO
377	AUGAAGGCCAAG CUGCUGGUGCU GCUGUGUACCUU CACUGCAACAU AUGCUGUGGAGCC	Quad-CAMP2-H4V3-f-PRO-028-V7-	384	395	369

30					
25	CACAACCACAAU	F16_sgs_H			
	CUCUGCCACAAG	A-			
	CACCCACGAGCU	TM_gsg_ss			
	GUCUGCCAGCGA	HA			
	CGCCAGAAACUC	optimización			
	CAUCCAGCUGCU	de codones			
	GAAUGCCCACAU	#1			
	CGCCACACUGCA				
	GAGCGUGCAGAA				
	AUCCGUGCCUGG				
	CAGCGAUUACAG				
	CGACCAGAUCCG				
	GGACCUGCUGAA				
	GGCCGCCUUUGA				
	UCUGAGAGGCCU				
	GAUCGAAACCCU				
	GGCCCACGGCG				
	GCAUUCCCUUCU				
	AUGACCCCUCCA				
	CCAUCAUGCCCA				
15					
10					
5					

5					
10					
15					
20					
25					
30					
	GAAUCAAGCUGG				
	UGGCCACCACCA				
	UCGACACCAUCC				
	ACACAGCUACAA				
	CCACCCUGCAGA				
	ACAAGGUGCGGC				
	CAGCCCAUGUGG				
	AACUGGGCCUGG				
	AGGUGACAAAGG				
	CCGUGCUGCUGA				
	CCGCCAAUCCUG				
	CCAGCACAGCAA				
	AAGAACUGGACG				
	CCGAGGGAGCUG				
	CUCUGAAGGCCA				
	GACUGGAAAAGG				
	UGAGCCAGUACC				
	CCGACCUGACAC				
	CUAAUGAUGUGG				
	CCACAGUGUACG				

5					
10					
15					
20					
25					
30					
	UGAGAACCAAUU				
	UCAGCAAGACCA				
	UCUGGCAGGUGA				
	GAGCCAACAGAG				
	AUCGGUACAUCC				
	UGGGCCACAAGU				
	CCGCCGCCGUGU				
	ACAAGACCCUGA				
	AUCACGCCAUCA				
	CCAAGGCCGUGG				
	GCGUGCGGCUG				
	AAUCCUAAGACC				
	ACCGUGGGCAAC				
	AUCCAGGCCGCC				
	AGAACCGAACUG				
	CUGGCCGCCUAC				
	CAGACCGCCUUC				
	AACAGCCCCGAU				
	GUGAAGAAGGCC				
	GCUAGCUCCA AU				

5					
10					
15					
20					
25					
30	AGACCCAGAUCC GUGGCCCAGGCC GCCAUCGCCACA GAUGGCAAGGGG AUCAUCGACAAG GAUUCCAGAGAC GCUGUGAUCAAC GACGCAAAGCUG AGAGCCGCCAUC GCCGGAGCUCUG GUGAAGGCCGGC UUUAGCAGCGCC GACGCCGUGGCA CUGGCCCCCAGA AUUGCAAAGGAG AUGGCAAAGGAG GGCGUGCUGCU GAUCAAUACCA CAAGCUGAAGGC CCUGAUCGGCGC				

5					
10					
15					
20					
25					
30	ACAGCUGGGCCU GCUGACCGACGC AAAGAUUCAGAG AGCCGCCGCAGC CGUGGACCUGG GCAUCAAGGCCA CCCUGGCUGCCA CCAUCAUCCCUA ACGCCCUGGGCA GCGCCGCCUUCA AGAAUGCAGUGA UCGCCAACCUGG UGGCCGCCGGAA UCGACAAGCACC UGGCCAGAGCCA CAGCCGUCGCUA UCGUGGCCACAG CCCUGAAUCCCG CCCUGGGCCCCA UCGCCAAAUUUG				

5					
10					
15					
20					
25					
30					

5					
10					
15					
20					
25	CUCUGCUGGCCU UCAAUACAGCCA AGCUGAUGAAGA ACAUCACAAGAC AGAUCGUGGACG UGAUCACCGCCG ACAAGGCCAUCA AGACAGCCGAGC AGCUGGAGAAGG AACUGCCAGCCC UGGACGACCUGG UGAAGAAGGCCA GCAGCCCUCCCA AGCCUACCCCUA CCCCAACCCCUA CACCUACAGCCG GACCUACCGUGA CCGUGAUCCCUG UGGGCAGAGAGG GCGGCGACAUCA				
30					

5					
10					
15					
20					
25					
30					

CCAUCAGCGGCA					
AGGGCUUCAGCA					
CAACAGGCUUUG					
GCGUGUACGUG					
GCCGUGGCCCCA					
GCCAGCGUGCCU					
GAGUUUUACGGC					
AAUAGCGACAAG					
UUCUACGGCUAC					
GACCCCUCCAAG					
GACACCACCGAG					
AGCCCAAGCACC					
AUCUGGGUGUAC					
ACACCUAGCCAG					
AAGGCCAUCGGC					
AGCAGAUUUGCC					
CAGGGCAGGCCU					
AUGAAUAAUGAC					
GGCAGCUUCACA					
AUCACAAUGAAG					

5					
10					
15					
20					
25					
30					
	GCCCCCCCCUUU				
	GAGCAGGGCAAG				
	GACUUCGUGGUG				
	CUGACCACCAAG				
	GCCCACGGCGUG				
	GGCAAGACAGAU				
	CACAGCGACGAC				
	ACCCGGACCCCC				
	GUGACCUACAGA				
	GAAGCAACACCU				
	GCCCCUACCGGG				
	CCUAAGACACCC				
	AUCAGCGGCAGC				
	AUCCUGGCUAUC				
	UACAGCACAGUG				
	GCUUCUAGCCUG				
	GUGCUGCUGGU				
	GUCUCUGGGCG				
	CCAUCAGCUUUG				

30	25	20	15	10	5
	GCAGCGGCUGAU AA				
378	AUGAAGGCUAAG CUGCUGGUGCU GCUGUGCACAUU CACAGCCACCUA CGCCGUGGAGCC UACCACCACAAU CAGCGCCACCAG CACCCACGAGCU GAGCGCCAGCGA UGCCAGAAAUAG CAUCCAGCUGCU GAAUGCCCACAU CGCCACCCUGCA GUCCGUGCAGAA AAGCGUGCCUGG AAGCGAUUACAG CGAUCAGAUCAG GGACCUGCUGAA	Quad- CAMP2- H4V3-f- PRO-028- V7- F16_sgs_H A- TM_gsg_ss HA optimización de codones #2	385	396	369

5					
10					
15					
20					
25	GGCCGCCUUCGA UCUGAGAGGCCU GAUCGAGACACU GGCCCACGGCG GCAUCCCUUUCU ACGACCCCAGCA CCAUCAUGCCUA GAAUCAAACUGG UGGCCACCACCA UCGACACCAUCC ACACCGCAACAA CAACCCUGCAGA AUAAGGUGCGGC CUGCCCACGUGG AACUGGGACUGG AAGUGACAAAGG CCGUGCUGCUGA CCGCUAAUCCCG CCUCCACCGCCA AGGAGCUGGAUG				
30					

5					
10					
15					
20					
25	CCGAAGGAGCUG CCCUGAAAGCCA GACUGGAGAAGG UGAGCCAGUACC CUGAUCUGACCC CUAACGACGUGG CCACCGUGUACG UGAGAACCAAUU UCAGCAAGACCA UCUGGCAGGUGA GAGCCAAUCGGG ACAGAUACAUCC UGGGCCACAAGU CUGCCGCCGUGU AUAAAACCCUGA AUCACGCCAUCA CCAAGGCCGUGG GCGUGAGACUGA ACCCUAAGACAA CCGUGGGCAACA				
30					

5				
10				
15				
20				
25	UCCAGGCCGCCA GAACAGAGCUGC UGGCCGCCUACC AGACAGCCUUCA AUAGCCCCGACG UGAAGAAGGCCG CUUCCAGCAAUA GACCCCGGAGCG UGGCACAGGCUG CUAUUGCCACCG ACGGAAAGGGCA UCAUCGAUAAAG ACAGCCGGGAUG CCGUGAUCAAUG ACGCCAAGCUGA GAGCAGCAAUCG CCGGCGCUCUG GUGAAGGCAGGC UUCAGCAGCGCC GACGCCGUGGCU			
30				

5					
10					
15					
20					
25	CUGGCCCCUAGA AUCGCUAAGGAG AUGGCCAAGGAG GGCGUGCUGCU GAUCAAUCACCA CAAGCUGAAGGC CCUGAUCGGCGC CCAGCUGGGACU GCUGACAGAUGC CAAGAUCCAGAG AGCCGCUGCAGC CGUGGAUCUGG GCAUCAAGGCCA CACUGGCCGCCA CCAUCAUCCCAA ACGCCCUGGGCA GCGCCGCCUUCA AAAAUGCCGUGA UUGCCAACCUGG UGGCCGCCGGCA				
30					

5					
10					
15					
20					
25	UCGAUAAGCACC UGGCCAGAGCCA CAGCCGUGGCCA UCGUGGCCACAG CCCUGAAUCCCG CACUGGGACCUA UUGCCAAGUUCG AACUCAUUAAGG CCGAAAUCGCAG CCCAAGCCGCCC UGCUGAUUCGGC GGGGCGUGCAC CUGCAGAAAGCC GCCAUUGAGCAC GUGAUCGGCAGA GCCUUCGAUGCC GCUGUGGCCACC GCCAUCAUCUCC UCUCCUAUCCUG UCUGCUAGAAUC				
30					

5					
10					
15					
20					
25	GUGACCCACCUG GUCAGAGCCGGA AUCGACAAGUCU AUCGCUAUCAGC CUGGCCCCCCCAC AUCGUGAAGAGA CUGGCCAAAGAG CCCCUGCUGGCC UUCAACACAGCC AAGCUCAUGAAG AAUAUCACCAGA CAGAU CGUGGAC GUGAUCACCGCC GACAAGGCCAUC AAAACCGCUGAG CAGCUGGAGAAG GAGCUGCCCGCC CUGGAUGACCUG GUGAAGAAGGCC AGCAGCCCCCCC				
30					

5					
10					
15					
20					
25	AAGCCUACACCU ACACCUACCCCA ACCCCUACAGCC GGCCCUACAGUG ACCGUGAUUCCU GUGGGCAGAGAA GGAGGCGACAUC ACCAUCAGCGGA AAGGGCUUCUCU ACCACAGGCUUC GGCGUGUACGU GGCCGUGGCCC CUGCCUCCGUGC CCGAUUCUACG GCAACAGCGACA AGUUCUACGGCU ACGACCCCAGCA AAGACACCACAG AGAGCCCUUCCA CCAUCUGGGUGU				
30					

5					
10					
15					
20					
25					
30	ACACCCCUUCCC AGAAGGCCAUCG GCAGCAGAUUCG CUCAGGGCAGAC CUAUGAAUAACG ACGGCUCUUUCA CCAUCACAAUGA AGGCCCCCCCCU UCGAGCAGGGCA AAGACUUCGUGG UGCUGACAACCA AGGCCACGGCG UGGGCAAGACAG AUCACUCCGACG ACACCCGGACCC CUGUGACCUACA GAGAGGCAACAC CUGCUCACCG GGCCAAAGACCC CUAUCAGCGGAA				

30	25	20	15	10	5
	GCAUCCUGGCCA UCUAUAGCACCG UGGCUAGCUCUC UGGUGCUGCUG GUGAGCCUGGGA GCUAUCAGCUUU GGGAGCGGCUG AUAA				
379	AUGAAGGCCAAG CUGCUGGUGCU GCUGUGUACCUU CACUGCAACAUA UGCUAUGGUGGA GCCCACAACCAC AAUCUCUGCCAC AAGCACCCACGA GCUGUCUGCCAG CGACGCCAGAAA CUCCAUCCAGCU GCUGAAUGCCCA	Quad- CAMP2- H4V3-f- PRO-028- V7- F16_ssHA optimización de codones #1	386		

5						
10						
15						
20						
25						
30	CAUCGCCACACU GCAGAGCGUGCA GAAAUCCGUGCC UGGCAGCGAUUA CAGCGACCAGAU CCGGGACCUGCU GAAGGCCGCCUU UGAUCUGAGAGG CCUGAUCGAAAC CCUGGCCCACGG CGGCAUUCCCUU CUAUGACCCCUC CACCAUCAUGCC CAGAAUCAAGCU GGUGGCCACCAC CAUCGACACCAU CCACACAGCUAC AACCACCCUGCA GAACAAGGUGCG GCCAGCCCAUGU					

