

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 934 698**

51 Int. Cl.:

**C12N 15/86** (2006.01)

**A61K 39/29** (2006.01)

**C12N 15/36** (2006.01)

**C12N 15/62** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.11.2016 PCT/EP2016/076591**

87 Fecha y número de publicación internacional: **11.05.2017 WO17076988**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.11.2016 E 16791573 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.10.2022 EP 3371316**

54 Título: **Vacunas contra el virus de la hepatitis B**

30 Prioridad:

**04.11.2015 US 201562250639 P**

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

**24.02.2023**

73 Titular/es:

**HOOKIPA BIOTECH GMBH (100.0%)  
Helmut-Qualtinger-Gasse 2  
1030 Wien, AT**

72 Inventor/es:

**MONATH, THOMAS;  
COHEN, KATHERINE y  
BAUMGARTL-STRASSER, VERA**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

ES 2 934 698 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Vacunas contra el virus de la hepatitis B

### 1. INTRODUCCIÓN

En la presente memoria se proporcionan arenavirus modificados genéticamente adecuados como vacunas para la prevención y el tratamiento de infecciones por el virus de la hepatitis B. También se proporcionan en la presente memoria composiciones farmacéuticas y composiciones farmacéuticas para uso en métodos para el tratamiento de infecciones por el virus de la hepatitis B. Específicamente, en la presente memoria se proporcionan composiciones farmacéuticas, vacunas y composiciones farmacéuticas y vacunas para uso en métodos de tratamiento o prevención de infecciones por el virus de la hepatitis B. Como tal, la presente solicitud proporciona inmunoterapias para infecciones por el virus de la Hepatitis B.

### 2. ANTECEDENTES

#### 2.1 El patógeno y la enfermedad.

El virus de la hepatitis B (HBV) es un virus con envoltura de doble cadena de la familia Hepadnaviridae. La partícula del virus consiste en una envoltura lipídica externa y un núcleo de nucleocápside icosaédrico compuesto de proteína. La nucleocápside encierra el ADN viral y una ADN polimerasa que tiene actividad de transcriptasa inversa. La envoltura exterior contiene proteínas incrustadas que están involucradas en la unión viral y la entrada en células susceptibles. El HBV se replica en los hepatocitos de humanos y otros primates superiores, pero no crece en cultivos de células artificiales.

Los resultados de la infección por HBV dependen de la edad e incluyen infección asintomática, hepatitis B aguda, infección crónica por HBV, cirrosis y carcinoma hepatocelular (HCC). La hepatitis B aguda ocurre en aproximadamente el 1 % de las infecciones perinatales, el 10 % de las infecciones en la primera infancia (niños de 1 a 5 años) y el 30 % de las infecciones tardías (personas mayores de 5 años). La hepatitis fulminante se desarrolla en el 0,1-0,6% de los casos de hepatitis aguda; la mortalidad por hepatitis B fulminante es de aproximadamente 70%. El desarrollo de la infección crónica por HBV está inversamente relacionado con la edad de adquisición, ocurriendo en aproximadamente el 80-90% de las personas infectadas perinatalmente, aproximadamente 30% de los niños infectados antes de los 6 años y en <5% de las infecciones que ocurren en otros adultos sanos (Hyams et al., 1995, Clinical Infections Diseases 20:992-1000). Las comorbilidades, incluida la infección por VIH concurrente y la ingestión de alcohol o aflotoxinas, o ambas, pueden tener un papel importante en el desarrollo de la morbilidad relacionada con la hepatitis B. Se estima que el 10 % de los 40 millones de personas infectadas por el VIH en todo el mundo están coinfectadas por el HBV.

Las personas con infección crónica por HBV tienen un riesgo del 15-25 % de morir prematuramente por cirrosis y HCC relacionados con el HBV (Beasley and Hwang, 1991, Proceedings of the 1990 International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Disease: Contemporary Issues and Future Prospects 532-535). La infección aguda por HBV se caracteriza por la presencia de HBsAg, el antígeno de superficie del HBV, y anticuerpos de inmunoglobulina M (IgM) contra el antígeno central, HBcAg. Durante la fase inicial altamente replicativa de la infección, los pacientes también son seropositivos para HBeAg, la forma extracelular y secretada de HBcAg que se puede encontrar en el suero de los pacientes donde sirve como marcador de replicación activa en la hepatitis crónica. El anticuerpo contra HBsAg (anti-HBs) es discernible después de algunas semanas y es seguido por la eliminación del HBsAg. La infección crónica se caracteriza por la persistencia (>6 meses) de HBsAg (con o sin HBeAg concurrente). La persistencia de HBsAg es el principal marcador de riesgo de desarrollar enfermedad hepática crónica y HCC más adelante en la vida. La presencia de HBeAg indica que la sangre y los fluidos corporales del individuo infectado son altamente contagiosos.

#### 2.2 Epidemiología y salud pública

Las enfermedades causadas por el virus de la hepatitis B tienen una distribución mundial. Se estima que dos mil millones de personas se han infectado en algún momento con el HBV. De estos, aproximadamente 360 millones de personas tienen infección crónica y riesgo de enfermedad grave y muerte, principalmente por cirrosis hepática y carcinoma hepatocelular (HCC). El modelo matemático para el año 2000 estimó el número de muertes por enfermedades relacionadas con el HBV en alrededor de 600 000 cada año en todo el mundo (Goldstein et al., 2005, International J. Epidemiology 34:1329-1339). Los seres humanos son el único reservorio del HBV. El virus se transmite por exposición percutánea y permucosa a sangre y otros fluidos corporales infectados, principalmente semen y fluido vaginal. El período de incubación es de 75 días en promedio, pero puede variar de unos 30 días a 180 días. El antígeno de superficie del HBV (HBsAg) puede detectarse en el suero 30 a 60 días después de la infección y puede persistir durante períodos de tiempo muy variables. La endemidad de la hepatitis B se describe por la prevalencia de HBsAg en la población general de un área geográfica definida, y varía considerablemente a nivel mundial: prevalencias de HBsAg >8% son típicas de áreas altamente endémicas, prevalencias de 2-7% se encuentran en áreas de endemidad intermedia, mientras que en áreas con baja endemidad <2% de la población es HBsAg-positiva.

En áreas altamente endémicas, el HBV se transmite más comúnmente de madre a hijo al nacer, o de persona a persona en la primera infancia (Goldstein et al., 2005, International J. Epidemiology 34:1329-1339; Wong et al., 1984, Lancet 1:921-926; de la Hoz et al., 2008 International J. Infectious Diseases 12:183-189). La transmisión perinatal o

en la primera infancia también puede representar más de un tercio de las infecciones crónicas en áreas de baja endemidad (Margolis et al., 1995, JAMA 274:1201-1208) aunque en esos entornos, la transmisión sexual y el uso de agujas contaminadas, especialmente entre los usuarios de drogas inyectables, son las principales vías de infección (Goldstein et al., 2002, J. Infectious Diseases 185:713-719).

## 5 2.3 Tratamiento actual

Se ha demostrado que la vacunación universal contra la hepatitis B reduce significativamente las tasas de infección por HBV y HCC. Sin embargo, una vez que se establece la infección crónica por HBV, el tratamiento aún representa un gran desafío, ya que las terapias tradicionales generalmente no logran proporcionar un control sostenido de la replicación viral y el daño hepático en la mayoría de los pacientes.

- 10 Los tratamientos antivirales actualmente aprobados para la hepatitis B crónica incluyen el interferón- $\alpha$  recombinante pegilado (PEG) y los inhibidores de la ADN polimerasa viral. Estos agentes disminuyen la replicación viral y se ha demostrado que retrasan la progresión de la cirrosis, reducen la incidencia de HCC y mejoran la supervivencia a largo plazo. Sin embargo, el tratamiento se complica por la toxicidad de los agentes y solo puede curar a un pequeño subconjunto de personas con infección crónica. Aunque los niveles virales en la sangre caen en picado a niveles casi
- 15 indetectables en individuos que reciben terapias estándar, las reducciones del ADN viral intrahepático son solo modestas. Como consecuencia, el rebote de la viremia ocurre con frecuencia después de la interrupción del tratamiento y las personas con infecciones crónicas por HBV deben continuar con el tratamiento de por vida. Sin embargo, incluso después de diez años de terapia antiviral, los medicamentos reducen la insuficiencia hepática en solo un 40-70%, y la mortalidad por cirrosis y cáncer de hígado sigue siendo alta.

## 20 2.4 La hepatitis B y el sistema inmunitario

La infección crónica por hepatitis B se caracteriza por una inmunidad antiviral innata y adaptativa disfuncional (Bertoletti & Ferrari, 2012, Gut 61:1754-1764). Por el contrario, la inmunidad específica contra el HBV en pacientes con infección por HBV resuelta es robusta y multifuncional. Varios mecanismos podrían contribuir a la disfunción de la inmunidad de las células T específicas del HBV en pacientes con hepatitis B crónica, incluidos los altos niveles de

25 antigenemia viral y el microambiente tolerante del hígado (Jenne & Kubes, 2013, Nat. Immunol. 14:996-1006). Estudios previos han demostrado que la supresión de la replicación viral puede restaurar transitoriamente y parcialmente la inmunidad de las células T antivirales, lo que respalda la hipótesis de que la exposición a largo plazo a altos niveles de antigenemia podría causar disfunción de las células T antivirales (Boni et al., 2003, J. Hepatol. 39:595-605).

- 30 Las vacunas terapéuticas que podrían revertir el estado inmunológico disfuncional de los pacientes con hepatitis B crónica y restaurar la inmunidad antiviral, teóricamente tendrían el potencial de eliminar la viremia y reducir los niveles intrahepáticos de ADN del HBV a cero, por lo que serían muy prometedores para la cura del HBV.

- Recientemente, las vacunas contra el HBV han sido identificadas como una estrategia terapéutica prometedora para el tratamiento y control de la infección por HBV en portadores de HBV y pacientes persistentemente infectados (Michel & Tiollais, 2010, Pathol. Biol. (Paris) 58:288-295; Liu et al., 2014, Virol. Sin. 29:10-16). En aproximadamente el 50 %
- 35 de los pacientes con HBV crónicamente activos, la terapia específica mediante la vacunación anti-HBV convencional redujo de forma eficaz la replicación del HBV e inhibió la tolerancia inmunitaria a la proteína HbsAg (Coullin et al., 1999, J. Infect. Dis. 180:15-26). Sin embargo, hasta ahora la monoterapia con vacunas basadas en HBsAg no condujo a un control sostenido de la replicación del HBV y/o al daño hepático (Akbar et al., 2013, Hepatobiliary Pancreat. Dis. Int. 12:363-369) y se necesitan nuevas estrategias de terapia para proporcionar respuestas inmunitarias antivirales
- 40 potentes y duraderas y un control a largo plazo de la replicación del HBV.

El fracaso de los enfoques de vacunas terapéuticas anteriores destaca los desafíos y las limitaciones del conocimiento actual sobre las respuestas inmunitarias en la infección crónica por HBV (Michel et al., 2011, J. Hepatol. 54:1286-1296). La combinación de una condición de alta carga viral como la hepatitis B crónica con el microambiente hepático tolerante podría dificultar la recuperación total de la inmunidad de células T antivirales.

- 45 La investigación intensiva se concentra actualmente en una mejor comprensión de las respuestas inmunes en los hepatocitos, en los mecanismos por los cuales el HBV evade la inmunidad innata y en la selección adecuada de pacientes susceptibles de beneficiarse de la terapia inmune, lo que podría aumentar la eficacia de la vacunación terapéutica (Michel et al., 2015, Med. Microbiol. Immunol. 204:121-129).