5					
10					
15					
20					
25					
30					
	GGAACUGGGCCU				
	GGAGGUGACAAA				
	GGCCGUGCUGC				
	UGACCGCCAAUC				
	CUGCCAGCACAG				
	CAAAAGAACUGG				
	ACGCCGAGGGAG				
	CUGCUCUGAAGG				
	CCAGACUGGAAA				
	AGGUGAGCCAGU				
	ACCCCGACCUGA				
	CACCUA AUGAUG				
	UGGCCACAGUGU				
	ACGUGAGAACCA				
	AUUUCAGCAAGA				
	CCAUCUGGCAGG				
	UGAGAGCCAACA				
	GAGAU CGGUACA				
	UCCUGGGCCACA				
	AGUCCGCCGCCG				

5					
10					
15					
20					
25					
30	UGUACAAGACCC UGAAUCACGCCA UCACCAAGGCCG UGGGCGUGCGG CUGAAUCCUAAG ACCACCGUGGGC AACAUCCAGGCC GCCAGAACCGAA CUGCUGGCCGCC UACCAGACCGCC UUCAACAGCCCC GAUGUGAAGAAG GCCGCUAGCUCC AAUAGACCCAGA UCCGUGGCCCCAG GCCGCCAUCGCC ACAGAUGGCAAG GGGAUCAUCGAC AAGGAUUC CAGA GACGCUGUGAUC				

5					
10					
15					
20					
25					
30	AACGACGCAAAG CUGAGAGCCGCC AUCGCCGGAGCU CUGGUGAAGGCC GGCUUUAGCAGC GCCGACGCCGUG GCACUGGCCCCC AGAAUUGCAAAG GAGAUGGCAAAG GAGGGCGUGCU GCUGAUCAAUCA CCACAAGCUGAA GGCCCUGAUCGG CGCACAGCUGGG CCUGCUGACCGA CGCAAAGAUUCA GAGAGCCGCCGC AGCCGUGGACCU GGGCAUCAAGGC CACCCUGGCUGC				

5					
10					
15					
20					
25	CACCAUCAUCCC UAACGCCCUGGG CAGCGCCGCCUU CAAGAAUGCAGU GAUCGCCAACCU GGUGGCCGCCG GAAUCGACAAGC ACCUGGCCAGAG CCACAGCCGUCG CUAUCGUGGCCA CAGCCCUGAAUC CCGCCCUGGGCC CCAUCGCCAAAU UUGAACUGAUCA AGGCAGAAAU CG CUGCCCAGGCCG CCCUGCUCAUCA GAAGAGGCGUCC AUCUGCAGAAGG CCGCCAUCGAGC				
30					

5					
10					
15					
20					
25	ACGUGAUUGGCA GAGCCUUCGACG CCGCCGUGGCCA CAGCUAUCAUUU CUUCCCCUAUCC UGUCUGCCAGAA UCGUGACACACC UGGUGAGAGCCG GAAUCGACAAGU CCAUCGCCAUCU CCCUGGCCCCCC ACAUCGUGAAGA GACUGGCUAAGG AGCCUCUGCUGG CCUUCAAUACAG CCAAGCUGAUGA AGAACAUCACAA GACAGAUCGUGG ACGUGAUCACCG CCGACAAGGCCA				
30					

5					
10					
15					
20					
25					
30	UCAAGACAGCCG				
	AGCAGCUGGAGA				
	AGGAACUGCCAG				
	CCCUGGACGACC				
	UGGUGAAGAAGG				
	CCAGCAGCCCUC				
	CCAAGCCUACCC				
	CUACCCCAACCC				
	CUACACCUACAG				
	CCGGACCUACCG				
	UGACCGUGAUCC				
	CUGUGGGCAGAG				
	AGGGCGGCGACA				
	UCACCAUCAGCG				
	GCAAGGGCUUCA				
	GCACAACAGGCU				
	UUGGCGUGUACG				
	UGGCCGUGGCC				
	CCAGCCAGCGUG				
	CCUGAGUUUUAC				

5					
10					
15					
20					
25	GGCAAUAGCGAC AAGUUCUACGGC UACGACCCCUCC AAGGACACCACC GAGAGCCCAAGC ACCAUCUGGGUG UACACACCUAGC CAGAAGGCCAUC GGCAGCAGAUUU GCCCAGGGCAGG CCUAUGAAUAAU GACGGCAGCUUC ACAAUCACAAUG AAGGCCCCCCCCC UUUGAGCAGGGC AAGGACUUCGUG GUGCUGACCACC AAGGCCCCACGGC GUGGGCAAGACA GAUCACAGCGAC				
30					

30	25	20	15	10	5
	GACACCCGGACC CCCGUGACCUAC AGAGAAGCAACA CCUGCCCCUACC GGGCCUAAGACA CCCAUCUGAUAA				
380	AUGAAGGCUAAG CUGCUGGUGCU GCUGUGCACAUU CACAGCCACCUA CGCCGUGGAGCC UACCACCACAAU CAGCGCCACCAG CACCCACGAGCU GAGCGCCAGCGA UGCCAGAAUAG CAUCCAGCUGCU GAAUGCCCACAU CGCCACCCUGCA GUCCGUGCAGAA	Quad- CAMP2- H4V3-f- PRO-028- V7- F16_ssHA optimización de codones #2	387		370

5					
10					
15					
20					
25	AAGCGUGCCUGG AAGCGAUUACAG CGAUCAGAUACAG GGACCUGCUGAA GGCCGCCUUCGA UCUGAGAGGCCU GAUCGAGACACU GGCCCACGGCG GCAUCCCUUUCU ACGACCCCAGCA CCAUCAUGCCUA GAAUCAAACUGG UGGCCACCACCA UCGACACCAUCC ACACCGCAACAA CAACCCUGCAGA AUAAGGUGCGGC CUGCCCACGUGG AACUGGGACUGG AAGUGACAAAGG				
30					

5					
10					
15					
20					
25	CCGUGCUGCUGA CCGCUAAUCCCG CCUCCACCGCCA AGGAGCUGGAUG CCGAAGGAGCUG CCCUGAAAGCCA GACUGGAGAAGG UGAGCCAGUACC CUGAUCUGACCC CUAACGACGUGG CCACCGUGUACG UGAGAACCAAUU UCAGCAAGACCA UCUGGCAGGUGA GAGCCAAUCGGG ACAGAUACAUCC UGGGCCACAAGU CUGCCGCCGUGU AUAAAACCCUGA AUCACGCCAUCA				
30					

5					
10					
15					
20					
25					
30	CCAAGGCCGUGG GCGUGAGACUGA ACCCUAAGACAA CCGUGGGCAACA UCCAGGCCGCCA GAACAGAGCUGC UGGCCGCCUACC AGACAGCCUUCA AUAGCCCCGACG UGAAGAAGGCCG CUUCCAGCAAUA GACCCCGGAGCG UGGCACAGGCUG CUAUUGCCACCG ACGGAAAGGGCA UCAUCGAUAAAG ACAGCCGGGAUG CCGUGAUCAAUG ACGCCAAGCUGA GAGCAGCAAUCG				

5					
10					
15					
20					
25					
30	CCGGCGCUCUG GUGAAGGCAGGC UUCAGCAGCGCC GACGCCGUGGCU CUGGCCCCUAGA AUCGCUAAGGAG AUGGCCAAGGAG GGCGUGCUGCU GAUCAAUACCA CAAGCUGAAGGC CCUGAUCGGCGC CCAGCUGGGACU GCUGACAGAUGC CAAGAUCCAGAG AGCCGCUGCAGC CGUGGAUCUGG GCAUCAAGGCCA CACUGGCCGCCA CCAUCAUCCCAA ACGCCCUGGGCA				

5					
10					
15					
20					
25					
30					
	GCGCCGCCUUCA				
	AAAAUGCCGUGA				
	UUGCCAACCUUG				
	UGGCCGCCGGCA				
	UCGAUAAGCACC				
	UGGCCAGAGCCA				
	CAGCCGUGGCCA				
	UCGUGGCCACAG				
	CCCUGAAUCCCG				
	CACUGGGACCUA				
	UUGCCAAGUUCG				
	AACUCAUUAAGG				
	CCGAAAUCGCAG				
	CCCAAGCCGCCC				
	UGCUGAUUCGGC				
	GGGGCGUGCAC				
	CUGCAGAAAGCC				
	GCCAUUGAGCAC				
	GUGAUCGGCAGA				
	GCCUUCGAUGCC				

5					
10					
15					
20					
25	GCUGUGGCCACC GCCAUCAUCUCC UCUCCUAUCCUG UCUGCUAGAAUC GUGACCCACCUG GUCAGAGCCGGA AUCGACAAGUCU AUCGCUAUCAGC CUGGCCCCCCAC AUCGUGAAGAGA CUGGCCAAAGAG CCCCUGCUGGCC UUCAACACAGCC AAGCUCAUGAAG AAUAUCACCAGA CAGAUCGUGGAC GUGAUCACCGCC GACAAGGCCAUC AAAACCGCUGAG CAGCUGGAGAAG				
30					

5					
10					
15					
20					
25	GAGCUGCCCGCC CUGGAUGACCUG GUGAAGAAGGCC AGCAGCCCCCCC AAGCCUACACCU ACACCUACCCCA ACCCCUACAGCC GGCCCUACAGUG ACCGUGAUUCCU GUGGGCAGAGAA GGAGGCGACAUC ACCAUCAGCGGA AAGGGCUUCUCU ACCACAGGCUUC GGCGUGUACGU GGCCGUGGCCC CUGCCUCCGUGC CCGAAUUCUACG GCAACAGCGACA AGUUCUACGGCU				
30					

5					
10					
15					
20					
25					
30					

30	25	20	15	10	5
	GAGAGGCAACAC CUGCUGCCACCG GGCCAAAGACCC CUAUCUGAUAA				
381	AUGAAGGCCAAG CUGCUGGUGCU GCUGUGUACCUU CACUGCAACAUA UGCUGUGGAGCC CACAACCACAAU CUCUGCCACAAG CACCCACGAGCU GUCUGCCAGCGA CGCCAGAAACUC CAUCCAGCUGCU GAAUGCCCACAU CGCCACACUGCA GAGCGUGCAGAA AUCCGUGCCUGG CAGCGAUUACAG	Quad- CAMP2- Nter-link- H4V3-f- PRO-028- V7- F16_ssHA optimización de codones #1	388		371

5					
10					
15					
20					
25	CGACCAGAUCCG GGACCUGCUGAA GGCCGCCUUUGA UCUGAGAGGCCU GAUCGAAACCCU GGCCCACGGCG GCAUUCCCUUCU AUGACCCCUCCA CCAUCAUGCCCA GAAUCAAGCUGG UGGCCACCACCA UCGACACCAUCC ACACAGCUACAA CCACCCUGCAGA ACAAGGUGCGGC CAGCCCAUGUGG AACUGGGCCUGG AGGUGACAAAGG CCGUGCUGCUGA CCGCCAAUCCUG				
30					

5					
10					
15					
20					
25					
30	CCAGCACAGCAA AAGAACUGGACG CCGAGGGAGCUG CUCUGAAGGCCA GACUGGAAAAGG UGAGCCAGUACC CCGACCUGACAC CUAAUGAUGUGG CCACAAGCUCCA AUAGACCCAGAU CCGUGGCCCAGG CCGCCAUCGCCA CAGAUGGCAAGG GGAUCAUCGACA AGGAUUCCAGAG ACGCUGUGAUCA ACGACGCAAAGC UGAGAGCCGCCA UCGCCGGAGCUC UGGUGAAGGCCG				

5					
10					
15					
20					
25	GCUUUAGCAGCG CCGACGCCGUGG CACUGGCCCCCA GAAUUGCAAAGG AGAUGGCAAAGG AGGGCGUGCUG CUGAUCAAUCAC CACAAGCUGAAG GCCCUGAUCGGC GCACAGCUGGGC CUGCUGACCGAC GCAAAGAUUCAG AGAGCCGCCGCA GCCGUGGACCUG GGCAUCAAGGCC ACCCUGGCUGCC ACCAUCAUCCCU AACGCCCUGGGC AGCGCCGCCUUC AAGAAUGCAGUG				
30					

5					
10					
15					
20					
25	AUCGCCAACCUG GUGGCCGCCGG AAUCGACAAGCA CCUGGCCAGAGC CACAGCCGUCGC UAUCGUGGCCAC AGCCCUGAAUCC CGCCCUGGGCCC CAUCGCCAAAUU UGAACUGAUCAA GGCAGAAAU CGC UGCCCAGGCCGC CCUGCUCAUCAG AAGAGGCGUCCA UCUGCAGAAGGC CGCCAUCGAGCA CGUGAUUGGCAG AGCCUUCGACGC CGCCGUGGCCAC AGCUAUCAUUUC				
30					

5					
10					
15					
20					
25	UCCCCUAUCCU GUCUGCCAGAAU CGUGACACACCU GGUGAGAGCCG GAAUCGACAAGU CCAUCGCCAUCU CCCUGGCCCCCC ACAUCGUGAAGA GACUGGCUAAGG AGCCUCUGCUGG CCUUCAAUACAG CCAAGCUGAUGA AGAACAUCACAA GACAGAUCGUGG ACGUGAUCACCG CCGACAAGGCCA UCAAGACAGCCG AGCAGCUGGAGA AGGAACUGCCAG CCCUGGACGACC				
30					

5					
10					
15					
20					
25	UGGUGAAGAAGG CCAGCAGCCCUC CCAAGCCUACCC CUACCCCAACCC CUACACCUACAG CCGGACCUACCG UGACCGUGAUCC CUGUGGGCAGAG AGGGCGGCGACA UCACCAUCAGCG GCAAGGGCUUCA GCACAACAGGCU UUGGCGUGUACG UGGCCGUGGCC CCAGCCAGCGUG CCUGAGUUUUAC GGCAAUAGCGAC AAGUUCUACGGC UACGACCCCUCC AAGGACACCACC				
30					

5					
10					
15					
20					
25	GAGAGCCCAAGC ACCAUCUGGGUG UACACACCUAGC CAGAAGGCCAUC GGCAGCAGAUUU GCCCAGGGCAGG CCUAUGAAUAAU GACGGCAGCUUC ACAAUCACAAUG AAGGCCCCCCCC UUUGAGCAGGGC AAGGACUUCGUG GUGCUGACCACC AAGGCCCACGGC GUGGGCAAGACA GAUCACAGCGAC GACACCCGGACC CCCGUGACCUAC AGAGAAGCAACA CCUGCCCCUACC				
30					

30	25	20	15	10	5
	GGGCCUAAGACA CCCAUCUGAUAA				
382	AUGAAGGCUAAG CUGCUGGUGCU GCUGUGCACAUU CACAGCCACCUA CGCCGUGGAGCC UACCACCACAAU CAGCGCCACCAG CACCCACGAGCU GAGCGCCAGCGA UGCCAGAAAUAG CAUCCAGCUGCU GAAUGCCCACAU CGCCACCCUGCA GUCCGUGCAGAA AAGCGUGCCUGG AAGCGAUUACAG CGAUCAGAUACAG GGACCUGCUGAA	Quad- CAMP2- Nter-link- H4V3-f- PRO-028- V7- F16_ssHA optimización de codones #2	389		371

5					
10					
15					
20					
25	GGCCGCCUUCGA UCUGAGAGGCCU GAUCGAGACACU GGCCCACGGCG GCAUCCCUUUCU ACGACCCCAGCA CCAUCAUGCCUA GAAUCAAACUGG UGGCCACCACCA UCGACACCAUCC ACACCGCAACAA CAACCCUGCAGA AUAAGGUGCGGC CUGCCCACGUGG AACUGGGACUGG AAGUGACAAAGG CCGUGCUGCUGA CCGCUAAUCCCG CCUCCACCGCCA AGGAGCUGGAUG				
30					

5					
10					
15					
20					
25	CCGAAGGAGCUG CCCUGAAAGCCA GACUGGAGAAGG UGAGCCAGUACC CUGAUCUGACCC CUAACGACGUGG CCACCUCCAGCA AUAGACCCCGGA GCGUGGCACAGG CUGCUAUUGCCA CCGACGGAAAGG GCAUCAUCGAUA AAGACAGCCGGG AUGCCGUGAUCA AUGACGCCAAGC UGAGAGCAGCAA UCGCCGGCGCUC UGGUGAAGGCAG GCUUCAGCAGCG CCGACGCCGUGG				
30					

5					
10					
15					
20					
25	CUCUGGCCCCUA GAAUCGCUAAGG AGAUGGCCAAGG AGGGCGUGCUG CUGAUCAAUCAC CACAAGCUGAAG GCCCUGAUCGGC GCCCAGCUGGGA CUGCUGACAGAU GCCAAGAUCCAG AGAGCCGCUGCA GCCGUGGAUCUG GGCAUCAAGGCC ACACUGGCCGCC ACCAUCAUCCCA AACGCCCUGGGC AGCGCCGCCUUC AAAAAUGCCGUG AUUGCCAACCUG GUGGCCGCCGG				
30					

5					
10					
15					
20					
25	CAUCGAUAAGCA CCUGGCCAGAGC CACAGCCGUGGC CAUCGUGGCCAC AGCCCUGAAUCC CGCACUGGGACC UAUUGCCAAGUU CGAACUCAUUAA GGCCGAAAUCGC AGCCCAAGCCGC CCUGCUGAUUCG GCGGGGCGUGC ACCUGCAGAAAG CCGCCAUUGAGC ACGUGAUCGGCA GAGCCUUCGAUG CCGCUGUGGCCA CCGCCAUCAUCU CCUCUCCUAUCC UGUCUGCUAGAA				
30					

5					
10					
15					
20					
25	UCGUGACCCACC UGGUCAGAGCCG GAAUCGACAAGU CUAUCGCUAUCA GCCUGGCCCCCC ACAUCGUGAAGA GACUGGCCAAAG AGCCCCUGCUGG CCUUCAACACAG CCAAGCUCAUGA AGAAUAUCACCA GACAGAUCGUGG ACGUGAUCACCG CCGACAAGGCCA UCAAAACCGCUG AGCAGCUGGAGA AGGAGCUGCCCG CCCUGGAUGACC UGGUGAAGAAGG CCAGCAGCCCCC				
30					

5					
10					
15					
20					
25	CCAAGCCUACAC CUACACCUACCC CAACCCCUACAG CCGGCCCUACAG UGACCGUGAUUC CUGUGGGCAGAG AAGGAGGCGACA UCACCAUCAGCG GAAAGGGCUUCU CUACCACAGGCU UCGGCGUGUACG UGGCCGUGGCC CCUGCCUCCGUG CCCGAAUUCUAC GGCAACAGCGAC AAGUUCUACGGC UACGACCCAGC AAAGACACCACA GAGAGCCCUUCC ACCAUCUGGGUG				
30					

5					
10					
15					
20					
25					
30	UACACCCCUUCC CAGAAGGCCAUC GGCAGCAGAUUC GCUCAGGGCAGA CCUAUGAAUAAC GACGGCUCUUUC ACCAUCACAAUG AAGGCCCCCCCC UUCGAGCAGGGC AAAGACUUCGUG GUGCUGACAACC AAGGCCCACGGC GUGGGCAAGACA GAUCACUCCGAC GACACCCGGACC CCUGUGACCUAC AGAGAGGCAACA CCUGCUCCCACC GGGCCAAAGACC CCUAUCUGAUAA				

30	25	20	15	10	5
383	AUGAAGGCUAAG CUGCUGGUGCU GCUGUGCACAUU CACAGCCACCUA CGCCUCCAGCAA UAGACCCCGGAG CGUGGCACAGGC UGCUAUUGCCAC CGACGGAAAGGG CAUCAUCGAUAA AGACAGCCGGGA UGCCGUGAUCAA UGACGCCAAGCU GAGAGCAGCAAU CGCCGGCGCUCU GGUGAAGGCAGG CUUCAGCAGCGC CGACGCCGUGGC UCUGGCCCCUAG AAUCGCUAAGGA	Quad-H4V3- f-PRO-028- V7-F16- nolink-Cter- Camp2_SS HA optimización de codones #2	390		372

5					
10					
15					
20					
25	GAUGGCCAAGGA GGGCGUGCUGC UGAUCAAUCACC ACAAGCUGAAGG CCCUGAUCGGCG CCCAGCUGGGAC UGCUGACAGAUG CCAAGAUCCAGA GAGCCGCUGCAG CCGUGGAUCUGG GCAUCAAGGCCA CACUGGCCGCCA CCAUCAUCCCAA ACGCCCUGGGCA GCGCCGCCUUCA AAAAUGCCGUGA UUGCCAACCUGG UGGCCGCCGGCA UCGAUAAGCACC UGGCCAGAGCCA				
30					

5					
10					
15					
20					
25	CAGCCGUGGCCA UCGUGGCCACAG CCCUGAAUCCCG CACUGGGACCUA UUGCCAAGUUCG AACUCAUUAAGG CCGAAAUCGCAG CCCAAGCCGCCC UGCUGAUUCGGC GGGGCGUGCAC CUGCAGAAAGCC GCCAUUGAGCAC GUGAUCGGCAGA GCCUUCGAUGCC GCUGUGGCCACC GCCAUCAUCUCC UCUCCUAUCCUG UCUGCUAGAAUC GUGACCCACCUG GUCAGAGCCGGA				
30					

5					
10					
15					
20					
25	AUCGACAAGUCU AUCGCUAUCAGC CUGGCCCCCCCAC AUCGUGAAGAGA CUGGCCAAAGAG CCCCUGCUGGCC UUCAACACAGCC AAGCUCAUGAAG AAUAUCACCAGA CAGAUCGUGGAC GUGAUCACCGCC GACAAGGCCAUC AAAACCGCUGAG CAGCUGGAGAAG GAGCUGCCCGCC CUGGAUGACCUG GUGAAGAAGGCC AGCAGCCCCCCC AAGCCUACACCU ACACCUACCCCA				
30					

5					
10					
15					
20					
25	ACCCCUACAGCC GGCCCUACAGUG ACCGUGAUUCCU GUGGGCAGAGAA GGAGGCGACAUC ACCAUCAGCGGA AAGGGCUUCUCU ACCACAGGCUUC GGCGUGUACGU GGCCGUGGCCC CUGCCUCCGUGC CCGAUUCUACG GCAACAGCGACA AGUUCUACGGCU ACGACCCCAGCA AAGACACCACAG AGAGCCCUUCCA CCAUCUGGGUGU ACACCCCUUCCC AGAAGGCCAUCG				
30					

5					
10					
15					
20					
25					
30					
	GCAGCAGAUUCG				
	CUCAGGGCAGAC				
	CUAUGAAUAACG				
	ACGGCUCUUUCA				
	CCAUCACAAUGA				
	AGGCCCCCCCCU				
	UCGAGCAGGGCA				
	AAGACUUCGUGG				
	UGCUGACAACCA				
	AGGCCACGGCG				
	UGGGCAAGACAG				
	AUCACUCCGACG				
	ACACCCGGACCC				
	CUGUGACCUACA				
	GAGAGGCAACAC				
	CUGCUGCCACCG				
	GGCCAAAGACCC				
	CUAUCGUGUACG				
	UGAGAACCAAUU				
	UCAGCAAGACCA				

30	25	20	15	10	5
	UCUGGCAGGUGA GAGCCAAUCGGG ACAGAUACAUCC UGGGCCACAAGU CUGCCGCCGUGU AUAAAACCCUGA AUCACGCCAUCA CCAAGGCCGUGG GCGUGAGACUGA ACCCUAAGACAA CCGUGGGCAACA UCCAGGCCGCCA GAACAGAGCUGC UGGCCGCCUACC AGACAGCCUUCA AUAGCCCCGACG UGAAGAAGGCCG CUUGAUAA				
394	AUGAAGGCCAAG CUGCUGGUGCU	Quad-H4V3- f-PRO-028-	393		372

30	GCUGUGUACCUU CACUGCAACAU UGCUAGCUCCAA UAGACCCAGAUC CGUGGCCCAGGC CGCCAUCGCCAC AGAUGGCAAGGG GAUCAUCGACAA GGAUUCCAGAGA CGCUGUGAUCAA CGACGCAAAGCU GAGAGCCGCCAU CGCCGGAGCUCU GGUGAAGGCCG GCUUUAGCAGCG CCGACGCCGUGG CACUGGCCCCCA GAAUUGCAAAGG AGAUGGCAAAGG AGGGCGUGCUG	25	20	15	10	5
		V7-F16- nolink-Cter- Camp2_SS HA optimización de codones #1				