- 50 En el primer aspecto, la invención proporciona un vector viral de arnavirus infeccioso, en donde se elimina un marco de lectura abierto de arnavirus y se reemplaza por una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en:

- a. una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína HBc del HBV o un fragmento antigénico de la misma;
- b. una secuencia de nucleótidos que codifica una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigénicos de las mismas; y
- 55 c. una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma;

en donde el vector viral es capaz de provocar una respuesta de células T contra la proteína HBc del HBV, la fusión de proteínas HBs y HBc del HBV, la proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma.

En el segundo aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica, una composición inmunogénica o una vacuna que comprende el vector viral de la invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

- 5 En el tercer aspecto, la invención proporciona un vector viral, una composición farmacéutica, una composición inmunogénica o una vacuna de la invención, para uso en un método para tratar o prevenir una infección por el virus de la Hepatitis B en un paciente.

10 En el cuarto aspecto, la invención proporciona un ácido nucleico aislado, en donde el ácido nucleico comprende un segmento genómico de arenavirus en donde se elimina o inactiva funcionalmente un marco de lectura abierto del segmento genómico y en donde el segmento genómico comprende uno o más de:

- a. una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína HBc del HBV o un fragmento antigénico de la misma;
- b. una secuencia de nucleótidos que codifica una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigénicos de las mismas; o
- c. una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma;

15 en donde un vector viral que comprende el segmento genómico de arenavirus es capaz de provocar una respuesta de células T contra la proteína HBc del HBV, la fusión de proteínas HBs y HBc del HBV, la proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma; opcionalmente, en donde el segmento genómico es el segmento corto, en donde se elimina el marco de lectura abierto que codifica la glicoproteína (GP).

20 En el quinto aspecto, la invención proporciona un ADNc del segmento genómico de arenavirus como se define en el cuarto aspecto.

En el sexto aspecto, la invención proporciona un *in vitro* método para generar un vector viral de arenavirus infeccioso, deficiente en replicación que comprende:

- a. transfectar en una célula huésped el ADNc de la invención;
- b. mantener la célula huésped en condiciones adecuadas para la formación de virus; y
- 25 c. recolectar el vector viral arenavirus infeccioso, deficiente en replicación;

en donde la célula huésped expresa el marco de lectura abierto del segmento genómico que se elimina o inactiva funcionalmente;

30 opcionalmente en donde el método comprende además en el paso a. transfectar en la célula huésped: un ADNc de un segundo segmento genómico de arenavirus, un ácido nucleico que comprende el ORF de proteína L y/o un ácido nucleico que comprende el ORF de NP.

35 En el séptimo aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un primer vector viral de arenavirus infeccioso y deficiente en replicación modificado para contener un genoma con la capacidad de amplificar y expresar su información genética en células infectadas pero incapaz de producir partículas de progenie infecciosas adicionales en condiciones normales. , no células modificadas genéticamente, en donde se elimina un marco de lectura abierto de arenavirus y se reemplaza por una primera secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en:

- a. una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína HBc del HBV o un fragmento antigénico de la misma;
- b. una secuencia de nucleótidos que codifica una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigénicos de las mismas; y
- 40 c. una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma;

y un segundo vector viral de arenavirus infeccioso, deficiente en replicación, modificado para contener un genoma con la capacidad de amplificar y expresar su información genética en células infectadas pero incapaz de producir partículas de progenie infecciosas adicionales en células normales, no modificadas genéticamente, en donde una lectura abierta de arenavirus el marco se elimina y se reemplaza por una segunda secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en:

- a. una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína HBc del HBV o un fragmento antigénico de la misma;
- b. una secuencia de nucleótidos que codifica una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigénicos de las mismas; y

c. una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma;

en donde la primera y la segunda secuencia de nucleótidos son diferentes; donde el primer vector viral y el segundo vector viral son capaces de provocar una respuesta de células T contra la proteína HBc del HBV, la fusión de proteínas HBs y HBc del HBV, la proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma.

5 En adelante, la referencia al arnavirus en el contexto de la invención, o el arnavirus comprendido en la composición farmacéutica de la invención, significa el vector viral arnavirus.

### 3. SUMARIO DE LA INVENCION

La presente solicitud proporciona inmunoterapias para infecciones por el virus de la Hepatitis B. En la presente memoria se proporciona un vector viral de arnavirus infeccioso, en donde se elimina un marco de lectura abierto de arnavirus y se reemplaza por una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en:

a. una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma;

b. una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína HBc del HBV o un fragmento antigénico de la misma; y

c. una secuencia de nucleótidos que codifica una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigénicos de las mismas; y

15 en donde el vector viral es capaz de provocar una respuesta de células T contra la proteína HBc del HBV, la fusión de proteínas HBs y HBc del HBV, la proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma.

En ciertas realizaciones, el vector viral de arnavirus infeccioso es deficiente en replicación (Véase la Sección 6.1 (a)). En ciertas realizaciones, el vector viral de arnavirus infeccioso es competente para la replicación (Véase la Sección 6.1 (b)). En ciertas realizaciones, el vector viral de arnavirus infeccioso y deficiente en replicación está bisegmentado.

20 En ciertas realizaciones, el vector viral de arnavirus infeccioso y deficiente en replicación está trisegmentado. En ciertas realizaciones, el vector viral de arnavirus infeccioso y competente para la replicación está trisegmentado.

En ciertas realizaciones, en la presente memoria se proporciona un vector viral de arnavirus, en donde se elimina un marco de lectura abierto de arnavirus y se reemplaza por una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en:

25 a. una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma;

b. una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína HBc del HBV o un fragmento antigénico de la misma; y

c. una secuencia de nucleótidos que codifica una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigénicos de las mismas; y en donde el vector viral es capaz de provocar una respuesta de células T contra la proteína HBc del HBV, la fusión de proteínas HBs y HBc del HBV, la proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma.

30 En ciertas realizaciones, el vector viral de arnavirus es deficiente en replicación. En ciertas realizaciones, el vector viral de arnavirus es competente para la replicación.

En ciertas realizaciones, un vector viral como se proporciona en la presente memoria es infeccioso, es decir, es capaz de ingresar o inyectar su material genético en una célula huésped. En ciertas realizaciones más específicas, un vector viral como se proporciona en la presente memoria es infeccioso, es decir, es capaz de ingresar o inyectar su material genético en una célula huésped seguido de amplificación y expresión de su información genética dentro de la célula huésped. En ciertas realizaciones, el vector viral es un vector viral de arnavirus infeccioso, deficiente en replicación modificado para contener un genoma con la capacidad de amplificar y expresar su información genética en células infectadas pero incapaz de producir partículas de progenie infecciosas adicionales en células normales, no modificadas genéticamente. En ciertas realizaciones, en la presente memoria se proporciona una línea celular que soporta el crecimiento viral de un virus de tipo salvaje pero que no expresa la proteína viral complementaria, por lo que es incapaz de producir partículas de progenie infecciosas virales adicionales. En ciertas realizaciones, el vector viral de arnavirus infeccioso es competente para la replicación y capaz de producir más partículas de progenie infecciosas en células normales, no modificadas genéticamente.

45 En ciertas realizaciones, la proteína pre-S2/S o el fragmento antigénico de la misma comprende una secuencia de aminoácidos que es 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntico a una secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 1. En ciertas realizaciones, el fragmento es antigénico cuando es capaz de (i) provocar una respuesta inmunitaria de anticuerpos en un huésped (p. ej., ratón, conejo, cabra o burro) en donde los anticuerpos resultantes se unen específicamente al HBV humano pre -proteína S2/S; y/o (ii) provocar una respuesta inmunitaria de células T específica.

50 En ciertas realizaciones, la proteína HBc o el fragmento antigénico de la misma comprende una secuencia de

- aminoácidos que es 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntico a una secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 2. En ciertas realizaciones, el fragmento es antigénico cuando es capaz de (i) provocar una respuesta inmunitaria de anticuerpos en un huésped (p. ej., ratón, conejo, cabra o burro) en donde los anticuerpos resultantes se unen específicamente a la proteína HBc del HBV humano; y/o (ii) provocar una respuesta inmunitaria de células T específica.
- 5 En ciertas realizaciones, la fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigénicos de las mismas comprende una secuencia de aminoácidos que es 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntico a una secuencia de aminoácidos codificada por la
- 10 secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 3. En ciertas realizaciones, el fragmento es antigénico cuando es capaz de (i) provocar una respuesta inmunitaria de anticuerpos en un huésped (p. ej., ratón, conejo, cabra o burro) en donde los anticuerpos resultantes se unen específicamente a los HBs del HBV humano, HBc o tanto HBs como HBc; y/o (ii) provocar una respuesta inmunitaria de células T específica.
- 15 La proteína HBe o el fragmento antigénico de la misma comprende una secuencia de aminoácidos que es 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntico a una secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 26. El fragmento puede ser antigénico cuando es capaz de (i) provocar una respuesta inmunitaria de anticuerpos en un huésped (p. ej., ratón, conejo, cabra o burro) en donde los anticuerpos resultantes se unen específicamente a la proteína HBe del HBV humano; y/o (ii) provocar una respuesta inmunitaria de células T específica.
- 20 En ciertas realizaciones, el vector viral comprende al menos dos de:
- a. una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma;
  - b. una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína HBc del HBV o un fragmento antigénico de la misma; y
  - c. una secuencia de nucleótidos que codifica una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigénicos de las mismas; y
- 25 en donde el vector viral es capaz de provocar una respuesta de células T contra la proteína HBc del HBV, la fusión de proteínas HBs y HBc del HBV, la proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma.
- En ciertas realizaciones, el vector viral comprende al menos tres de:
- a. una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma;
  - b. una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína HBc del HBV o un fragmento antigénico de la misma; y
  - c. una secuencia de nucleótidos que codifica una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigénicos de las mismas; y
- 30 en donde el vector viral es capaz de provocar una respuesta de células T contra la proteína HBc del HBV, la fusión de proteínas HBs y HBc del HBV, la proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma.
- 35 En ciertas realizaciones, un marco de lectura abierto (ORF) del arnavirus se elimina o inactiva funcionalmente y se reemplaza con un ácido nucleico que codifica un antígeno del HBV como se describe en la presente memoria. En una realización específica, el ORF que codifica la glicoproteína GP del arnavirus se elimina o inactiva funcionalmente. En ciertas realizaciones, la inactivación funcional de un gen elimina cualquier producto de traducción. En ciertas realizaciones, la inactivación funcional se refiere a una alteración genética que permite alguna traducción, sin embargo, el producto de la traducción ya no es funcional y no puede reemplazar la proteína de tipo salvaje.
- 40 En ciertas realizaciones, el vector viral puede amplificar y expresar su información genética en una célula que ha sido infectada por el vector viral, pero el vector viral no puede producir más partículas de progenie infecciosas en una célula que no se complementa. En ciertas realizaciones, un vector viral como se proporciona en la presente memoria es infeccioso, es decir, es capaz de ingresar o inyectar su material genético en una célula huésped. En ciertas realizaciones más específicas, un vector viral como se proporciona en la presente memoria es infeccioso, es decir, es
- 45 capaz de ingresar o inyectar su material genético en una célula huésped seguido de amplificación y expresión de su información genética dentro de la célula huésped.
- En ciertas realizaciones, la información genómica que codifica la partícula de arnavirus infeccioso se deriva de la cepa Clon 13 del virus de la coriomeningitis linfocítica (LCMV) o la cepa MP de LCMV. La secuencia de nucleótidos del segmento S y del segmento L del Clon 13 se exponen en SEQ ID NO: 12 y 7, respectivamente.
- 50 En ciertas realizaciones, en la presente memoria se proporciona un vector viral cuyo genoma es o ha sido derivado del genoma del Clon 13 (SEQ ID NO: 12 y 7) mediante la eliminación de un ORF del genoma del Clon 13 (p. ej., el ORF de la proteína GP) y reemplazándolo con un ORF heterólogo que codifica un antígeno (p. ej., un antígeno del HBV) de modo que el genoma restante del LCMV sea al menos el 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntico al genoma del Clon 13.