5					
10					
15					
20					
25	CUGAUCAAUCAC CACAAGCUGAAG GCCCUGAUCGGC GCACAGCUGGGC CUGCUGACCGAC GCAAAGAUUCAG AGAGCCGCCGCA GCCGUGGACCUG GGCAUCAAGGCC ACCCUGGCUGCC ACCAUCAUCCCU AACGCCCUGGGC AGCGCCGCCUUC AAGAAUGCAGUG AUCGCCAACCUG GUGGCCGCCGG AAUCGACAAGCA CCUGGCCAGAGC CACAGCCGUCGC UAUCGUGGCCAC				
30					

5					
10					
15					
20					
25	AGCCCUGAAUCC CGCCCUGGGCCC CAUCGCCAAAUU UGAACUGAUCAA GGCAGAAUCCG UGCCCAGGCCGC CCUGCUCAUCAG AAGAGGCGUCCA UCUGCAGAAGGC CGCCAUCGAGCA CGUGAUUGGCAG AGCCUUCGACGC CGCCGUGGCCAC AGCUAUCAUUUC UUCCCCUAUCCU GUCUGCCAGAAU CGUGACACACCU GGUGAGAGCCG GAAUCGACAAGU CCAUCGCCAUCU				
30					

5					
10					
15					
20					
25					
30	CCCUGGCCCCCC ACAUCGUGAAGA GACUGGCUAAGG AGCCUCUGCUGG CCUUCAAUACAG CCAAGCUGAUGA AGAACAUCACAA GACAGAUCGUGG ACGUGAUCACCG CCGACAAGGCCA UCAAGACAGCCG AGCAGCUGGAGA AGGAACUGCCAG CCCUGGACGACC UGGUGAAGAAGG CCAGCAGCCCUC CCAAGCCUACCC CUACCCCAACCC CUACACCUACAG CCGGACCUACCG				

5					
10					
15					
20					
25					
30					
	UGACCGUGAUCC				
	CUGUGGGCAGAG				
	AGGGCGGCGACA				
	UCACCAUCAGCG				
	GCAAGGGCUUCA				
	GCACAACAGGCU				
	UUGGCGUGUACG				
	UGGCCGUGGCC				
	CCAGCCAGCGUG				
	CCUGAGUUUUAC				
	GGCAAUAGCGAC				
	AAGUUCUACGGC				
	UACGACCCCUCC				
	AAGGACACCACC				
	GAGAGCCCAAGC				
	ACCAUCUGGGUG				
	UACACACCUAGC				
	CAGAAGGCCAUC				
	GGCAGCAGAUUU				
	GCCCAGGGCAGG				

5					
10					
15					
20					
25					
30					
	CCUAUGAAUAAU				
	GACGGCAGCUUC				
	ACAAUCACAAUG				
	AAGGCCCCCCCC				
	UUUGAGCAGGGC				
	AAGGACUUCGUG				
	GUGCUGACCACC				
	AAGGCCCACGGC				
	GUGGGCAAGACA				
	GAUCACAGCGAC				
	GACACCCGGACC				
	CCCGUGACCUAC				
	AGAGAAGCAACA				
	CCUGCCCCUACC				
	GGGCCUAAGACA				
	CCCAUCGUGUAC				
	GUGAGAACCAAU				
	UUCAGCAAGACC				
	AUCUGGCAGGUG				
	AGAGCCAACAGA				

30					
25					
20					
15					
10					
5					
	GAUCGGUACAUC CUGGGCCACAAG UCCGCCGCCGUG UACAAGACCCUG AAUCACGCCAUC ACCAAGGCCGUG GGCGUGCGGCU GAAUCCUAAGAC CACCGUGGGCAA CAUCCAGGCCGC CAGAACCGAACU GCUGGCCGCCUA CCAGACCGCCUU CAACAGCCCCGA UGUGAAGAAGGC CGCUUGAUAA				
391	AUG AAGGCCAAG CUGCUGGUGCU GCUGUGCACCUU CACCGCCACCUA	CAMP2_WT _HA TMB			

5					
10					
15					
20					
25	CGCUGUGGAGCC CACCACCACCAU CAGCGCAACCUC CACCCACGAACU GUCCGCCUCCGA UGCUAGGAACUC AAUCCAGCUGCU GAACGCCCACAU CGCCACACUGCA GAGCGUCCAGAA AUCAGUGCCCGG CAGCGACUACUC CGACCAGAUCCG GGAUCUCCUGAA GGCUGCAUUCGA CCUGCGCGGCCU CAUCGAAACACU GGCCCACGGAGG CAUCCCCUUCUA UGACCCAUCCAC				
30					

5					
10					
15					
20					
25					
30	CAUCAUGCCCCG				
	GAUCAAGCUGGU				
	GGCCACCACAAU				
	CGACACCAUCCA				
	CACCGCCACCAC				
	CACCCUGCAGAA				
	CAAGGUGAGGCC				
	CGCACACGUGGA				
	GCUGGGGCUGG				
	AGGUGACUAAGG				
	CCGUGCUGCUGA				
	CAGCAAACCCCG				
	CCUCAACCGCGA				
	AGGAGUUGGAUG				
	CCGAGGGCGCC				
	GCACUGAAGGCC				
	CGCCUGGAGAAG				
	GUGAGCCAGUAU				
	CCCGAUCUGACC				
	CCCAACGACGUG				

5					
10					
15					
20					
25	GCCACCGUGUAU GUGAGGACCAAU UUCUCCAAGACC AUCUGGCAGGUC AGAGCCAACAGA GACAGGUUAUAUC CUGGGCCACAAG AGCGCUGCCGUG UACAAGACCCUG AACCACGCCAUC ACCAAGGCCGUG GGGGUGCGGCU GAACCCUAAGAC CACCGUGGGGAA CAUCCAGGCUGC CAGAACCGAGCU GCUGGCCGCCUA UCAGACCGCAUU CAAUUCCTCCGA UGUGAAGAAGGC				
30					

30	CGCCAGCGGCUC CAUCCUGGCCAU CUACUCCACCGU GGCUAGUAGCCU GGUGCUGCUGG UGUCCCUGGGAG CCAUCAGCUUCG GGAGCGGC UAA				
25					
20					
15					
10					
5					
392	AUG AAAGCCAAG CUGCUCGUGCUG CUGUGUACCUUC ACCGCCACCUAC GCCGUGGAACCC ACCACCACAAUC UCCGCCACCUCC ACCCACGAGCUG AGCGCCAGCGAC GCCAGAAACAGC AUUCAGCUGCUG AAUGCCCACAUC	CAMP2_WT _HA TMB			

5					
10					
15					
20					
25	GCCACCCUGCAG AGCGUGCAGAAG UCCGUGCCUGGC AGCGACUACAGC GACCAGAUCCGG GACCUGCUGAAG GCCGCCUUCGAC CUGAGAGGCCUG AUUGAGACACUG GCCACGGCGGC AUUCCUUUCUAC GAUCCUUCUACC AUCAUGCCUAGA AUCAAGCUGGUG GCCACCACCAUC GAUACCAUCCAC ACAGCCACCACC ACACUGCAGAAC AAGGUGCGGCCU GCUCACGUGGAA				
30					

5					
10					
15					
20					
25	CUGGGCCUGGAA GUGACCAAGGCC GUGCUGCUGACC GCCAAUCCUGCC UCCACCGCCAAG GAGCUGGACGCA GAAGGCGCUGCC CUGAAGGCCAGA CUGGAGAAGGUG AGCCAGUAUCCC GACCUGACCCCA AACGAUGUGGCC ACCGUGUACGUG CGGACAAACUUC AGCAAGACCAUC UGGCAGGUGAGA GCCAACCGGGAC AGAUACAUCCUG GGCCACAAGAGC GCCGCCGUGUAU				
30					

5					
10					
15					
20					
25					
30	AAGACCCUGAAC CACGCCAUCACA AAGGCCGUGGGC GUGAGACUGAAC CCCAAGACCACA GUGGGCAACAUC CAGGCCGCCAGG ACCGAACUGCUG GCCGCCUACCAG ACCGCCUUCAAU UCCCCUGACGUG AAGAAGGCCGCC UCUGGCAGCAUC CUGGCCAUCUAC AGCACCGUGGCC AGCUCUCUGGUG CUGCUGGUGUCU CUGGGCGCCAUC AGCUUCGGCAGC GGC UGA				

30

25

20

15

10

5

Tabla 8

SEQ ID NO	Secuencia de nucleótidos	Codifica la secuencia polipeptídica de acuerdo con la SEQ ID NO
179	UCAUCCAACAGGCCUCGCUCCGUGGCCCAGGCUGCUAU UGCUACCGACGGCAAGGGAAUCAUCGAUAAAGACUCCA GGGAUGCCGUGAUCAACGAUGCCAAGCUCCGGGCCGCA AUUGCCGGAGCCCUGGUGAAAGCCGGGUUCAGCUCCGC CGAUGCUGUGGCUCUGGCUCCAAGGAUUGCUAAGGAGA UGGCCAAAGAGGGGGUGCUGCUGAUUAACCACCACAAG CUGAAGGCACUGAUCGGAGCACAGCUGGGACUGCUGAC UGACGCCAAAAUCCAGCGCGCCGCUGCAGCAGUCGACC UGGGCAUCAAGGCCACACUGGCUGCUACCAUCAUUCCU AACGCUCUGGGCAGCGCAGCCUUUAAGAAUGCCGUUUAU CGCCAAUCUCGUGGCUGCUGGAAUUGAUAAAGCACCUGG CCAGAGCCACAGCUGUGGCCAUCGUGGCCACUGCCCUG AACCCAGCAUUGGGCCCUAUCGCUAAGUUUGAGCUGAU UAAGGCCGAGAU CGCCGCUCAGGCUGCCCUGCUGAUUC GCAGGGGAGUGCACCUGCAGAAGGCUGCCAUCGAGCAC GUCAUCGGCAGAGCAUUCGACGCCGCUGUCGCCACUGC UAUCAUCUCUAGCCCAAUCCUGAGCGCCAGGAUCGUCA	70

30	25	20	15	10	5
	CUCACCUGGUGAGAGCUGGGAUUGACAAAUCCAUCGCU AUCAGCCUGGCCCCUCACAUCGUGAAGAGGCUGGCUAA GGAACCACUGCUGGCUUUUAACACUGCUAAGCUGAUGA AGAAUAAUACAAGACAGAUCGUGGACGUCAUCACCGCCG ACAAAGCCAUCAAGACAGCCGAGCAGCUCGAGAAGGAGC UGCCUGCCCUGGAUGACCUGGUGAAGAAGGCAUCCUCC CCCCCUAAGCCAACCCCUACCCCAACCCCUACACCUACU UAA				
181	UCAUCCAACAGGCCUCGCUCCGUGGCCCAGGCUGCUAU UGCUACCGACGGCAAGGGAAUCAUCGAUAAAGACUCCA GGGAUGCCGUGAUCAACGAUGCCAAGCUCCGGGCCGCA AUUGCCGGAGCCCUGGUGAAAGCCGGGUUCAGCUCCGC CGAUGCUGUGGCUCUGGCUCCAAGGAUUGCUAAGGAGA UGGCCAAAGAGGGGGUGCUGCUGAUUAACCACCACAAG CUGAAGGCACUGAUCGGAGCACAGCUGGGACUGCUGAC UGACGCCAAAAUCCAGCGCGCCGCUGCAGCAGUCGACC UGGGCAUCAAGGCCACACUGGCUGCUACCAUCAUUCU AACGCUCUGGGCAGCGCAGCCUUUAAGAAUGCCGUUAU CGCCAAUCUCGUGGCUGCUGGAAUUGAUAAAGCACCUGG			72	

30	25	20	15	10	5	
	CCAGAGCCACAGCUGUGGCCAUCGUGGCCACUGCCCUG AACCCAGCAUUGGGCCCUAUCGCUAAGUUUGAGCUGAU UAAGGCCGAGAU CGCCGCUCAGGCUGCCCUGCUGAUUC GCAGGGGAGUGCACCUGCAGAAGGCUGCCAUCGAGCAC GUCAUCGGCAGAGCAUUCGACGCCGCUGUCGCCACUGC UAUCAUCUCUAGCCCAAUCCUGAGCGCCAGGAUCGUCA CUCACCUGGUGAGAGCUGGGAUUGACAAAUCCAUCGCU AUCAGCCUGGCCCCUCACAUCGUGAAGAGGCUGGCUAA GGAACCACUGCUGGCUUUUAACACUGCUAAGCUGAUGA AGCAGAUUACAAGACAGAUCGUGGACGUCAUCACCGCC GACAAAGCCAUCAAGACAGCCGAGCAGCUCGAGAAGGA GCUGCCUGCCCUGGAUGACCUGGUGAAGAAGGCAUCCU CCCCCCCUAAGCCAACCCCUACCCCAACCCCUACACCUA CUUAA					
182	GCAGGCCC UACCGUCACAGUGAUCCCUGUGGGCAGAGA AGGUGGCGACAUCACCAUCAGCGGCAAGGGCUUCAGCA CCACAGGCUUUGGCGUGUACGUGGCCGUGGCACCUGCU AGCGUGCCCGAAUUCUACGGCAAUAGCGACAAGUUCUA CGGCUACGACCCCAGCAAGGACACCACCGAGAGCCCUA GCACCAUCUGGGUGUACACCCCUAGCCAGAAGGCCAUC					73

5	
10	
15	
20	
25	
30	
	GGCUCUCGGUUCGCCCAGGGCAGACCCAUGAACAAUGA CGGCAGCUUCACAAUCACCAUGAAGGCCCCCCC UUUCG AGCAGGGCAAAGACUUCGUGGUGCUGACCACAAAGGCC CAUGGCGUGGGCAAACCGAUCACAGCGACGACACACG GACACCUGUCACCUACAGAGAGGGCUACCCCUGCCCCUA CAGGCCCUAAGACACCCAUCGCCCCUAGCAAGCAGCCUA GCAAGCAGGCCGCCCCUAGCAAGCAGGUGAAGCCUUCU AAGCAGGCCGGCCCCAACAAGCAGUCCACCACACCUCAG CAGAAGACAGCCGAGCACAGAAGCCAGACCCCUGCCGC CCACCGGACCAUGACAAAGCAGGUGAGCACCAUCGGCG CCAGCAAGGUGACAAGCGGCUCUCUGACCUGGGGCAUC AGAACCUCUUUUACCUCUACCUGAGAGGCCCUAUCGC CAACGGCUCUUGGAAGCUGAGCGGAGGCGCCAAUUGGA AUGGCUCCGCCUUCACCUUCCCUCUGACCAGCGGCAGC UUCGACCCAGCCACCAAGUCCGGAAGCCUGAAGUACAG CGGCAGCGUGCACAUGACAGGCCACCACGGCAUCCUGG ACAUGACCCUGGCCGAGCCAAGCCUGCAGAUCAAGGGA AGCACCGGCCACCUGUAUCUGGACGUGAAAAGCAGCAG CAUGGACGGCAAGAAGACCAAUUACGGCAGAGUGGACU UCGCCACCUUCGGAGUGAGCGUGUCUGGCAACGCCGCC

	AUCAAGGGCAGCCCUGUGAAGCUGACCGCCACAGGCGC UAAGGCUUUUGCCGGCUUCUACAGAGCCGGCGAGCCUA UGAACCCUCUGAGCACCAAUCUGACCCUGAGCGCCGAG AAGGUGUCCCACAACGUGACCGUGGACGCAGUGACAGG CAAGGUGAUCGGCGACGACUCUGGCAAGGGAGCCGGCC GGGGCCUGCCCGUGACAUAA	
189	UCCUCUAAUAGACCAAGAUCGUGGCUCAGGCCGCCAU CGCUACAGAUGGGAAAGGAAUCAUCGAUAAGGAUAGUC GGGAUGCAGUGAUCAACGACGCCAAACUCCGAGCUGCC AUCGCCGGCGCCCCUGGUGAAGGCUGGGUUUUCCAGCG CCGACGCAGUGGCCCUUGGCACCUAGAAUCGCCAAGGAG AUGGCAAAGGAGGGCGUCCUGCUGAUUAAUCACCACAA GCUGAAAGCUCUGAUUGGGGCUCAGCUCGGACUGCUGA CUGACGCCAAGAUCCAGAGGGCCGCAGCUGCCGUGGAU CUGGGGAUCAAGGCCACUCUGGCCGCUACUUAUUAUCC UACGCUCUGGGGUCUGCCGCCUUCAAGAAUGCUGUCA UUGCCAACCUUGGUGGCUGCUGGCAUCGACAAACACCUC GCCAGGGCUACCGCUGUGGCCAU CGUUGCCACAGCCCU GAAUCCUGCCCUGGGCCCAAUCGCUAAAUUUGAGCUGA UUAAGGCUGAGAU CGCCGCCAGGCCGCACUGCUGAUC	80

5		
10		
15		
20		
25		
30		
	AGAAGGGGGGUCCAUCUGCAGAAGGCCGCUAUUGAACA UGUGAUCGGCCGCGCAUUCGACGCUGCCGUGGCCACCG CUAUCAUUUCUCUCCAAUCCUGAGCGCACGGAUUGUG ACCCACCUGGUGAGGGCUGGAAUUGAUAAAAGCAUCGC UAUCUCCCUGGCUCCUCAUAUCGUGAAGCGCCUGGCCA AGGAGCCCCUGCUGGCUUUCAACACCGCCAAGCUGAUG AAGAAUAUUACAAGACAGAUCGUUGACGUGAUCACAGCC GAUAAAGCCAUCAAAACAGCUGAGCAGCUGGAAAAGGAG CUCCCCGCCCUGGACGACCUGGUCAAAAAAGCUAGCUC CCCUCCUAAGCCUACCCCCACACCUACUCCAACCCCCAC CGCCGGGCCCACCGUGACAGUGAUCCCCGUGGGAAGGG AGGGGGGCGACAUUACCAUUAGCGGAAAAGGGUUCUCC ACAACCGGGUUCGGCGUCUACGUGGCCGUGGCUCCUGC CUCUGUGCCAGAGUUCUAUGGCAAUAGCGACAAGUUCU AUGGGUACGAUCCAUCUAAGGACACCACCGAAAGUCCCA GCACCAUCUGGGUGUAUACACCAUCCCAGAAAGCAAUCG GCAGCAGAUUCGCCCAAGGCAGGCCCAUGAAUAAUGAU GGCUCUUUCACCAUUACAAUGAAGGCCCCUCCUUUCGA GCAGGGAAAGGAUUUCGUGGUGCUGACCACCAAAGCAC AUGGCGUUGGAAAGACCGACCACAGCGACGAUACUCGG	

30	25	20	15	10	5
	ACCCCUGUGACUUACAGAGAGGCCACCCUGCUCCAAC CGGCCCUAAAACUCCCAUCUGAUAA				
191	UCCAGCAACCGGCCUAGAAGCGUGGCCAGGCCGCCAU CGCCACCGACGGCAAGGGCAUCAUCGACAAGGAUUCCC GGGACGCCGUGAUCAAUGACGCCAAGCUGAGAGCCGCC AUCGCCGGCGCCCUUGGUGAAGGCCGGCUUCAGCAGCGC CGACGCCGUGGCCCUUGGCCCCCAGAAUCGCCAAGGAGA UGGCCAAGGAAGGCGUGCUGCUGAUCAAUCACCACAAG CUGAAGGCCCUGAUCGGCGCCCAGCUGGGGCCUGCUGAC AGAUGCCAAGAUCCAGAGAGCCGCUGCCGCCGUGGACC UGGGCAUCAAGGCCACCCUGGCCGCCACCAUCAUCCCU AACGCCCUGGGCAGCGCUGCCUUCAAGAAUGCCGUGAU CGCCAACCUGGUGGCCGCCGGCAUCGACAAGCACCUGG CCAGAGCCACAGCCGUGGCCAUCGUGGCCACCGCCCUG AAUCCUGCCCUGGGCCCCAUCGCCAAGUUCGAGCUGAU CAAGGCCGAGAUCGCCGCCAGGCCGCCUGCUGAUCC GGCGGGGCGUGCACCUGCAGAAGGCCGCCAUCGAACAC GUGAUCGGCAGAGCCUUCGAUGCCGCCGUGGCCACCGC CAUCAUCAGCUCCCCCAUCCUGAGCGCCAGAAUCGUGA CCCACCUGGUGCGGGCCGGCAUCGACAAGUCCAUCGCC				
	82				

30	25	20	15	10	5
	AUUAGCCUGGCCCCUCACAUCGUGAAGCGCCUGGCCAA GGAGCCCCUGCUGGCCUUCAAUACCGCCAAGCUGAUGA AGAAUAUCACCAGACAGAUCGUGGAUGUGAUCACCGCC GAUAAGGCCAUCAAGACCGCCGAGCAGCUGGAGAAAGA GCUGCCCGCCUGGACGACCUGGUGAAAAAGGCCAUGG GCCCCCUAAGCCUACAGGCGGCGGCGGAGGCGCUGGA CCUACCGUGACCGUGAUCCCCGUGGGCAGAGAGGGCGG CGAUAUACCAUCAGCGGCAAGGGCUUCAGCACCACCG GCUUCGGCGUGUACGUGGCCGUGGCCCCUGCCAGCGU GCCCGAGUUCUACGGCAAUAGCGACAAGUUCUACGGCU ACGACCCCAGCAAGGACACCACAGAAUCUCCCAGCACCA UCUGGGUGUACACCCCCAGCCAGAAGGCCAUUGGCAGC CGGUUCGCCCAGGGCCGGCCUAUGAACAUAUGAUGGCAG CUUCACAAUCACCAUGAAGGCCCCACCCUUCGAGCAGG GCAAGGACUUCGUGGUGCUGACCACCAAGGCCCACGGA GUGGGCAAGGGCGACCACGGCGACGACACACGGACCCC CGUGGGCUACAGAUGA				
192	AGCAGCAACCGCCCCAAGGUCUGUCGCACAGGCUGCUAU CGCCACAGAUGGCAAGGGAAUCAUUGAUUAAGGACAGCA GGAUGCUGUGAUCAACGACGCAAAACUGAGAGCCGCC			83	

5		
10		
15		
20		
25		
30	AUCGCCGGCGCACUGGUGAAAGCCGGCUUUUCUUCCGC CGACGCAGUGGCUCUGGCUCCCAGAAUCGCUAAGGAAA UGGCCAAGGAGGGAGUGCUGCUGAUCAAUCACCACAAA CUGAAGGCUCUGAUCGGGGCUCAGCUGGGCCUGCUGAC UGACGCUAAGAUUCAGAGAGCAGCAGCAGCUGUCGACC UGGGAAUCAAGGCAACCCUGGCAGCCACUAUCAUUCCAA AUGCUCUGGGCUCUGCCGCCUUAACAAACGCCGUGAUU GCCAAUCUCGUGGCAGCUGGAAUCGAUAAGCACCUGGC ACGGGCCACCGCCGUGGCUAUCGUGGGCCACCGCUCUGA AUCCCGCCCUGGGCCCUAUUGCCAAGUUUGAACUGAUC AAAGCCGAGAU CGCUGCACAGGCCGCCUGCUCAUCCG CAGGGGGGUCCACCUGCAGAAAGCAGCCAUCGAGCACG UGAUCGGCAGGGCCUUUGAUGCAGCCGUCGCCACUGCC AUCAUCAGCUCUCCAAUCCUGUCUGCCCGGAUUGUGAC UCACCUGGUGCGCGCCGGCAUCGAUAAGUCCAUCGCAA UCUCUCUGGCCCCACACAUCGUGAAGAGACUGGCCAAA GAACCACUCCUGGCUUUAUAUACCGCCAAACUCAUGAAA AACAUCAACCCGGCAGAU CGUCGAUGUGAUUACCGCCGA CAAGGCUAUCAAGACCGCCGAGCAGCUCGAAAAGGAGC UGCCUGCCCUGGACGACCUGGUGAAGAAAGCCUCCUCU	