88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, al menos 99 % o 100 % idéntico a la secuencia de nucleótidos del Clon 13 (SEQ ID NO: 12 y 7).

En ciertas realizaciones, en la presente memoria se proporciona un vector viral cuyo genoma se ha derivado del genoma de la cepa MP de LCMV (SEQ ID NO: 13 y 14) mediante la eliminación de un ORF del genoma MP de la cepa de LCMV (p. ej., el ORF de la proteína GP) y reemplazándolo con un ORF heterólogo que codifica un antígeno (p. ej., un antígeno del HBV) de modo que el genoma restante del LCMV es al menos 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, al menos 99 %, 99,1 %, 99,2 %, 99,3 %, 99,4 %, 99,5 %, 99,6 %, 99,7 %, 99,8 %, al menos 99,9 % o 100 % idénticos a la secuencia de nucleótidos de la cepa MP de LCMV (SEQ ID NO: 13 y 14).

En una realización más específica, el vector viral comprende un segmento genómico, en donde el segmento genómico comprende una secuencia de nucleótidos que es al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, al menos 99 % o 100 % idéntico a la secuencia de nucleótidos 1639 a 3315 de SEQ ID NO: 11 o 1640 a 3316 de SEQ ID NO: 12. En ciertas realizaciones, el vector viral comprende un segmento genómico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un producto de expresión cuya secuencia de aminoácidos es al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, al menos 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de aminoácidos codificada por 1639 a 3315 de SEQ ID NO: 11 o 1640 a 3316 de SEQ ID NO: 12.

También se proporcionan en la presente memoria ácidos nucleicos aislados, en donde el ácido nucleico es un ADNc de un segmento genómico de arenavirus en donde se elimina o inactiva funcionalmente un ORF del segmento genómico y en donde el segmento genómico comprende uno o cualquier combinación de:

- a. una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma;
- b. una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína HBc del HBV o un fragmento antigénico de la misma; y
- c. una secuencia de nucleótidos que codifica una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigénicos de las mismas; y

en donde un vector viral que comprende el segmento genómico de arenavirus es capaz de provocar una respuesta de células T contra la proteína pre-S2/S del HBV, la proteína HBc del HBV o la fusión de proteínas HBs y HBc del HBV, o un fragmento antigénico de las mismas.

En ciertas realizaciones, el segmento genómico es el segmento corto, en donde se elimina el ORF que codifica la GP.

En un aspecto, en la presente memoria se proporcionan métodos para generar una partícula de arenavirus infecciosa deficiente en replicación que comprende:

- a. transfectar en una célula huésped un ácido nucleico descrito en la presente memoria;
- b. mantener la célula huésped en condiciones adecuadas para la formación de virus; y
- c. recolectar la partícula de arenavirus infecciosa, deficiente en replicación;

en donde la célula huésped expresa el ORF que se elimina o inactiva funcionalmente en el segmento genómico. En ciertas realizaciones, cualquier ácido nucleico adicional requerido para el rescate de una partícula viral también se transfecta en la célula huésped en el paso a. Dichos ácidos nucleicos adicionales pueden ser: el ADNc del segundo segmento genómico de arenavirus, un ácido nucleico que comprende el ORF de proteína L y/o un ácido nucleico que comprende el ORF de NP.

En otro aspecto, en la presente memoria se proporcionan composiciones, p. ej., composiciones farmacéuticas, inmunogénicas o vacunas, que comprenden un vector viral descrito en la presente memoria y un vehículo farmacéuticamente aceptable. También se proporcionan en la presente memoria composiciones (p. ej., composiciones de vacunas) que comprenden dos o más vectores virales diferentes descritos en la presente memoria (es decir, en donde los vectores virales codifican diferentes antígenos del HBV). En ciertas realizaciones, la composición farmacéutica comprende un ácido nucleico o una proteína de fusión descrita en la presente memoria.

En otro aspecto, los métodos para tratar o prevenir la infección por HBV en un paciente comprenden administrar al paciente un vector viral, una composición farmacéutica, una composición inmunogénica o una vacuna descrita en la presente memoria. En otro aspecto más, en la presente memoria se proporciona el uso de un vector viral, una composición farmacéutica, una composición inmunogénica o una vacuna descrita en la presente memoria en métodos de tratamiento o prevención del HBV. En ciertas realizaciones, un vector viral de arenavirus infeccioso que expresa un antígeno de HBV o un fragmento del mismo es capaz de prevenir la transmisión y/o infección de HBV de una madre a un feto. En ciertas realizaciones, uno o más vectores virales de arenavirus infecciosos que expresan un antígeno de HBV o un fragmento del mismo son capaces de prevenir la transmisión y/o infección de HBV de una madre a un feto. En ciertas realizaciones, el vector viral de arenavirus infeccioso es deficiente en replicación (Véase la Sección 6.1 (a)). En ciertas realizaciones, el vector viral de arenavirus infeccioso es competente para la replicación (Véase la Sección 6.1 (b)).

En ciertas realizaciones, la administración a un paciente de un vector vírico del virus de la arena infeccioso que expresa un antígeno del HBV o un fragmento del mismo induce una respuesta inmunitaria de larga duración. En ciertas realizaciones, el vector viral de arnavirus infeccioso es deficiente en replicación (Véase la Sección 6.1 (a)). En ciertas realizaciones, el vector viral de arnavirus infeccioso es competente para la replicación (Véase la Sección 6.1 (b)).

- 5 En ciertas realizaciones, los métodos para tratar y o prevenir la infección por HBV en un paciente comprenden administrar al paciente dos o más vectores virales de arnavirus que expresan un antígeno de HBV o un fragmento del mismo. En una realización más específica, cada vector viral de arnavirus expresa un antígeno de HBV diferente o un fragmento del mismo. En otras realizaciones, cada vector viral de arnavirus expresa un antígeno del HBV o un derivado del mismo. En algunas realizaciones, el derivado del mismo es un fragmento de antígeno de HBV. En aún  
10 otra realización proporcionada en la presente memoria se proporcionan composiciones que comprenden dos o más vectores virales de arnavirus, cada uno de los cuales expresa un antígeno de HBV diferente o un fragmento del mismo. En ciertas realizaciones, el vector viral de arnavirus infeccioso es deficiente en replicación (Véase la Sección 6.1 (a)). En ciertas realizaciones, el vector viral de arnavirus infeccioso es competente para la replicación (Véase la Sección 6.1 (b)).
- 15 En ciertas realizaciones, el arnavirus es el virus de la coriomeningitis linfocítica (LCMV) o el virus Junín (JUNV).

- En ciertas realizaciones, en la presente memoria se proporciona un vector viral de arnavirus infeccioso, en donde se elimina un marco de lectura abierto de arnavirus y se reemplaza por una secuencia de nucleótidos que codifica una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigénicos de las mismas. En realizaciones específicas, el arnavirus es el virus de la coriomeningitis linfocítica. En realizaciones específicas, el marco de lectura abierto que  
20 codifica la glicoproteína del arnavirus se elimina o se inactiva funcionalmente. En realizaciones específicas, el vector viral es deficiente en replicación. En realizaciones específicas, el vector viral es competente para la replicación. En realizaciones específicas, el vector viral está trisegmentado. En ciertas realizaciones, un método para tratar o prevenir una infección por el virus de la hepatitis B en un paciente comprende administrar al paciente el vector viral del que se elimina un marco de lectura abierto de arnavirus y se reemplaza por una secuencia de nucleótidos que codifica una  
25 fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigénicos de las mismas.

### 3.1 Convenciones y abreviaturas

AFP	Alfafetoproteína
ALT	Alanina aminotransferasa
APC	Células presentadoras de antígenos
AST	Aspartato aminotransferasa
célula C	Línea celular complementaria
CD4	Grupo de diferenciación 4
CD8	Grupo de diferenciación 8
CMI	Inmunidad mediada por células
plásmido GS	Plásmido que expresa segmentos del genoma
HBc o HBcAg	antígeno del núcleo del HBV
HBe o HBeAg	Antígeno extracelular del núcleo del HBV
HBs o HBsAg	Antígeno de superficie HBV (grande)
HBV	virus de la hepatitis B
HCC	Carcinoma hepatocelular
HRP	Peroxidasa de rábano picante



IFN- $\gamma$	interferón- $\gamma$
IGR	región intergénica
JUNV	Virus Junín
LCMV	Virus de la coriomeningitis linfocítica
LDH	Lactato deshidrogenasa
CMH	Complejo mayor de histocompatibilidad
NP	nucleoproteína
ORF	Marco de lectura abierto
Pre-S2/S	Antígeno de superficie media del HBV
TF-plásmido	Plásmido que expresa factores de transacción
TNF- $\alpha$	factor de necrosis tumoral- $\alpha$
UTR	región sin traducir
Z	Proteína matriz de LCMV

#### 4. DESCRIPCIÓN DEL LISTADO DE SECUENCIAS

Las siguientes secuencias son secuencias de aminoácidos y secuencias de nucleótidos ilustrativas que pueden usarse con los métodos y composiciones descritos en la presente memoria. En algunos casos, se usa una secuencia de ADN para describir la secuencia de ARN de un segmento genómico viral. La secuencia de ARN se puede deducir fácilmente a partir de la secuencia de ADN. Las secuencias mismas también se pueden encontrar en la Tabla 3 de la Sección 6.10.

SEQ ID NO: 1 es la secuencia de nucleótidos del ORF pre-S2/S del HBV.

SEQ ID NO: 2 es la secuencia de nucleótidos del ORF de HBc del HBV.

10 SEQ ID NO: 3 es la secuencia de nucleótidos del ORF de la proteína de fusión HBs-HBc del HBV.

SEQ ID NO: 4 es la secuencia de nucleótidos del segmento S de LCMV que expresa la proteína de fusión HBs-HBc del HBV en forma de ADNc. El segmento genómico es ARN, la secuencia en SEQ ID NO:4 se muestra para ADN; sin embargo, el intercambio de todas las timidinas ("T") en SEQ ID NO: 4 por uridinas ("U") proporciona la secuencia de ARN.

15 SEQ ID NO: 5 es la secuencia de nucleótidos del segmento S de LCMV que expresa el ORF de HBc, en forma de ADNc. El segmento genómico es ARN, la secuencia en SEQ ID NO:5 se muestra para ADN; sin embargo, el intercambio de todas las timidinas ("T") en SEQ ID NO: 5 por uridinas ("U") proporciona la secuencia de ARN.