	CCACCCAAACCCACCCCAACUCCAACUCCAACCCCUACA GCUGGCCCCACCGUGACCGUCAUCCCAGUGGGAAGGGA AGGAGGAGACAUCACAAUCUCUGGAAAGGGGUUUAGCA CAACCGGAUUUGGAGUGUACGUCGCCGUGGCCCCCGCA UCCGUGCCAGAAUUCUACGGCAAUUCGUAUAAUUCUAC GGGUACGACCCCUCCAAGGACACUACAGAGAGCCCCUC UACAAUUUGGGUGUACACCCCAAGCCAGAAGGCCAUCG GAAGCAGAUUUGCUCAGGGCCGGCCAAUGAACACGAC GGAUCCUUCACAAUCACAAUGAAAGCACCUCUUUGAG CAGGGCAAGGAUUUUGUGGUGCUGACCACCAAGGCUCA CGGGGUCGGAAAGACCGAUCACAGCGACGAUACAAGAA CCCCCGUGACAUACCGGUGAUAA	
311		42
312		86
384	GUGGAGCCCACAACCACAAUCUCUGCCACAAGCACCCAC GAGCUGUCUGCCAGCGACGCCAGAAACUCCAUCCAGCU GCUGAAUGCCCACAUCGCCACACUGCAGAGCGUGCAGA AAUCCGUGCCUGGCAGCGAUUACAGCGACCAGAUCCGG GACCUGCUGAAGGCCGCCUUUGAUCUGAGAGGCCUGAU CGAAACCCUGGCCCACGGCGGCAUUCCCUUCUAUGACC	373

30

25

20

15

10

5

5		
10		
15		
20		
25		
30		
	CCUCCACCAUCAUGCCCAGAAUCAAGCUGGUGGCCACC ACCAUCGACACCAUCCACACAGCUACAACCACCCUGCAG AACAAAGGUGCGGCCAGCCCAUGUGGAACUGGGCCUGGA GGUGACAAAGGCCGUGCUGCUGACCGCCAAUCCUGCCA GCACAGCAAAGAACUGGACGCCGAGGGAGCUGCUCUG AAGGCCAGACUGGAAAAGGUGAGCCAGUACCCCGACCU GACACCUAAUGAUGUGGCCACAGUGUACGUGAGAACCA AUUUCAGCAAGACCAUCUGGCAGGUGAGAGCCAACAGA GAUCGGUACAUCCUGGGCCACAAGUCCGCCGCCGUGUA CAAGACCCUGAAUCACGCCAUCACCAAGGCCGUGGGCG UGC GGCUGAAUCCUAAGACCACCGUGGGCAACAUC CAG GCCGCCAGAACCGAACUGCUGGCCGCCUACCAGACCGC CUUCAACAGCCCCGAUGUGAAGAAGGCCGCUAGCUCCA AUAGACCCAGAUC CGUGGCC CAGGCCGCCAUCGCCACA GAUGGCAAGGGGAUCAUCGACAAGGAU UCCAGAGACGC UGUGAUCAACGACGCAAAGCUGAGAGCCGCCAUCGCCG GAGCUCUGGUGAAGGCCGGCUUUAGCAGCGCCGACGCC GUGGCACUGGCCCCCAGAAUUGCAAAGGAGAUGGCAAA GGAGGGCGUGCUGCUGAUCAAUCACCACAAGCUGAAGG CCCUGAUCGGCGCACAGCUGGGCCUGCUGACCGACGCA	

5		
10		
15		
20		
25		
30		
	AAGAUUCAGAGAGCCGCCGCAGCCGUGGACCUGGGCAU CAAGGCCACCCUGGCUGGCCACCAUCAUCCCUAACGCCC UGGGCAGCGCCGCCUUCAAGAAUGCAGUGAUCGCCAAC CUGGUGGCCGCCGGAUUCGACAAGCACCUGGCCAGAGC CACAGCCGUCGCUAUCGUGGCCACAGCCCUGAAUCCCG CCCUGGGCCCCAUCGCCAAAUUUGAACUGAUCAAGGCA GAAAU CGCUGCCCAGGCCGCCUGCUCAUCAGAAGAGG CGUCCAUCUGCAGAAGGCCGCCAUCGAGCACGUGAUUG GCAGAGCCUUCGACGCCGCCGUGGCCACAGCUAUCAUU UCUUCCCCUAUCCUGUCUGCCAGAAUCGUGACACACCU GGUGAGAGCCGGAUUCGACAAGUCCAUCGCCAUCUCCC UGGCCCCCCCACAUCGUGAAGAGACUGGCUAAGGAGCCU CUGCUGGCCUUCAAUACAGCCAAGCUGAUGAAGAACAUC ACAAGACAGAU CGUGGACGUGAUCACCGCCGACAAGGC CAUCAAGACAGCCGAGCAGCUGGAGAAGGAACUGCCAG CCCUGGACGACCUGGUGAAGAAGGCCAGCAGCCCUCCC AAGCCUACCCCUACCCCAACCCCUACACCUACAGCCGGA CCUACCGUGACCGUGAUCCCUUGUGGGCAGAGAGGGCGG CGACAUCACCAUCAGCGGCAAGGGCUUCAGCACAACAG GCUUUGGCGUGUACGUGGCCCGUGGCCCCAGCCAGCGU	

30	25	20	15	10	5
	GCCUGAGUUUUACGGCAAUAGCGACAAGUUCUACGGCU ACGACCCCUCCAAGGACACCACCGAGAGCCCAAGCACCA UCUGGGUGUACACACCUAGCCAGAAGGCCAUCGGCAGC AGAUUUGCCCAGGGCAGGCCUAUGAAUAAUGACGGCAG CUUCACAAUCACAAUGAAGGCCCCCCCCCUUUGAGCAGG GCAAGGACUUCGUGGUGCUGACCACCAAGGCCACGGC GUGGGCAAGACAGAUCACAGCGACGACACCCGGACCCC CGUGACCUACAGAGAAGCAACACCUGCCCCUACCGGGC CUAAGACACCCAUC				
385	GUGGAGCCUACCACCACAAUCAGCGCCACCAGCACCCAC GAGCUGAGCGCCAGCGAUGCCAGAAAUAGCAUCCAGCU GCUGAAUGCCCACAUCGCCACCCUGCAGUCCGUGCAGA AAAGCGUGCCUGGAAGCGAUUACAGCGAUCAGAUCAAGG GACCUGCUGAAGGCCGCCUUCGAUCUGAGAGGCCUGAU CGAGACACUGGCCCACGGCGGCAUCCCUUUCUACGACC CCAGCACCAUCAUGCCUAGAAUCAAAACUGGUGGCCACCA CCAUCGACACCAUCCACACCGCAACAACAACCCUGCAGA AUAAGGUGCGGCCUGCCCACGUGGAACUGGGACUGGAA GUGACAAAGGCCGUGCUGCUGACCGCUAAUCCCGCCUC CACCGCCAAGGAGCUGGAUGCCGAAGGAGCUGCCCUGA			373	

5	
10	
15	
20	
25	
30	AAGCCAGACUGGAGAAGGUGAGCCAGUACCCUGAUCUG ACCCCUAACGACGUGGCCACCGUGUACGUGAGAACCAA UUUCAGCAAGACCAUCUGGCAGGUGAGAGCCAAUCGGG ACAGAUACAUCCUGGGCCACAAGUCUGCCGCCGUGUAU AAAACCCUGAAUCACGCCAUCACCAAGGCCGUGGGCGU GAGACUGAACCCUAAGACAACCGUGGGCAACAUCCAGG CCGCCAGAACAGAGCUGCUGGCCGCCUACCAGACAGCC UUCAAUAGCCCCGACGUGAAGAAGGCCGCUUCCAGCAA UAGACCCCGGAGCGUGGCACAGGCUGCUAUUGCCACCG ACGGAAAGGGCAUCAUCGAUAAAGACAGCCGGGAUGCC GUGAUCAAUGACGCCAAGCUGAGAGCAGCAAUCGCCGG CGCUCUGGUGAAGGCAGGCUUCAGCAGCGCCGACGCCG UGGCUCUGGCCCCUAGAAUCGCUAAGGAGAUGGCCAAG GAGGGCGUGCUGCUGAUCAAUCACCACAAGCUGAAGGC CCUGAUCGGCGCCCAGCUGGGACUGCUGACAGAUGCCA AGAUCCAGAGAGCCGCUGCAGCCGUGGAUCUGGGCAUC AAGGCCACACUGGCCGCCACCAUCAUCCCAAACGCCCCU GGGCAGCGCCGCCUUCAAAAAUGCCGUGAUUGCCAACC UGGUGGCCGCCGGCAUCGAUAAGCACCUGGCCAGAGCC ACAGCCGUGGCCAUCGUGGCCACAGCCCUGAAUCCCGC

5		
10		
15		
20		
25		
30		
	ACUGGGACCUAUUGCCAAGUUCGAACUCAUUAAGGCCG AAAUCGCAGCCCAAGCCGCCUGCUGAUUCGGCGGGGC GUGCACCUGCAGAAAGCCGCCAUUGAGCACGUGAUCGG CAGAGCCUUCGAUGCCGCUGUGGCCACCGCCAUCAUCU CCUCUCCUAUCCUGUCUGCUAGAAUCGUGACCCACCUG GUCAGAGCCGGAUUCGACAAGUCUAUCGCUAUCAGCCU GGCCCCCACAUCGUGAAGAGACUGGCCAAAGAGCCCC UGCUGGCCUUAACACAGCCAAGCUCAUGAAGAAUAUCA CCAGACAGAUUCGUGGACGUGAUCACCGCCGACAAGGCC AUCAAAACCGCUGAGCAGCUGGAGAAGGAGCUGCCCGC CCUGGAUGACCUGGUGAAGAAGGCCAGCAGCCCCCCA AGCCUACACCUACACCUACCCCAACCCCUACAGCCGGCC CUACAGUGACCGUGAUUCCUGUGGGCAGAGAAGGAGGC GACAUCACCAUCAGCGGAAAGGGCUUCUCUACCACAGG CUUCGGCGUGUACGUGGCCGUGGCCCCUGCCUCCGUG CCCGAAUUCUACGGCAACAGCGACAAGUUCUACGGCUA CGACCCAGCAAAGACACCACAGAGAGCCCUUCCACCAU CUGGGUGUACACCCCUUCCCAGAAGGCCAUCGGCAGCA GAUUCGCUCAGGGCAGACCUAUGAAUAACGACGGCUCU UUCACCAUCACAAUGAAGGCCCCCCCCCUUCGAGCAGGG	

30	25	20	15	10	5
	CAAAGACUUCGUGGUGCUGACAACCAAGGCCACGGCG UGGGCAAGACAGAUACUCCGACGACACCCGGACCCCU GUGACCUACAGAGAGGCAACACCUGCUCCCACCGGGCC AAAGACCCCUAUC				
386	AUGGUGGAGCCCACAACCACAAUCUCUGCCACAAGCACC CACGAGCUGUCUGCCAGCGACGCCAGAAACUCCAUCCA GCUGCUGAAUGCCCACAUCGCCACACUGCAGAGCGUGC AGAAAUCCGUGCCUGGCAGCGAUUACAGCGACCAGAUC CGGGACCUGCUGAAGGCCGCCUUUGAUCUGAGAGGCCU GAUCGAAACCCUGGCCCACGGCGGCAUUCCCUUCUAUG ACCCCUCCACCAUCAUGCCCAGAAUCAAGCUGGUGGCC ACCACCAUCGACACCAUCCACACAGCUACAACCACCCUG CAGAACAAGGUGCGGCCAGCCCAUGUGGAACUGGGCCU GGAGGUGACAAAGGCCGUGCUGCUGACCGCCAAUCCUG CCAGCACAGCAAAAGAACUGGACGCCGAGGGAGCUGCU CUGAAGGCCAGACUGGAAAAGGUGAGCCAGUACCCCGA CCUGACACCUAAUGAUGUGGCCACAGUGUACGUGAGAA CCAAUUUCAGCAAGACCAUCUGGCAGGUGAGAGCCAACA GAGAUCCGUACAUCUCCUGGGCCACAAGUCCGCCGCCGUG UACAAGACCCUGAAUCACGCCAUCACCAAGGCCGUGGG				374

5	
10	
15	
20	
25	
30	CGUGCGGCUGAAUCCUAAGACCACCGUGGGCAACAUCC AGGCCGCCAGAACCGAACUGCUGGCCGCCUACCAGACC GCCUUCAACAGCCCCGAUGUGAAGAAGGCCGCUAGCUC CAAUAGACCCAGAUCGUGGGCCCAGGCCGCCAUCGCCA CAGAUGGCAAGGGGAUCAUCGACAAGGAUUCCAGAGAC GCUGUGAUCAACGACGCAAAGCUGAGAGCCGCCAUCGC CGGAGCUCUGGUGAAGGCCGGCUUUAGCAGCGCCGACG CCGUGGCACUGGCCCCCAGAAUUGCAAAGGAGAUGGCA AAGGAGGGCGUGCUGCUGAUCAAUCACCACAAGCUGAA GGCCCUGAUCGGCGCACAGCUGGGCCUGCUGACCGACG CAAAGAUUCAGAGAGCCGCCGCAGCCGUGGACCUGGGC AUCAAGGCCACCCUGGCUGCCACCAUCAUCCCUAACGC CCUGGGCAGCGCCGCCUUCAAGAAUGCAGUGAUCGCCA ACCUGGUGGCCGCCGGAUUCGACAAGCACCUGGCCAGA GCCACAGCCGUCGCUAUCGUGGCCACAGCCCUGAAUCC CGCCCUGGGCCCCAUCGCCAAAUUGAACUGAUCAAGG CAGAAAUCGCUGCCCAGGCCGCCUGCUCAUCAGAAGA GGCGUCCAUCUGCAGAAGGCCGCCAUCGAGCACGUGAU UGGCAGAGCCUUCGACGCCGCCGUGGCCACAGCUAUC UUUCUUCCCCUAUCCUGUCUGCCAGAAUCGUGACACAC

30		
25		
20		
15		
10		
5		
	CUGGUGAGAGCCGGAUUCGACAAGUCCAUCGCCAUCUC CCUGGCCCCCACAUCGUGAAGAGACUGGCUAAGGAGC CUCUGCUGGCCUUCAAUACAGCCAAGCUGAUGAAGAACA UCACAAGACAGAUUCGUGGACGUGAUCACCGCCGACAAG GCCAUCAAGACAGCCGAGCAGCUGGAGAAGGAACUGCC AGCCCUGGACGACCUGGUGAAGAAGGCCAGCAGCCCUC CCAAGCCUACCCCUACCCCAACCCCUACACCUACAGCCG GACCUACCGUGACCGUGAUCCCUGUGGGCAGAGAGGGC GGCGACAUCACCAUCAGCGGCAAGGGCUUCAGCACAAC AGGCUUUGGCGUGUACGUGGCCGUGGCCCCAGCCAGC GUGCCUGAGUUUUACGGCAAUAGCGACAAGUUCUACGG CUACGACCCCUCCAAGGACACCACCGAGAGCCCAAGCAC CAUCUGGGUGUACACACCUAGCCAGAAGGCCAUCGGCA GCAGAUUUGCCCAGGGCAGGCCUAUGAAUAAUGACGGC AGCUUCACAAUCACAAUGAAGGCCCCCCCCCUUUGAGCAG GGCAAGGACUUCGUGGUGCUGACCACCAAGGCCACGG CGUGGGCAAGACAGAUACAGCGACGACACCCGGACCC CCGUGACCUACAGAGAAGCAACACCUGCCCCUACCGGG CCUAAGACACCCAUC	

30

25

20

15

10

5

387	GUGGAGCCUACCACCACAAUCAGCGCCACCAGCACCCAC GAGCUGAGCGCCAGCGAUGCCAGAAAUAGCAUCCAGCU GCUGAAUGCCCACAUCGCCACCCUGCAGUCCGUGCAGA AAAGCGUGCCUGGAAGCGAUUACAGCGAUCAGAU CAGG GACCUGCUGAAGGCCGCCUUCGAUCUGAGAGGCCUGAU CGAGACACUGGCCCACGGCGGCAUCCCUUUCUACGACC CCAGCACCAUCAUGCCUAGAAUCA AACUGGUGGCCACCA CCAUCGACACCAUCCACACCGCAACAACAACCCUGCAGA AUAAGGUGCGGCCUGCCCACGUGGAACUGGGACUGGAA GUGACAAAGGCCGUGCUGCUGACCGCUAAUCCCGCCUC CACCGCCAAGGAGCUGGAUGCCGAAGGAGCUGCCCUGA AAGCCAGACUGGAGAAGGUGAGCCAGUACCCUGAUCUG ACCCCUAACGACGUGGCCACCGUGUACGUGAGAACCAA UUUCAGCAAGACCAUCUGGCAGGUGAGAGCCAAUCGGG ACAGAUACAUCCUGGGCCACAAGUCUGCCGCCGUGUAU AAAACCCUGAAUCACGCCAUCACCAAGGCCGUGGGCGU GAGACUGAACCCUAAGACAACCGUGGGCAACAUCCAGG CCGCCAGAACAGAGCUGCUGGCCGCCUACCAGACAGCC UUCAAUAGCCCCGACGUGAAGAAGGCCGCUUCCAGCAA UAGACCCCGGAGCGUGGCACAGGCUGCUAUUGCCACCG	374
-----	---	-----

30	ACGGAAAGGGCAUCAUCGAUAAAGACAGCCGGGAUGCC GUGAUCAAUGACGCCAAGCUGAGAGCAGCAAUCGCCGG CGCUCUGGUGAAGGCAGGCUUCAGCAGCGCCGACGCCG UGGCUCUGGCCCCUAGAAUCGCUAAGGAGAUGGCCAAG GAGGGCGUGCUGCUGAUCAAUCACCACAAGCUGAAGGC CCUGAUCGGCGCCAGCUGGGACUGCUGACAGAUGCCA AGAUCCAGAGAGCCGCGUCGAGCCGUGGAUCUGGGCAUC AAGGCCACACUGGCCGCCACCAUCAUCCCAAACGCCCU GGGCAGCGCCGCCUUCAAAAUGCCGUGAUUGCCAACC UGGUGGCCGCCGGCAUCGAUAAGCACCUGGCCAGAGCC ACAGCCGUGGCCAUUCGUGGCCACAGCCCUGAAUCCCGC ACUGGGACCUAUUGCCAAGUUCGAACUCAUUAAGGCCG AAAU CGCAGCCCAAGCCGCCUGCUGAUUCGGCGGGGC GUGCACCUGCAGAAAGCCGCCAUUGAGCACGUGAUCGG CAGAGCCUUCGAUGCCGCGUGUGGCCACCGCCAUCAUCU CCUCUCCUAUCCUGUCUGCUAGAAUCGUGACCCACCUG GUCAGAGCCGGAUUCGACAAGUCUAUCGCUAUCAGCCU GGCCCCCACAUCGUGAAGAGACUGGCCAAAGAGCCCC UGCUGGCCUUCAACACAGCCAAGCUC AUGAAGAAUAUCA CCAGACAGAU CGUGGACGUGAUCACCGCCGACAAGGCC	10
25		5
20		
15		

30	25	20	15	10	5
	AUCAAAACCGCUGAGCAGCUGGAGAAGGAGCUGCCCGC CCUGGAUGACCUGGUGAAGAAGGCCAGCAGCCCCCCA AGCCUACACCUACACCUACCCCAACCCCUACAGCCGGCC CUACAGUGACCGUGAUUCCUGUGGGCAGAGAAGGAGGC GACAUCACCAUCAGCGGAAAGGGCUUCUCUACCACAGG CUUCGGCGUGUACGUGGGCCGUGGCCCCUGCCUCCGUG CCCGAAUUCUACGGCAACAGCGACAAGUUCUACGGCUA CGACCCCAGCAAAGACACCACAGAGAGCCCUUCCACCAU CUGGGUGUACACCCCUUCCCAGAAGGCCAUCGGCAGCA GAUUCGCUCAGGGCAGACCUAUGAAUAACGACGGCUCU UUCACCAUCACAAUGAAGGCCCCCCCCCUCGAGCAGGG CAAAGACUUCGUGGUGCUGACAACCAAGGCCACGGCG UGGGCAAGACAGAUACUCCGACGACACCCGGACCCCU GUGACCUACAGAGAGGCAACACCUGCUCCCACCGGGCC AAAGACCCCUAUC				
388	GUGGAGCCCACAACCACAAUCUCUGCCACAAGCACCCAC GAGCUGUCUGCCAGCGACGCCAGAAACUCCAUCCAGCU GCUGAAUGCCCACAUCGCCACACUGCAGAGCGUGCAGA AAUCCGUGCCUGGCAGCGAUUACAGCGACCAGAUCCGG GACCUGCUGAAGGCCGCCUUUGAUCUGAGAGGCCUGAU				375

5	
10	
15	
20	
25	
30	CGAAACCCUGGCCACGGCGGCAUUCCCUUCUAUGACC CCUCCACCAUCAUGCCCAGAAUCAAGCUGGUGGCCACC ACCAUCGACACCAUCCACACAGCUACAACCACCCUGCAG AACAAAGGUGCGGCCAGCCCAUGUGGAACUGGGCCUGGA GGUGACAAAGGCCGUGCUGCUGACCGCCAAUCCUGCCA GCACAGCAAAAGAACUGGACGCCGAGGGAGCUGCUCUG AAGGCCAGACUGGAAAAGGUGAGCCAGUACCCCGACCU GACACCUA AUGAUGUGGCCACAAGCUCCA AUAGACCCAG AUCCGUGGCCCAGGCCGCCAUCGCCACAGAUGGCAAGG GGAUCAUCGACAAGGAU UCCAGAGACGCUGUGAUCAAC GACGCAAAGCUGAGAGCCGCCAUCGCCGGAGCUCUGGU GAAGGCCGGCUUUAGCAGCGCCGACGCCGUGGCACUGG CCCCCAGAAUUGCAAAGGAGAUGGCAAAGGAGGGCGUG CUGCUGAUCAAUCACCACAAGCUGAAGGCCCU GAUCGG CGCACAGCUGGGCCUGCUGACCGACGCAAAGAUUCAGA GAGCCGCCGCAGCCGUGGACCUGGGCAUCAAGGCCACC CUGGCUGCCACCAUCAUCCCUAACGCCCU GGGCAGCGC CGCCUUCAAGAAUGCAGUGAUCGCCAACCUGGUGGCCG CCGGA AUCGACAAGCACCUGGCCAGAGCCACAGCCGUC GCUAUCGUGGCCACAGCCCUGAAUCCCGCCCUGGGCCC

5	
10	
15	
20	
25	
30	CAUCGCCAAAUUUGAACUGAUCAAGGCAGAAAUCGCUGC CCAGGCCGCCUGCUCAUCAGAAGAGGCGUCCAUCUGC AGAAGGCCGCCAUCGAGCACGUGAUUGGCAGAGCCUUC GACGCCGCCGUGGCCACAGCUAUCAUUUCUUCUUUUUAU CCUGUCUGCCAGAAUCGUGACACACCUGGUGAGAGCCG GAAUCGACAAGUCCAUCGCCAUCUCCCUGGCCCCCCCAC AUCGUGAAGAGACUGGCUAAGGAGCCUCUGCUGGCCUU CAAUACAGCCAAGCUGAUGAAGAACAUCACAAGACAGAU CGUGGACGUGAUCACCGCCGACAAGGCCAUCAGACAG CCGAGCAGCUGGAGAAGGAACUGCCAGCCCUGGACGAC CUGGUGAAGAAGGCCAGCAGCCCUCCCAAGCCUACCCC UACCCCAACCCCUACACCUACAGCCGGACCUACCGUGAC CGUGAUCCCUGUGGGCAGAGAGGGCGGCGACAUCACCA UCAGCGGCAAGGGCUUCAGCACAAACAGGCUUUGGCGUG UACGUGGCCGUGGCCCCAGCCAGCGUGCCUGAGUUUUA CGGCAAUAGCGACAAGUUCUACGGCUACGACCCCUCCA AGGACACCACCGAGAGCCCAAGCACCAUCUGGGUGUAC ACACCUAGCCAGAAGGCCAUCGGCAGCAGAUUUGCCCA GGGCAGGCCUAUGAAUAAUGACGGCAGCUUCACAAUCA CAAUGAAGGCCCCCCCCCCUUUGAGCAGGGCAAGGACUUC