20 SEQ ID NO: 6 es la secuencia de nucleótidos del segmento S de LCMV que expresa el ORF pre-S2/S, en forma de ADNc. El segmento genómico es ARN, la secuencia en SEQ ID NO:6 se muestra para ADN; sin embargo, el intercambio de todas las timidinas ("T") en SEQ ID NO:6 por uridinas ("U") proporciona la secuencia de ARN.

SEQ ID NO: 7 es el clon 13 del segmento L del virus de la coriomeningitis linfocítica, secuencia completa (GenBank: DQ361066.1). El segmento genómico es ARN, la secuencia en SEQ ID NO: 7 se muestra para ADN; sin embargo, el intercambio de todas las timidinas ("T") en SEQ ID NO: 7 por uridinas ("U") proporciona la secuencia de ARN.

SEQ ID NO: 8 es la secuencia de aminoácidos de un epítipo derivado de la proteína HBs del HBV.

25 SEQ ID NO: 9 es la secuencia de aminoácidos de un epítipo derivado de la proteína HBs del HBV.

SEQ ID NO: 10 es la secuencia de aminoácidos de un epítipo derivado de proteína HBc del HBV.

SEQ ID NO: 11 es el segmento S del virus de la coriomeningitis linfocítica, secuencia completa. El segmento genómico es ARN, la secuencia en SEQ ID NO: 11 se muestra para ADN; sin embargo, el intercambio de todas las timidinas ("T") en SEQ ID NO: 11 por uridinas ("U") proporciona la secuencia de ARN.

- 5 SEQ ID NO: 12 es el clon 13 del segmento S del virus de la coriomeningitis linfocítica, secuencia completa (GenBank: DQ361065.2). El segmento genómico es ARN, la secuencia en SEQ ID NO: 12 se muestra para ADN; sin embargo, el intercambio de todas las timidinas ("T") en SEQ ID NO: 12 por uridinas ("U") proporciona la secuencia de ARN.

SEQ ID NO: 13 es la cepa de coriomeningitis linfocítica MP segmento L, secuencia completa. El segmento genómico es ARN, la secuencia en SEQ ID NO:13 se muestra para ADN; sin embargo, el intercambio de todas las timidinas ("T") en SEQ ID NO: 13 por uridinas ("U") proporciona la secuencia de ARN.

- 10 SEQ ID NO: 14 es la cepa de coriomeningitis linfocítica MP segmento S, secuencia completa. El segmento genómico es ARN, la secuencia en SEQ ID NO:14 se muestra para ADN; sin embargo, el intercambio de todas las timidinas ("T") en SEQ ID NO: 14 por uridinas ("U") proporciona la secuencia de ARN.

SEQ ID NO: 15 es la secuencia de aminoácidos de la proteína NP de la cepa MP de LCMV.

SEQ ID NO: 16 es la secuencia de aminoácidos de la proteína GP de la cepa MP de LCMV.

- 15 SEQ ID NO: 17 es la secuencia de aminoácidos de la proteína L de la cepa MP de LCMV.

SEQ ID NO: 18 es la secuencia de aminoácidos de la proteína Z de la cepa MP de LCMV.

SEQ ID NO: 19 es el segmento L de la cepa Candid #1 del virus Junín, secuencia completa.

SEQ ID NO: 20 es el segmento S de la cepa Candid #1 del virus Junín, secuencia completa.

SEQ ID NO: 21 es la secuencia de aminoácidos de la proteína NP de la cepa Clon 13 de LCMV.

- 20 SEQ ID NO: 22 es la secuencia de aminoácidos de la proteína GP de la cepa Clon 13 de LCMV.

SEQ ID NO: 23 es la secuencia de aminoácidos de la proteína L de la cepa Clon 13 de LCMV.

SEQ ID NO: 24 es la secuencia de aminoácidos de la proteína Z de la cepa Clon 13 de LCMV

SEQ ID NO: 25 es la secuencia de aminoácidos de la proteína GP de la cepa WE de LCMV.

SEQ ID NO: 26 es la secuencia de nucleótidos del antígeno Hbe de HBV.

## 25 5. BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura 1: El genoma de los arenavirus de tipo salvaje consiste en un segmento de ARN corto (1; ~3,4 kb) y uno grande (2; ~7,2 kb). El segmento corto lleva ORF que codifican la nucleoproteína (3) y la glicoproteína (4). El segmento grande codifica la ARN polimerasa L dependiente de ARN (5) y la proteína de matriz Z (6). Los arenavirus de tipo salvaje pueden convertirse en vectores de vacunas deficientes en replicación eliminando el gen de la glicoproteína e insertando, en lugar del gen de la glicoproteína, antígenos de elección (7) contra los que se inducirán las respuestas inmunitarias.

- Figuras 2A-C: Representación esquemática de la organización genómica de LCMV bisegmentado y trisegmentado. El genoma bisegmentado del LCMV de tipo salvaje consiste en un segmento S que codifica la GP y la NP y un segmento L que codifica la proteína Z y la proteína L (A). Ambos segmentos están flanqueados por las respectivas UTR 5' y 3'.  
35 El genoma de los LCMV trisegmentados recombinantes (r3LCMV) consiste en un segmento L y dos S con una posición donde insertar un gen de interés (aquí GFP) en cada uno de los segmentos S. r3LCMV-GFP<sup>natural</sup> (nat) tiene todos los genes virales en su posición natural (B), mientras que el ORF de GP en r3LCMV-GFP<sup>artificial</sup> (art) se yuxtapone artificialmente y se expresa bajo el control de la UTR 3' (C).

- Figura 3: Células T CD8+ específicas del virus de la hepatitis B, expresadas como porcentaje del grupo total de células T CD8+B220- en sangre periférica de ratones C57BL/6 (5 ratones por grupo) diez días después de la inmunización intravenosa con 10<sup>5</sup> FFU de rLCMV/HBs-HBc (grupo 1), rLCMV/HBc (grupo 3), rLCMV/Pre-S2 (grupo 4), o con 10<sup>4</sup> FFU de rLCMV/HBs-HBc (grupo 2). Los ratones de control se dejaron sin tratar.

- Figura 4A-B: Células T CD8+ específicas del virus de la hepatitis B, expresadas como (A) un porcentaje del grupo total de células T CD8+B220- en sangre periférica o, (B) como un porcentaje de los linfocitos circulantes en la sangre, de ratones C57BL/6 (5 ratones por grupo) ocho días después de la inmunización intravenosa con 10<sup>5</sup> FFU de r3LCMV/HBs-HBc (grupo 1), r3LCMV/HBc (grupo 2), r3LCMV/Pre-S2 (grupo 3), o con 10<sup>5</sup> FFU de rLCMV/HBs-HBc (grupo 4). Los ratones de control se dejaron sin tratar.

## 6. DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La presente solicitud proporciona inmunoterapias para infecciones por el virus de la Hepatitis B. En la presente memoria se proporcionan composiciones y composiciones para uso en el tratamiento o prevención de la infección de un sujeto con HBV. Más específicamente, en la presente memoria se proporcionan arenavirus infecciosos que comprenden una secuencia de nucleótidos que codifica un antígeno del HBV. En ciertas realizaciones, el arenavirus infeccioso es deficiente en replicación. En ciertas realizaciones, el arenavirus infeccioso es competente para la replicación. Estos virus se pueden administrar a un sujeto para el tratamiento o prevención de la infección por HBV. La generación de vectores de arenavirus infecciosos para uso con la presente invención se describe con más detalle en la Sección 6.3.

En la presente memoria se proporciona un arenavirus modificado genéticamente, en donde el arenavirus: es infeccioso;

no puede formar un virus de progenie infeccioso en una célula no complementaria (es decir, una célula que no expresa la funcionalidad que falta en el arenavirus deficiente en replicación y hace que sea deficiente en replicación);

es capaz de replicar su genoma y expresar su información genética; y

codifica un antígeno del HBV o un fragmento del mismo.

Un arenavirus modificado genéticamente descrito en la presente memoria es infeccioso, es decir, puede unirse a una célula huésped y liberar su material genético en la célula huésped. Un arenavirus modificado genéticamente descrito en la presente memoria puede ser deficiente en replicación, es decir, el arenavirus es incapaz de producir partículas de progenie infecciosas adicionales en una célula que no se complementa. En particular, para crear un arenavirus deficiente en replicación, el genoma del arenavirus se modifica (p. ej., por eliminación o inactivación funcional de un ORF) de modo que un virus que lleva el genoma modificado ya no puede producir virus de progenie infecciosos. Una célula que no se complementa es una célula que no proporciona la funcionalidad que se eliminó del arenavirus deficiente en replicación mediante la modificación del genoma del virus (p. ej., si el ORF que codifica la proteína GP se elimina o se inactiva funcionalmente, la célula no proporciona la proteína GP). Sin embargo, un arenavirus deficiente en replicación modificado genéticamente proporcionado en la presente memoria es capaz de producir virus de progenie infecciosos en células complementarias. Las células complementarias son células que proporcionan (en trans) la funcionalidad que se ha eliminado del arenavirus deficiente en replicación mediante la modificación del genoma del virus (p. ej., si el ORF que codifica la proteína GP se elimina o se desactiva funcionalmente, una célula complementaria proporciona la proteína GP). La expresión de la funcionalidad complementaria (p. ej., la proteína GP) puede lograrse mediante cualquier método conocido por el experto en la técnica (p. ej., expresión transitoria o estable). Un arenavirus genéticamente modificado descrito en la presente memoria puede amplificar y expresar su información genética en una célula que ha sido infectada por el virus. Un arenavirus modificado genéticamente que se proporciona en la presente memoria comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un antígeno del HBV tal como, pero no limitado a, los antígenos del HBV descritos en la Sección 6.2.

En ciertas realizaciones, en la presente memoria se proporciona un arenavirus genéticamente modificado en donde se elimina o inactiva funcionalmente un ORF del genoma del arenavirus de manera que el virus resultante no puede producir más partículas de virus de progenie infecciosas en células que no se complementan. Una partícula de arenavirus que comprende un genoma modificado genéticamente en donde se elimina o inactiva funcionalmente un ORF se puede producir en células complementarias (es decir, en células que expresan el ORF de arenavirus que se ha eliminado o inactivado funcionalmente) (Véase la Sección 6.3). El material genético de las partículas de arenavirus resultantes puede transferirse tras la infección de una célula huésped a la célula huésped, en donde el material genético puede expresarse y amplificarse. Además, el genoma de las partículas de arenavirus modificadas genéticamente proporcionadas en la presente memoria codifica un antígeno del HBV que puede expresarse en la célula huésped.

En ciertas realizaciones, el ORF que codifica la glicoproteína (GP) del arenavirus se elimina para generar un arenavirus deficiente en replicación para uso con la presente invención. En una realización específica, el arenavirus deficiente en replicación comprende un segmento genómico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un antígeno del HBV. Por lo tanto, en ciertas realizaciones, una partícula de arenavirus modificada genéticamente proporcionada en la presente memoria comprende un segmento genómico que a) tiene una delección o inactivación funcional de un ORF que está presente en la forma de tipo salvaje del segmento genómico; y b) codifica (ya sea en sentido o antisentido) un antígeno de HBV (Véase la Sección 6.3).

En ciertas realizaciones, la secuencia de nucleótidos que se inserta en el genoma del arenavirus que codifica un antígeno del HBV o combinaciones de antígenos del HBV se selecciona entre:

a. una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma;

b. una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína HBc del HBV o un fragmento antigénico de la misma; y

c. una secuencia de nucleótidos que codifica una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigénicos

de las mismas;

y en donde un vector viral que comprende la secuencia de nucleótidos es capaz de provocar una respuesta de células T contra la proteína pre-S2/S del HBV, la proteína HBc del HBV, la fusión de proteínas HBs y HBc del HBV, o un fragmento antigénico de las mismas.

- 5 En ciertas realizaciones, el vector viral de arnavirus infeccioso es deficiente en replicación (Véase la Sección 6.1 (a)). En ciertas realizaciones, el vector viral de arnavirus infeccioso es competente para la replicación (Véase la Sección 6.1 (b))

En la Sección 6.2 se proporciona una descripción detallada de los antígenos descritos en la presente memoria.

- 10 En ciertas realizaciones, los arnavirus usados de acuerdo con la invención descrita en la presente memoria pueden ser virus del Viejo Mundo, por ejemplo, el virus de la coriomeningitis linfocítica (LCMV). En la Sección 6.1 se proporciona una descripción más detallada de los arnavirus descritos en la presente memoria. En ciertas realizaciones, los arnavirus usados de acuerdo con la invención descrita en la presente memoria pueden ser virus del Nuevo Mundo.

- 15 En la presente memoria se proporcionan ácidos nucleicos que comprenden el genoma de dichos arnavirus deficientes en replicación. En ciertos aspectos, una partícula de arnavirus infecciosa deficiente en replicación comprende un segmento genómico que comprende una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3.

- 20 En la presente memoria se proporciona un plásmido de expresión que codifica uno o más componentes necesarios para la generación de un vector viral descrito en la presente memoria. Específicamente, en la presente memoria se proporciona un vector de expresión que codifica un segmento S de LCMV en donde el ORF para la proteína GP se ha eliminado del segmento S y se ha reemplazado con el ORF de la proteína pre-S2/S del HBV humano (p. ej., que tiene un amino secuencia de ácido codificada por la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 1 o una secuencia de aminoácidos que es 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntico a una secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 1).

- 25 En la presente memoria se proporciona un plásmido de expresión que codifica uno o más componentes necesarios para la generación de un vector viral descrito en la presente memoria. Específicamente, en la presente memoria se proporciona un vector de expresión que codifica un segmento S de LCMV en donde el ORF para la proteína GP se ha eliminado del segmento S y se ha reemplazado con el ORF de la proteína HBc del HBV humano (p. ej., que tiene una secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 2 o una secuencia de aminoácidos que es 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntico a una secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 2).

- 35 En la presente memoria se proporciona un plásmido de expresión que codifica uno o más componentes necesarios para la generación de un vector viral descrito en la presente memoria. Específicamente, en la presente memoria se proporciona un vector de expresión que codifica un segmento S de LCMV en donde el ORF para la proteína GP se ha eliminado del segmento S y se ha reemplazado con el ORF de HBs del HBV humano y el ORF de HBc del HBV humano (p. ej., que tiene una secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 3 o una secuencia de aminoácidos que es 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntico a una secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO : 3).

- 40 En la presente memoria se proporcionan kits que comprenden uno o dos de los plásmidos de vector descritos en la presente memoria. En ciertas realizaciones, en la presente memoria se proporciona un kit que comprende a) un plásmido de expresión que comprende la secuencia de nucleótidos del segmento S de un vector LCMV; b) un plásmido de expresión que comprende la secuencia de nucleótidos del segmento L de un vector LCMV; y c) un plásmido de expresión que codifica la funcionalidad complementaria. En una realización específica, en la presente memoria se proporciona un kit que comprende a) un vector de expresión que comprende la secuencia de nucleótidos de un segmento S de LCMV en donde el ORF para la proteína GP se ha eliminado del segmento S y se ha reemplazado con el ORF del HBV humano proteína pre-S2/S (p. ej., que tiene una secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 1 o una secuencia de aminoácidos que es 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntico a un aminoácido secuencia codificada por la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 1); b) un plásmido de expresión que comprende la secuencia de nucleótidos del segmento L de un vector LCMV; y c) un plásmido de expresión que codifica la proteína GP de LCMV (o una línea celular que expresa la proteína GP de LCMV).

- 55 En la presente memoria se proporcionan kits que comprenden uno o dos de los plásmidos de vector descritos en la presente memoria. En ciertas realizaciones, en la presente memoria se proporciona un kit que comprende a) un plásmido de expresión que comprende la secuencia de nucleótidos del segmento S de un vector LCMV; b) un plásmido de expresión que comprende la secuencia de nucleótidos del segmento L de un vector LCMV; y c) un plásmido de expresión que codifica la funcionalidad complementaria. En una realización específica, en la presente memoria se

proporciona un kit que comprende a) un vector de expresión que comprende la secuencia de nucleótidos de un segmento S de LCMV en donde el ORF para la proteína GP se ha eliminado del segmento S y se ha reemplazado con el ORF del HBV humano Proteína HBc (p. ej., que tiene una secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 2 o una secuencia de aminoácidos que es 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a una secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 2); b) un plásmido de expresión que comprende la secuencia de nucleótidos del segmento L de un vector LCMV; yc) un plásmido de expresión que codifica la proteína GP de LCMV (o una línea celular que expresa la proteína GP de LCMV).

En la presente memoria se proporcionan kits que comprenden uno o dos de los plásmidos de vector descritos en la presente memoria. En ciertas realizaciones, en la presente memoria se proporciona un kit que comprende a) un plásmido de expresión que comprende la secuencia de nucleótidos del segmento S de un vector LCMV; b) un plásmido de expresión que comprende la secuencia de nucleótidos del segmento L de un vector LCMV; yc) un plásmido de expresión que codifica la funcionalidad complementaria. En una realización específica, en la presente memoria se proporciona un kit que comprende a) un vector de expresión que comprende la secuencia de nucleótidos de un segmento S de LCMV en donde el ORF para la proteína GP se ha eliminado del segmento S y se ha reemplazado con el ORF del HBV humano HBs y el ORF del HBV humano HBc (p. ej., que tiene una secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 3 o una secuencia de aminoácidos que es 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntico a una secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 3); b) un plásmido de expresión que comprende la secuencia de nucleótidos del segmento L de un vector LCMV; yc) un plásmido de expresión que codifica la proteína GP de LCMV (o una línea celular que expresa la proteína GP de LCMV).

También se proporcionan en la presente memoria líneas celulares, cultivos y métodos de cultivo de células infectadas con ácidos nucleicos, vectores y composiciones proporcionadas aquí. En la Sección 6.4 se proporciona una descripción más detallada de los ácidos nucleicos, los sistemas de vectores y las líneas celulares descritos en la presente memoria.

En un aspecto, en la presente memoria se proporcionan tales arenavirus genéticamente modificados deficientes en replicación adecuados como vacunas y dichos arenavirus para uso en vacunación y tratamiento o prevención de infecciones por HBV. En la Sección 6.5 se proporciona una descripción más detallada de los métodos de uso de dichos arenavirus descritos en la presente memoria.

En ciertas realizaciones, la inmunización con un arenavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o un fragmento del mismo, como se describe en la presente memoria, proporciona una respuesta inmunitaria de larga duración. En ciertas realizaciones, los niveles máximos de anticuerpos se pueden lograr después de dos inmunizaciones. En otra realización, se puede administrar una tercera inmunización para un efecto de refuerzo. En realizaciones más específicas, en la presente memoria se proporcionan programas de administración que utilizan el arenavirus infeccioso en una vacunación para el tratamiento y/o prevención de infecciones por HBV. En la Sección 6.6 se proporciona una descripción más detallada de los programas de administración utilizando un arenavirus infeccioso como se describe en la presente memoria. En ciertas realizaciones, el vector viral de arenavirus infeccioso es deficiente en replicación (Véase la Sección 6.1 (a)). En ciertas realizaciones, el vector viral de arenavirus infeccioso es competente para la replicación (Véase la Sección 6.1 (b)).

En ciertas realizaciones, la administración a un sujeto seronegativo de un arenavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o un fragmento del mismo, como se describe en la presente memoria, induce un título de anticuerpos detectables durante un mínimo de al menos 4 semanas. En otra realización, la administración a un sujeto infectado con una infección por HBV de un arenavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o un fragmento del mismo, como se describe en la presente memoria, aumenta el título de anticuerpos en al menos aproximadamente 100 %, al menos aproximadamente 200 %, al menos aproximadamente 300 %, al menos 400%, al menos 500% o al menos 1000%. En ciertas realizaciones, la exposición al antígeno primario, mediante la primera inmunización con un arenavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV, provoca un título de anticuerpos funcional, (neutralizante) y mínimo de al menos 50 %, al menos 100 %, al menos 200 %, al menos 300 %, al menos el 400%, al menos el 500% o al menos el 1000% de la media de sueros de control de sujetos humanos inmunes a la infección. En realizaciones más específicas, el título de anticuerpos de la media geométrica neutralizante primaria aumenta hasta un valor máximo de al menos 1:50, al menos 1:100, al menos 1:200 o al menos 1:1000 dentro de al menos 4 semanas después de la inmunización. En otra realización, la inmunización con un arenavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o un fragmento del mismo, como se describe en la presente memoria, produce títulos elevados de anticuerpos que duran al menos 4 semanas, al menos 8 semanas, al menos 12 semanas, al menos 6 meses, al menos 12 meses, al menos 2 años, al menos 3 años, al menos 4 años o al menos 5 años después de la inmunización después de una sola administración de la vacuna. En ciertas realizaciones, el vector viral de arenavirus infeccioso es deficiente en replicación (Véase la Sección 6.1 (a)). En ciertas realizaciones, el vector viral de arenavirus infeccioso es competente para la replicación (Véase la Sección 6.1 (b)).

En aún otra realización, la exposición al antígeno secundario mediante una segunda inmunización con un arenavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o un fragmento del mismo aumenta el título de anticuerpos en al menos aproximadamente 100 %, al menos aproximadamente 200 %, al menos aproximadamente 300 %, al menos

aproximadamente 400 %, al menos 500%, o al menos 1000%. En otra realización, la exposición al antígeno secundario provoca un título de anticuerpos funcional, (neutralizante) y mínimo de al menos el 50 %, al menos el 100 %, al menos el 200 %, al menos el 300 %, al menos el 400 %, al menos el 500 %, o al menos el 1000 % de los sueros de control medios de sujetos humanos inmunes a la infección. En realizaciones más específicas, el título de anticuerpos neutralizantes medios geométricos secundarios aumenta hasta un valor máximo de al menos 1:50, al menos 1:100, al menos 1:200 o al menos 1:1000 dentro de al menos 4 semanas después de la inmunización. En otra realización, una segunda inmunización con un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o un fragmento del mismo, como se describe en la presente memoria, produce altos títulos de anticuerpos que duran al menos 4 semanas, al menos 8 semanas, al menos 12 semanas, al menos 6 meses. , al menos 12 meses, al menos 2 años, al menos 3 años, al menos 4 años o al menos 5 años después de la inmunización. En ciertas realizaciones, el vector viral de arnavirus infeccioso es deficiente en replicación (Véase la Sección 6.1 (a)). En ciertas realizaciones, el vector viral de arnavirus infeccioso es competente para la replicación (Véase la Sección 6.1 (b)).