30	25	20	15	10	5
	GUGGUGCUGACCACCAAGGCCACGGCGUGGGCAAGAC AGAUCACAGCGACGACACCCGGACCCCGUGACCUACA GAGAAGCAACACCUGCCCCUACCGGGCCUAAGACACCCA UC				
389	GUGGAGCCUACCACCACAAUCAGCGCCACCAGCACCCAC GAGCUGAGCGCCAGCGAUGCCAGAAAUAGCAUCCAGCU GCUGAAUGCCCACAUCGCCACCCUGCAGUCCGUGCAGA AAAGCGUGCCUGGAAGCGAUUACAGCGAUCAGAUCAAG GACCUGCUGAAGGCCGCCUUCGAUCUGAGAGGCCUGAU CGAGACACUGGCCACGGCGGCAUCCCUUUCUACGACC CCAGCACCAUCAUGCCUAGAAUCAAAACUGGUGGCCACCA CCAUCGACACCAUCCACACCGCAACAACAACCCUGCAGA AUAAGGUGCGGCCUGCCCACGUGGAACUGGGACUGGAA GUGACAAAGGCCGUGCUGCUGACCGCUAAUCCCGCCUC CACCGCCAAGGAGCUGGAUGCCGAAGGAGCUGCCCUGA AAGCCAGACUGGAGAAGGUGAGCCAGUACCCUGAUCUG ACCCCUAACGACGUGGCCACCUCCAGCAAUAGACCCCG GAGCGUGGCACAGGCUGCUAUUGCCACCGACGGAAAGG GCAUCAUCGAUAAAGACAGCCGGGAUGCCGUGAUCAAU GACGCCAAGCUGAGAGCAGCAAUCGCCGGCGCUCUGGU				375

5	
10	
15	
20	
25	
30	GAAGGCAGGCUUCAGCAGCGCCGACGCCGUGGCUCUGG CCCCUAGAAUCGCUAAGGAGAUGGCCAAGGAGGGCGUG CUGCUGAUCAAUCACCACAAGCUGAAGGCCCUGAUCGG CGCCCAGCUGGGACUGCUGACAGAUGCCAAGAUC CAGA GAGCCGCUGCAGCCGUGGAUCUGGGCAUCAAGGCCACA CUGGCCGCCACCAUCAUCCCAAACGCCCUGGGCAGCGC CGCCUUCAAAAUGCCGUGAUUGCCAACCUGGUGGCCG CCGGCAUCGAUAAGCACCUGGCCAGAGCCACAGCCGUG GCCAUCGUGGCCACAGCCCUGAAUCCCGCACUGGGACC UAUUGCCAAGUUCGAACUCAUUAAGGCCGAAAUCGCAGC CCAAGCCGCCUGCUGAUUCGGCGGGGCGUGCACCUGC AGAAAGCCGCCAUUGAGCACGUGAUCGGCAGAGCCUUC GAUGCCGCUGUGGCCACCGCCAUCAUCUCCUCUCCUAU CCUGUCUGCUAGAAUCGUGACCCACCUGGUCAGAGCCG GAAUCGACAAGUCUAUCGCUAUCAGCCUGGCCCCCCCAC AUCGUGAAGAGACUGGCCAAAGAGCCCCUGCUGGCCUU CAACACAGCCAAGCUCAUGAAGAAUAUCACCAGACAGAU CGUGGACGUGAUCACCGCCGACAAGGCCAUCAAAACCG CUGAGCAGCUGGAGAAGGAGCUGCCCGCCCUGGAUGAC CUGGUGAAGAAGGCCAGCAGCCCCCCCCAAGCCUACACC

30	25	20	15	10	5
	UACACCUACCCCAACCCCUACAGCCGCCCCUACAGUGAC CGUGAUUCCUGUGGGCAGAGAAGGAGGCGACAUCACCA UCAGCGGAAAGGGCUUCUCUACCACAGGCUUCGGCGUG UACGUGGCCGUGGCCCCUGCCUCCGUGCCCGAAUUCUA CGGCAACAGCGACAAGUUCUACGGCUACGACCCCAGCA AAGACACCACAGAGAGCCCUUCCACCAUCUGGGUGUACA CCCCUUCCCAGAAGGCCAUCGGCAGCAGAUUCGCUCAG GGCAGACCUAUGAAUAACGACGGCUCUUUCACCAUCACA AUGAAGGCCCCCCCCUUCGAGCAGGGCAAAGACUUCGU GGUGCUGACAACCAAGGCCACGGCGUGGGCAAGACAG AUCACUCCGACGACACCCGGACCCCUGUGACCUACAGA GAGGCAACACCUGCUCCCACCGGGCCAAAGACCCCUAU C				
390	UCCAGCAAUAGACCCCGGAGCGUGGCACAGGCUGCUAU UGCCACCGACGGAAAGGGCAUCAUCGAUAAAGACAGCC GGGAUGCCGUGAUCAAUGACGCCAAGCUGAGAGCAGCA AUCGCCGGCGCUCUGGUGAAGGCAGGCUUCAGCAGCGC CGACGCCGUGGCUCUGGCCCCUAGAAUCGCUAAGGAGA UGGCCAAGGAGGGCGUGCUGCUGAUCAAUCACCACAAG CUGAAGGCCCUGAUCGGCGCCCAGCUGGGACUGCUGAC				

30	AGAUGCCAAGAUCCAGAGAGCCGCGUGCAGCCGUGGAUC UGGGCAUCAAGGCCACACUGGCCGCCACCAUCAUCCCA AACGCCCUGGGCAGCGCCGCCUUCAAAAUGCCGUGAU UGCCAACCUGGUGGCCGCCGGCAUCGAUAAGCACCUGG CCAGAGCCACAGCCGUGGCCAUCGUGGCCACAGCCCUG AAUCCCGCACUGGGACCUAUUGCCAAGUUCGAACUCAU UAAGGCCGAAAUCGCAGCCCAAGCCGCCUGCUGAUUC GGCGGGGCGUGCACCUGCAGAAAGCCGCCAUUGAGCAC GUGAUCGGCAGAGCCUUCGAUGCCGCGUGUGGCCACCGC CAUCAUCUCCUCUCCUAUCCUGUCUGCUAGAAUCGUGA CCCACCUGGUCAGAGCCGGAAUCGACAAGUCUAUCGCU AUCAGCCUGGCCCCCCCACAUCGUGAAGAGACUGGCCAA AGAGCCCCUGCUGGCCUUC AACACAGCCAAGCUCAUGA AGAAUAUCACCAGACAGAUUCGUGGACGUGAUCACCGCC GACAAGGCCAUCAAAACCGCUGAGCAGCUGGAGAAGGA GCUGCCCGCCCUGGAUGACCUGGUGAAGAAGGCCAGCA GCCCCCCCAAGCCUACACCUACACCUACCCCAACCCCUA CAGCCGGCCCUACAGUGACCGUGAUUCCUGUGGGCAGA GAAGGAGGCGACAUCACCAUCAGCGGAAAGGGCUUCUC UACCACAGGCUUCGGCGUGUACGUGGCCGUGGCCCCUG	10
25		5
20		
15		

30	25	20	15	10	5
	CCUCCGUGCCCGAAUUCUACGGCAACAGCGACAAGUUC UACGGCUACGACCCCAGCAAAGACACCACAGAGAGCCCU UCCACCAUCUGGGUGUACACCCCUUCCCAGAAGGCCAU CGGCAGCAGAUUCGCUCAGGGCAGACCUAUGAAUAACG ACGGCUCUUUCACCAUCACAAUGAAGGCCCCCCCCCUUC GAGCAGGGCAAAGACUUCGUGGUGCUGACAACCAAGGC CCACGGCGUGGGCAAGACAGAUACUCCGACGACACCC GGACCCCUGUGACCUACAGAGAGGCAACACCUGCUCCC ACCGGGCCAAAGACCCCUAUCGUGUACGUGAGAACCAA UUUCAGCAAGACCAUCUGGCAGGUGAGAGCCAAUCGGG ACAGAUACAUCCUGGGCCACAAGUCUGCCGCCGUGUAU AAAACCCUGAAUCACGCCAUCACCAAGGCCGUGGGCGU GAGACUGAACCCUAAGACAACCGUGGGCAACAUCCAGG CCGCCAGAACAGAGCUGCUGGCCGCCUACCAGACAGCC UUCAAUAGCCCCGACGUGAAGAAGGCCGCU				
393	AGCUCCAAUAGACCCAGAUCCGUGGCCCCAGGCCGCCAU CGCCACAGAUGGCAAGGGGAUCAUCGACAAGGAUUCCA GAGACGCUGUGAUCAACGACGCAAAGCUGAGAGCCGCC AUCGCCGGAGCUCUGGUGAAGGCCGGCUUUAGCAGCGC CGACGCCGUGGCACUGGCCCCCAGAAUUGCAAAGGAGA				

5	
10	
15	
20	
25	
30	UGGCAAAGGAGGGCGUGCUGCUGAUCAAUCACCACAAG CUGAAGGCCUGAUCGGCGCACAGCUGGGCCUGCUGAC CGACGCAAAGAUUCAGAGAGCCGCCGCAGCCGUGGACC UGGGCAUCAAGGCCACCCUGGCUGCCACCAUCAUCCCU AACGCCCUGGGCAGCGCCGCCUUCAAGAAUGCAGUGAU CGCCAACCUGGUGGGCCGCCGGAUUCGACAAGCACCUGG CCAGAGCCACAGCCGUCGCUAUCGUGGCCACAGCCCUG AAUCCCGCCCUGGGCCCCAUCGCCAAAUUUGAACUGAU CAAGGCAGAAAUCGCUGCCCAGGCCGCCUGCUCAUCA GAAGAGGCGUCCAUCUGCAGAAGGCCGCCAUCGAGCAC GUGAUUGGCAGAGCCUUCGACGCCGCCGUGGCCACAGC UAUCAUUUCUUCCCCUAUCCUGUCUGCCAGAAUCGUGA CACACCUGGUGAGAGCCGGAAUCGACAAGUCCAUCGCC AUCUCCCUGGCCCCCCCACAUCGUGAAGAGACUGGCUAA GGAGCCUCUGCUGGCCUUAUAACAGCCAAGCUGAUGA AGAACAUCACAAGACAGAUUCGUGGACGUGAUCACCGCC GACAAGGCCAUCAAGACAGCCGAGCAGCUGGAGAAGGA ACUGCCAGCCCUGGACGACCUGGUGAAGAAGGCCAGCA GCCCUCCCAAGCCUACCCCUACCCCAACCCCUACACCUA CAGCCGGACCUACCGUGACCGUGAUCCCUGUGGGCAGA

30	25	20	15	10	5
	GAGGGCGGCGACAUCACCAUCAGCGGCAAGGGCUUCAG CACAACAGGCUUUGGCGUGUACGUGGCCGUGGCCCCAG CCAGCGUGCCUGAGUUUUACGGCAAUAGCGACAAGUUC UACGGCUACGACCCCUCCAAGGACACCACCGAGAGCCC AAGCACCAUCUGGGUGUACACACCUAGCCAGAAGGCCA UCGGCAGCAGAUUUGCCCAGGGCAGGCCUAUGAAUAAU GACGGCAGCUUCACAAUCACAAUGAAGGCCCCCCCCCUU UGAGCAGGGCAAGGACUUCGUGGUGCUGACCACCAAGG CCCACGGCGUGGGCAAGACAGAUACAGCGACGACACC CGGACCCCCGUGACCUACAGAGAAGCAACACCUGCCCC UACCGGGCCUAAGACACCCAUCGUGUACGUGAGAACCA AUUUCAGCAAGACCAUCUGGCAGGUGAGAGCCAACAGA GAUCGGUACAUCCUGGGCCACAAGUCCGCCGCCGUGUA CAAGACCCUGAAUCACGCCAUCACCAAGGCCGUGGGCG UGC GGCUGAAUCCUAAGACCACCGUGGGCAACAUCCAG GCCGCCAGAACCGAACUGCUGGCCGCCUACCAGACCGC CUUCAACAGCCCCGAUGUGAAGAAGGCCGCU				
395	AGCGGCAGCAUCCUGGCUAUCUACAGCACAGUGGCUUC UAGCCUGGUGCUGCUGGUGUCUCUGGGCGCCAUCAGC UUUGGCAGCGGC			84	

5	10	15	20	25	30
84		AGCGGAAGCAUCCUGGCCAUCUAUAGCACCGUGGCUAG CUCUCUGGUGCUGCUGGUGAGCCUGGGAGCUAUCAGCU UUGGGAGCGGC			
396					

5

10

15

20

25

30

5

10

15

20

25

30