En aún otra realización, una tercera inmunización de refuerzo aumenta el título de anticuerpos en al menos aproximadamente 100 %, al menos aproximadamente 200 %, al menos aproximadamente 300 %, al menos aproximadamente 400 %, al menos aproximadamente 500 % o al menos aproximadamente 1000 %. En otra realización, la inmunización de refuerzo provoca un título de anticuerpos funcional, (neutralizante) y mínimo de al menos 50 %, al menos 100 %, al menos 200 %, al menos 300 %, al menos 400 %, al menos 500 %, o al menos el 1000 % de los sueros de control medios de sujetos humanos inmunes a la infección. En realizaciones más específicas, el título de anticuerpos de la media geométrica neutralizante después de la tercera inmunización de refuerzo aumenta hasta un valor máximo de al menos 1:50, al menos 1:100, al menos 1:200 o al menos 1:1000 dentro de al menos 4 semanas después de la vacunación. En otra realización, una tercera inmunización de refuerzo prolonga el título de anticuerpos en al menos 4 semanas, al menos 8 semanas, al menos 12 semanas, al menos 6 meses, al menos 12 meses, al menos 2 años, al menos 3 años, al menos 4 años, o al menos 5 años después de la inmunización.

En ciertas realizaciones, el arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o un fragmento del mismo provoca una respuesta independiente de células T o dependiente de células T. En otras realizaciones, el arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o un fragmento del mismo provoca una respuesta de células T. En otras realizaciones, el arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o un fragmento del mismo, como se describe en la presente memoria, provoca una respuesta auxiliar T. En otra realización, el arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o un fragmento del mismo, como se describe en la presente memoria, provoca una respuesta orientada a Th1 o una respuesta orientada a Th2. En ciertas realizaciones, el vector viral de arnavirus infeccioso es deficiente en replicación (Véase la Sección 6.1 (a)). En ciertas realizaciones, el vector viral de arnavirus infeccioso es competente para la replicación (Véase la Sección 6.1 (b)).

En realizaciones más específicas, la respuesta orientada a Th1 se indica mediante un predominio de anticuerpos IgG1 frente a IgG2. En otras realizaciones, la relación de IgG1:IgG2 es superior a 1:1, superior a 2:1, superior a 3:1 o superior a 4:1. En otra realización, el arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o un fragmento del mismo, como se describe en la presente memoria, se indica mediante un predominio de anticuerpos IgG3. En ciertas realizaciones, el vector viral de arnavirus infeccioso es deficiente en replicación (Véase la Sección 6.1 (a)). En ciertas realizaciones, el vector viral de arnavirus infeccioso es competente para la replicación (Véase la Sección 6.1 (b)).

En algunas realizaciones, el arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o un fragmento del mismo provoca una respuesta de células T CD8+. En otras realizaciones, el arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o un fragmento del mismo provoca una respuesta de células T reguladoras. En realizaciones más específicas, la respuesta de las células T reguladoras mantiene la tolerancia inmunitaria. En otra realización, el arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o un fragmento del mismo provoca respuestas de células T CD4+ y CD8+. En ciertas realizaciones, el vector viral de arnavirus infeccioso es deficiente en replicación (Véase la Sección 6.1 (a)). En ciertas realizaciones, el vector viral de arnavirus infeccioso es competente para la replicación (Véase la Sección 6.1 (b)).

En ciertas realizaciones, el arnavirus infeccioso que expresa uno o más antígenos del HBV o fragmentos de los mismos, como se describe en la presente memoria, provoca títulos elevados de anticuerpos neutralizantes. En otra realización, el arnavirus infeccioso que expresa dos o más antígenos del HBV o fragmentos de los mismos, como se describe en la presente memoria, provoca títulos más elevados de anticuerpos neutralizantes que la expresión de los componentes del complejo proteico individualmente. En ciertas realizaciones, el vector viral de arnavirus infeccioso es deficiente en replicación (Véase la Sección 6.1 (a)). En ciertas realizaciones, el vector viral de arnavirus infeccioso es competente para la replicación (Véase la Sección 6.1 (b)).

En otras realizaciones, dos o más arnavirus infecciosos que expresan un antígeno del HBV provocan títulos elevados de anticuerpos neutralizantes. En una realización más específica, dos o más arnavirus infecciosos que expresan un antígeno del HBV provocan títulos más elevados de anticuerpos neutralizantes que un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o un fragmento del mismo. En ciertas realizaciones, el vector viral de arnavirus infeccioso es deficiente en replicación (Véase la Sección 6.1 (a)). En ciertas realizaciones, el vector viral de arnavirus infeccioso es competente para la replicación (Véase la Sección 6.1 (b)).

En otra realización, el arnavirus infeccioso que expresa dos, tres, cuatro, cinco o más antígenos de HBV provoca títulos más elevados de anticuerpos neutralizantes que un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno de HBV o

un fragmento del mismo. En ciertas realizaciones, el vector viral de arnavirus infeccioso es deficiente en replicación (Véase la Sección 6.1 (a)). En ciertas realizaciones, el vector viral de arnavirus infeccioso es competente para la replicación (Véase la Sección 6.1 (b)).

### 6.1 Vectores de arnavirus que expresan un antígeno del HBV

- 5 Los arnavirus para uso con los métodos y composiciones proporcionados en la presente memoria pueden ser virus del Viejo Mundo, por ejemplo, virus Lassa, virus de la coriomeningitis linfocítica (LCMV), virus Mobala, virus Mopeia o virus Ippy, o virus del Nuevo Mundo, por ejemplo, virus Amapari, virus Flexal, virus Guanarito, virus Junín, virus Latino, virus Machupo, virus Oliveros, virus Paraná, virus Pichinde, virus Pirital, virus Sabia, virus Tacaribe, virus Tamiami, virus Bear Canyon o virus Whitewater Arroyo. El arnavirus genéticamente modificado se puede generar como se describe en la Sección 6.3.

El genoma del arnavirus de tipo salvaje consiste en un segmento de ARN corto (~3,4 kb) y uno grande (~7,2 kb). El segmento corto lleva los ORF que codifican los genes de la nucleoproteína NP y la glicoproteína GP. El segmento grande comprende los genes de la ARN polimerasa L dependiente de ARN y de la proteína de matriz Z.

#### (a) Vectores de arnavirus deficiente en replicación

- 15 En ciertas realizaciones, el vector de arnavirus es un vector de arnavirus bisegmentado, deficiente en replicación. En ciertas realizaciones, el vector de arnavirus es un vector de arnavirus trisegmentado deficiente en replicación. Los arnavirus de tipo salvaje pueden volverse deficientes en la replicación para generar vectores de vacuna sustituyendo el gen de la glicoproteína por uno o más antígenos del HBV, contra los cuales se van a inducir las respuestas inmunitarias.

- 20 Los vectores de arnavirus infecciosos que expresan un antígeno de HBV, o una combinación de antígenos de HBV como se describe en la presente memoria, se pueden usar para inmunizar (de manera preventiva) o tratar (de manera inmunoterapéutica) a sujetos contra la infección por HBV. En una realización específica, se usa una combinación de HBs y HBc.

- 25 Se sabe que la enfermedad por arnavirus y la inmunosupresión en la infección por arnavirus de tipo salvaje son el resultado de una replicación viral no controlada. Al abolir la replicación, es decir, la capacidad de producir partículas de virus de progenie infecciosas, de los vectores de arnavirus eliminando de su genoma, por ejemplo, el gen Z que se requiere para la liberación de partículas, o el gen GP que se requiere para la infección de células diana, el número total de células infectadas puede estar limitado por el inóculo administrado, por ejemplo, a un receptor de la vacuna, o puede transmitirse accidentalmente al personal involucrado en aplicaciones médicas o biotecnológicas, o a los animales. Por lo tanto, la supresión de la replicación de los vectores de arnavirus evita la patogenia como resultado de la transmisión intencionada o accidental de partículas de vectores. Provisto aquí, un aspecto importante consiste en explotar la necesidad anterior de abolición de la replicación de una manera beneficiosa con el propósito de expresar un antígeno del HBV. En ciertas realizaciones, una partícula de arnavirus se vuelve deficiente en replicación mediante la modificación genética de su genoma. Tales modificaciones al genoma pueden incluir:

- 35 eliminación de un ORF (p. ej., el ORF que codifica la proteína GP, NP, L o Z);  
inactivación funcional de un ORF (p. ej., el ORF que codifica la proteína GP, NP, L o Z).

Por ejemplo, esto se puede lograr introduciendo una mutación de sentido contrario o sin sentido;

cambio de la secuencia del ORF (p. ej., el intercambio de un sitio de corte SIP con el sitio de corte de otra proteasa);

mutagénesis de uno de los terminales 5' o 3' de uno de los segmentos genómicos;

- 40 mutagénesis de una región intergénica (es decir, del segmento genómico L o S).

En ciertas realizaciones, un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV descrito en la presente memoria es un virus de la coriomeningitis linfocítica (LCMV) en donde el segmento S del virus se modifica sustituyendo el ORF que codifica la proteína GP con un ORF que codifica un antígeno del HBV.

- 45 En ciertas realizaciones, se puede modificar un genoma de vector de arnavirus de tipo salvaje (FIG. 1) para retener al menos los elementos reguladores esenciales en las regiones no traducidas (UTR) 5' y 3' de ambos segmentos y/o también las regiones intergénicas (IGR). Sin estar ligado a la teoría, los factores de transacción mínimos para la expresión génica en las células infectadas permanecen en el genoma del vector como ORF que se pueden expresar, pero se pueden colocar de manera diferente en el genoma y se pueden colocar bajo el control de un promotor diferente al natural, o puede expresarse a partir de sitios de entrada de ribosomas internos. En ciertas realizaciones, el ácido nucleico que codifica un antígeno del HBV se transcribe a partir de uno de los promotores de arnavirus endógenos (es decir, UTR 5', UTR 3' del segmento S, UTR 5', UTR 3' del segmento L). En otras realizaciones, el ácido nucleico que codifica un antígeno del HBV se expresa a partir de secuencias promotoras heterólogas introducidas que pueden ser leídas por la ARN polimerasa dependiente de ARN viral, por la ARN polimerasa I celular, la ARN polimerasa II o la ARN polimerasa III, como duplicaciones de secuencias de promotores virales que se encuentran naturalmente en

las UTR virales, el promotor de ARN ribosomal 28S, el promotor de beta-actina o el promotor de ARN ribosomal 5S, respectivamente. En ciertas realizaciones, los ácidos ribonucleicos que codifican antígenos del HBV se transcriben y traducen por sí mismos o como lectura mediante fusión a ORF de proteína de arnavirus, y la expresión de proteínas en la célula huésped puede mejorarse introduciendo en la secuencia de transcripción viral en los uno o más lugares apropiados, p. ej., dos, tres o cuatro sitios internos de entrada al ribosoma.

En ciertas realizaciones, para uso con las composiciones y métodos proporcionados en la presente memoria, hay una partícula de arnavirus trisegmentada que comprende un segmento L y dos segmentos S en donde (i) un ORF está en una posición diferente a la posición de tipo salvaje del ORF; y (ii) se ha eliminado o inactivado funcionalmente un ORF que codifica GP o NP, de manera que el virus resultante no puede producir más partículas de virus de progenie infecciosas. En una realización específica, se elimina un ORF y se reemplaza con un ORF heterólogo (p. ej., que codifica un antígeno del HBV) de un organismo distinto de un arnavirus. En otra realización específica, se eliminan dos ORF y se reemplazan con un ORF heterólogo de un organismo distinto de un arnavirus. En otras realizaciones específicas, se eliminan tres ORF y se reemplazan con un ORF heterólogo (p. ej., que codifica un antígeno del HBV) de un organismo distinto de un arnavirus. En realizaciones específicas, el ORF que codifica GP se elimina y se reemplaza con un ORF heterólogo (p. ej., que codifica un antígeno del HBV) de un organismo distinto de un arnavirus. En otras realizaciones específicas, el ORF que codifica NP se elimina y se reemplaza con un ORF heterólogo (p. ej., que codifica un antígeno del HBV) de un organismo distinto de un arnavirus. En realizaciones aún más específicas, el ORF que codifica el NP y el ORF que codifica la GP se eliminan y reemplazan con uno o dos ORF heterólogos (p. ej., que codifica uno o dos antígenos del HBV) de un organismo que no sea una partícula de arnavirus. Por lo tanto, en ciertas realizaciones, la partícula de arnavirus trisegmentada comprende (i) un segmento L y dos segmentos S; (ii) un ORF en una posición distinta de la posición de tipo salvaje del ORF; (iii) uno o más ORF heterólogos (p. ej., que codifican uno o más antígenos del HBV) de un organismo distinto de un arnavirus.

En ciertas realizaciones, para uso con las composiciones y métodos proporcionados en la presente memoria, hay una partícula de arnavirus trisegmentada que comprende dos segmentos L y un segmento S en la que (i) un ORF está en una posición diferente a la posición de tipo salvaje del ORF; y (ii) un ORF que codifica la proteína Z, y/o la proteína L se ha eliminado o inactivado funcionalmente, de modo que el virus resultante no puede producir más partículas virales descendientes infecciosas. En una realización específica, se elimina un ORF y se reemplaza con un ORF heterólogo (p. ej., que codifica un antígeno del HBV) de un organismo distinto de un arnavirus. En otra realización específica, se eliminan dos ORF y se reemplazan con un ORF heterólogo (p. ej., que codifica un antígeno del HBV) de un organismo distinto de un arnavirus. En realizaciones específicas, el ORF que codifica la proteína Z se elimina y se reemplaza con un ORF heterólogo (p. ej., que codifica un antígeno del HBV) de un organismo distinto de un arnavirus. En otras realizaciones específicas, el ORF que codifica la proteína L se elimina y se reemplaza con un ORF heterólogo (p. ej., que codifica un antígeno del HBV) de un organismo distinto de un arnavirus. En realizaciones aún más específicas, el ORF que codifica la proteína Z y el ORF que codifica la proteína L se eliminan y reemplazan con un ORF heterólogo (p. ej., que codifica un antígeno del HBV) de un organismo distinto de una partícula de arnavirus. Por lo tanto, en ciertas realizaciones, la partícula de arnavirus trisegmentada comprende (i) dos segmentos L y un segmento S; (ii) un ORF en una posición distinta de la posición de tipo salvaje del ORF; (iii) un ORF heterólogo (p. ej., que codifica un antígeno del HBV) de un organismo distinto de un arnavirus.

Por lo tanto, en ciertas realizaciones, la partícula de arnavirus trisegmentada para uso con las composiciones y métodos proporcionados en la presente memoria comprende una partícula de arnavirus trisegmentada (es decir, un segmento L y dos segmentos S o dos segmentos L y un segmento S) que i) está modificado para transportar un ORF en una posición no natural; ii) se elimina un ORF que codifica GP, NP, proteína Z o proteína L; iii) el ORF que se extrae se reemplaza con uno o más ORF heterólogos (p. ej., que codifican uno o más antígenos del HBV) de un organismo distinto de un arnavirus.

En ciertas realizaciones, el vector generado para codificar uno o más antígenos de HBV puede basarse en una cepa específica de LCMV. Las cepas de LCMV incluyen Clon 13, cepa MP, Arm CA 1371, Arm E-250, WE, UBC, Traub, Pasteur, 810885, CH-5692, Marseille #12, HP65-2009, 200501927, 810362, 811316, 810316, 810366, 20112714, Douglas, GR01, SN05, CABN y sus derivados. En ciertas realizaciones, el vector generado para codificar uno o más antígenos de HBV puede basarse en el Clon 13 de LCMV. En otras realizaciones, el vector generado para codificar uno o más antígenos de HBV puede basarse en la cepa MP de LCMV. La secuencia del segmento S del Clon 13 de LCMV se enumera como SEQ ID NO: 12. En ciertas realizaciones, la secuencia del segmento S del Clon 13 de LCMV es la secuencia establecida en SEQ ID NO: 11. La secuencia del L El segmento del clon 13 de LCMV se enumera como SEQ ID NO: 7. La secuencia del segmento S de la cepa MP de LCMV se enumera como SEQ ID NO: 14. La secuencia del segmento L de la cepa MP de LCMV se enumera como SEQ ID NO: 13

En ciertas realizaciones, el vector generado para codificar uno o más antígenos del HBV puede basarse en una cepa específica del virus Junín. Las cepas del virus Junín incluyen las cepas vacunales XJ13, XJ#44 y Candid#1, así como IV4454, un aislado humano. En ciertas realizaciones, el vector generado para codificar uno o más antígenos del HBV se basa en la cepa Candid #1 del virus Junín.

En ciertas realizaciones, una partícula de arnavirus infecciosa deficiente en replicación en el contexto de la invención comprende una secuencia de nucleótidos o un fragmento de la misma seleccionado de SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, o una combinación de los mismos.



En ciertas realizaciones, se describe en la presente memoria una partícula de arnavirus infecciosa con deficiencia de replicación que comprende una secuencia de nucleótidos, o una combinación de secuencias de nucleótidos, seleccionada del grupo que consiste en:

- una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína pre-S2/S del virus de la Hepatitis B o un fragmento antigénico de la misma;
- una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína HBc del virus de la hepatitis B o un fragmento antigénico de la misma; y
- una secuencia de nucleótidos que codifica una fusión de proteínas HBs y HBc del virus de la hepatitis B o fragmentos antigénicos de las mismas;

y donde la partícula de arnavirus es capaz de provocar una respuesta de células T contra la proteína pre-S2/S del HBV, la proteína HBc, la fusión de proteínas HBs y HBc del HBV, o un fragmento antigénico de las mismas.

En ciertas realizaciones, el vector de arnavirus infeccioso deficiente en replicación está trisegmentado.

#### **(b) Vectores de arnavirus trisegmentados competentes para la replicación**

En ciertas realizaciones, para uso con las composiciones y métodos proporcionados en la presente memoria es un vector de arnavirus trisegmentado, competente para la replicación. En ciertas realizaciones, el vector de arnavirus es una partícula de arnavirus trisegmentada que comprende un segmento L y dos segmentos S o dos segmentos L y un segmento S que no se recombina en una partícula de arnavirus bisegmentada competente para la replicación.

En ciertas realizaciones, un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV para su uso con las composiciones y los métodos descritos en la presente memoria se modifica para llevar un ORF viral en una posición distinta de la posición de tipo salvaje del ORF. En algunas realizaciones, el segmento genómico de arnavirus se selecciona del grupo que consiste en: (i) un segmento S, en donde el ORF que codifica la NP está bajo el control de una UTR 5' de arnavirus; (ii) un segmento S, en donde el ORF que codifica la proteína Z está bajo el control de una UTR 5' de arnavirus; (iii) un segmento S, en donde el ORF que codifica la proteína L está bajo el control de una UTR 5' de arnavirus; (iv) un segmento S, en donde el ORF que codifica la GP está bajo el control de una UTR 3' de arnavirus; (v) un segmento S, en donde el ORF que codifica la proteína L está bajo el control de una UTR 3' de arnavirus; (vi) un segmento S, en donde el ORF que codifica la proteína Z está bajo el control de una UTR 3' de arnavirus; (vii) un segmento L, en donde el ORF que codifica la GP está bajo el control de una UTR 5' de arnavirus; (viii) un segmento L, en donde el ORF que codifica la NP está bajo el control de una UTR 5' de arnavirus; (ix) un segmento L, en donde el ORF que codifica la proteína L está bajo el control de una UTR 5' de arnavirus; (x) un segmento L, en donde el ORF que codifica la GP está bajo el control de una UTR 3' de arnavirus; (xi) un segmento L, en donde el ORF que codifica la NP está bajo el control de una UTR 3' de arnavirus; y (xii) un segmento L, en donde el ORF que codifica la proteína Z está bajo el control de una UTR 3' de arnavirus.

En algunas realizaciones, la UTR 3' de arnavirus es la UTR 3' del segmento S de arnavirus o del segmento L de arnavirus. En ciertas realizaciones, la UTR 5' de arnavirus es la UTR 5' del segmento S de arnavirus o el segmento L de arnavirus.

Para su uso con las composiciones y métodos, en la presente memoria se proporcionan partículas de arnavirus trisegmentadas con reordenamientos de sus ORF. En un aspecto, para su uso con las composiciones y métodos, se proporciona en la presente memoria una partícula de arnavirus trisegmentada que comprende un segmento L y dos segmentos S o dos segmentos L y un segmento S. En ciertas realizaciones, la partícula de arnavirus trisegmentada no se recombina en una partícula de arnavirus bisegmentada competente para la replicación. En realizaciones específicas, la partícula de arnavirus trisegmentada comprende un ORF en una posición distinta de la posición de tipo salvaje del ORF. En otra realización específica más, la partícula de arnavirus trisegmentada comprende los cuatro ORF de arnavirus. Por lo tanto, en ciertas realizaciones, la partícula de arnavirus trisegmentada es competente para la replicación e infecciosa. La Figura 2 muestra representaciones esquemáticas de ejemplo de la organización genómica de un vector LCMV trisegmentado competente para la replicación (Figs. 2B-C). La Figura 2C muestra una representación esquemática de ejemplo de la organización genómica del vector LCMV trisegmentado competente para la replicación que no puede recombinarse en una partícula de arnavirus bisegmentada competente para la replicación. En comparación, la Figura 2A muestra el vector LCMV bisegmentado de tipo salvaje.

En ciertas realizaciones, el ORF que codifica la proteína GP, NP, Z o la proteína L de la partícula de arnavirus trisegmentada descrita en la presente memoria puede estar bajo el control de una UTR 3' de arnavirus o una UTR 5' de arnavirus. En realizaciones más específicas, la UTR 3' trisegmentada de arnavirus es la UTR 3' de uno o más segmentos S de arnavirus. En otra realización específica, la UTR 3' trisegmentada de arnavirus es la UTR 3' de uno o más segmentos L de arnavirus. En realizaciones más específicas, la UTR 5' trisegmentada de arnavirus es la UTR 5' de uno o más segmentos S de arnavirus. En otras realizaciones específicas, la UTR 5' es la UTR 5' de uno o más segmentos L de arnavirus.

En otras realizaciones, el ORF que codifica la proteína GP, NP, Z o la proteína L de una partícula de arnavirus

trisegmentada descrita en la presente memoria puede estar bajo el control del elemento de secuencia terminal conservado de arenavirus (las regiones de 19-20 nt de los terminales 5' y 3') (véase p. ej., Pérez & de la Torre, 2003, J Virol. 77(2): 1184-1194).

En ciertas realizaciones, el ORF que codifica la proteína GP, NP, Z o la proteína L de la partícula de arenavirus trisegmentada puede estar bajo el control del elemento promotor de la UTR 5' (véase p. ej., Albariño et al., 2011, J Virol., 85(8):4020-4). En otra realización, el ORF que codifica GP, NP, proteína Z, proteína L de la partícula de arenavirus trisegmentada puede estar bajo el control del elemento promotor de la UTR 3' (véase p. ej., Albariño et al., 2011, J Virol., 85(8):4020-4). En realizaciones más específicas, el elemento promotor de la UTR 5' es el elemento promotor de la UTR 5' del segmento o segmentos S o L. En otra realización específica, el elemento promotor de la UTR 3' es el elemento promotor de la UTR 3' del segmento o segmentos S o del segmento o segmentos L.

En ciertas realizaciones, el ORF que codifica la proteína GP, NP, Z o la proteína L de la partícula de arenavirus trisegmentada puede estar bajo el control de una UTR 3' de arenavirus truncada o una UTR 5' de arenavirus truncada (véase p. ej., Pérez & de la Torre, 2003, J Virol. 77(2): 1184-1194; Albariño et al., 2011, J Virol., 85(8):4020-4). En realizaciones más específicas, la UTR 3' truncada es la UTR 3' del segmento S o L del arenavirus. En realizaciones más específicas, la UTR 5' truncada es la UTR 5' del segmento(s) S o segmento(s) L de arenavirus.

En un aspecto, para su uso con las composiciones y métodos, se proporciona en la presente memoria una partícula de arenavirus trisegmentada que comprende un segmento L y dos segmentos S. En ciertas realizaciones, la propagación de la partícula de arenavirus trisegmentada que comprende un segmento L y dos segmentos S no da como resultado una partícula viral bisegmentada competente para la replicación. En realizaciones específicas, la propagación de la partícula de arenavirus trisegmentada que comprende un segmento L y dos segmentos S no da como resultado una partícula viral bisegmentada competente para la replicación después de al menos 10 días, al menos 20 días, al menos 30 días, al menos 40 días, al menos 50 días, al menos 60 días, al menos 70 días, al menos 80 días, al menos 90 días o al menos 100 días de infección persistente en ratones que carecen de receptor de interferón tipo I, receptor de interferón tipo II y gen activador de la recombinación (RAG1), y haber sido infectado con  $10^4$  UFP de la partícula de arenavirus trisegmentada. En otras realizaciones, la propagación de la partícula de arenavirus trisegmentada que comprende un segmento L y dos segmentos S no da como resultado una partícula viral bisegmentada competente para la replicación después de al menos 10 pases, al menos 20 pases, al menos 30 pases, en al menos 40 pases, o al menos 50 pases.

La partícula de arenavirus trisegmentada con todos los genes virales en su respectiva posición de tipo salvaje es conocida en la técnica. (p. ej., Emonet et al., 2011 J. Virol., 85(4):1473; Popkin et al., 2011, J. Virol., 85(15):7928). En particular, el genoma de arenavirus trisegmentado consiste en un segmento L y dos segmentos S, en el que un ORF heterólogo (p. ej., a GFP) se inserta en una posición en cada segmento S. Más específicamente, un segmento S codifica GP y GFP, respectivamente. El otro segmento S codifica GFP y NP, respectivamente. El segmento L codifica la proteína L y la proteína Z. Todos los segmentos están flanqueados por las respectivas UTR 5' y 3'.

En ciertas realizaciones, la recombinación intersegmentaria de los dos segmentos S de la partícula de arenavirus trisegmentada para uso con las composiciones y métodos proporcionados en la presente memoria, que une los dos ORF de arenavirus en uno en lugar de dos segmentos separados, da como resultado un promotor no funcional. (es decir, un segmento genómico de la estructura: UTR 5'-----UTR 5' o una UTR 3'-----UTR 3'), en donde cada UTR que forma un extremo del genoma es una secuencia repetida invertida del otro extremo del mismo genoma.

En ciertas realizaciones, la partícula de arenavirus trisegmentada que comprende un segmento L y dos segmentos S se ha modificado para llevar un ORF de arenavirus en una posición distinta de la posición de tipo salvaje del ORF. En otras realizaciones, la partícula de arenavirus trisegmentada que comprende un segmento L y dos segmentos S se ha modificado para transportar dos ORF de arenavirus, o tres ORF de arenavirus, o cuatro ORF de arenavirus, o cinco ORF de arenavirus, o seis ORF de arenavirus en una posición diferente que la posición de tipo salvaje. En realizaciones específicas, la partícula de arenavirus trisegmentada que comprende un segmento L y dos segmentos S comprende un complemento completo de los cuatro ORF de arenavirus. Por lo tanto, en algunas realizaciones, la partícula de arenavirus trisegmentada es una partícula de arenavirus trisegmentada infecciosa y competente para la replicación. En realizaciones específicas, los dos segmentos S de la partícula de arenavirus trisegmentada se han modificado para llevar uno de sus ORF en una posición distinta a la posición de tipo salvaje. En realizaciones más específicas, los dos segmentos S comprenden un complemento completo de los ORF del segmento S. En ciertas realizaciones específicas, el segmento L se ha modificado para llevar un ORF en una posición distinta de la posición de tipo salvaje o el segmento L puede ser el segmento genómico de tipo salvaje.

En ciertas realizaciones, uno de los dos segmentos S puede ser:

(i) un segmento S de arenavirus, en donde el ORF que codifica la proteína Z está bajo el control de una UTR 5' de arenavirus;

(ii) un segmento S de arenavirus, en donde el ORF que codifica la proteína L está bajo el control de una UTR 5' de arenavirus;

(iii) un segmento S de arnavirus, en donde el ORF que codifica la NP está bajo el control de una UTR 5' de arnavirus;

(iv) un segmento S de arnavirus, en donde el ORF que codifica la GP está bajo el control de una UTR 3' de arnavirus;

5 (v) un segmento S de arnavirus, en donde el ORF que codifica la L está bajo el control de una UTR 3' de arnavirus; y

(vi) un segmento S de arnavirus, en donde el ORF que codifica la proteína Z está bajo el control de una UTR 3' de arnavirus.

10 En ciertas realizaciones, la partícula de arnavirus trisegmentada que comprende un segmento L y dos segmentos S puede comprender un ORF duplicado (es decir, dos ORF de segmento S de tipo salvaje p. ej., GP o NP). En realizaciones específicas, la partícula de arnavirus trisegmentada que comprende un segmento L y dos segmentos S puede comprender un ORF duplicado (p. ej., (GP, GP)) o dos ORF duplicados (p. ej., (GP, GP) y (NP, NP)).

15 La Tabla 1A, a continuación, es una ilustración de ejemplo de la organización del genoma de una partícula de arnavirus trisegmentada que comprende un segmento L y dos segmentos S, donde la recombinación intersegmentaria de los dos segmentos S en el genoma de arnavirus trisegmentado no da como resultado una replicación. -partícula viral bisegmentada competente y anula la actividad del promotor arnaviral (es decir, el segmento S recombinado resultante se compone de dos UTR 3' en lugar de una UTR 3' y una UTR 5').

Tabla 1A

Partícula de arnavirus trisegmentada que comprende un segmento L y dos segmentos S; la Posición 1 está bajo el control de una UTR 5' del segmento S de arnavirus; la Posición 2 está bajo el control de una UTR 3' del segmento S de arnavirus; la Posición 3 está bajo el control de una UTR 5' del segmento S de arnavirus; Posición 4 bajo el control de una UTR 3' del segmento S de arnavirus; la Posición 5 está bajo el control de una UTR 5' del segmento L de arnavirus; la Posición 6 está bajo el control de una UTR 3' del segmento L de arnavirus.					
Posición 1	Posición 2	Posición 3	Posición 4	Posición 5	Posición 6
*ORF	GP	*ORF	NP	Z	L
*ORF	NP	*ORF	GP	Z	L
*ORF	NP	*ORF	GP	L	Z
*ORF	NP	*ORF	Z	L	GP
*ORF	NP	Z	GP	*ORF	Z
*ORF	NP	Z	GP	Z	*ORF
*ORF	NP	*ORF	L	Z	GP
*ORF	L	*ORF	NP	Z	GP
*ORF	L	Z	NP	*ORF	GP
*ORF	L	*ORF	GP	Z	NP

# ES 2 934 698 T3

*ORF	L	Z	GP	*ORF	NP
*ORF	Z	L	NP	*ORF	GP
*ORF	Z	*ORF	GP	L	NP
*ORF	Z	L	GP	*ORF	NP
L	GP	*ORF	NP	*ORF	Z
L	GP	*ORF	Z	*ORF	NP
L	*ORF	Z	GP	*ORF	NP
L	GP	*ORF	NP	*ORF	Z
L	GP	*ORF	Z	*ORF	NP
L	*ORF	Z	NP	*ORF	GP
L	NP	*ORF	Z	*ORF	GP
L	NP	Z	*ORF	GP	*ORF
L	*ORF	Z	*ORF	GP	NP
L	NP	*ORF	Z	*ORF	GP
L	*ORF	Z	NP	*ORF	GP
L	Z	*ORF	GP	*ORF	NP
L	Z	*ORF	NP	*ORF	GP
Z	GP	*ORF	NP	*ORF	L
Z	GP	*ORF	L	*ORF	NP
Z	*ORF	L	GP	*ORF	NP
Z	GP	*ORF	NP	*ORF	L
Z	GP	*ORF	L	*ORF	NP
Z	*ORF	L	NP	*ORF	GP
Z	NP	*ORF	GP	*ORF	L
Z	NP	*ORF	L	*ORF	GP
Z	*ORF	L	GP	*ORF	NP
Z	NP	*ORF	GP	*ORF	L
Z	NP	*ORF	L	*ORF	GP

Z	*ORF	L	NP	*ORF	GP
Z	L	*ORF	GP	*ORF	NP

\*ORF indica que se ha insertado un ORF heterólogo, por ejemplo, un ORF heterólogo que codifica un antígeno del HBV.

En ciertas realizaciones, el IGR entre la posición uno y la posición dos puede ser un IGR del segmento S o del segmento L de arnavirus; el IGR entre la posición tres y cuatro puede ser un segmento S de arnavirus o un IGR de segmento L; y el IGR entre la posición cinco y seis puede ser un IGR del segmento L de arnavirus. En una realización específica, el IGR entre la posición uno y la posición dos puede ser un IGR del segmento S de arnavirus; el IGR entre la posición tres y cuatro puede ser un IGR del segmento S de arnavirus; y el IGR entre la posición cinco y seis puede ser un IGR del segmento L de arnavirus. En ciertas realizaciones, también son posibles otras combinaciones. Por ejemplo, una partícula de arnavirus trisegmentada que comprende un segmento L y dos segmentos S, en donde la recombinación intersegmentaria de los dos segmentos S en el genoma de arnavirus trisegmentado no da como resultado una partícula viral bisegmentada con capacidad de replicación y anula la actividad del promotor arnaviral (es decir, el segmento S recombinado resultante se compone de dos UTR 5' en lugar de una UTR 3' y una UTR 5').

En ciertas realizaciones, la recombinación intersegmentaria de un segmento S y un segmento L en la partícula de arnavirus trisegmentada que comprende un segmento L y dos segmentos S restaura un segmento funcional con dos genes virales en un solo segmento en lugar de dos segmentos separados. En otras realizaciones, la recombinación intersegmentaria de un segmento S y un segmento L en la partícula de arnavirus trisegmentada que comprende un segmento L y dos segmentos S no da como resultado una partícula viral bisegmentada competente para la replicación.

En un aspecto, para su uso con las composiciones y métodos, se proporciona en la presente memoria una partícula de arnavirus trisegmentada que comprende dos segmentos L y un segmento S. En ciertas realizaciones, la propagación de la partícula de arnavirus trisegmentada que comprende dos segmentos L y un segmento S no da como resultado una partícula viral bisegmentada competente para la replicación. En realizaciones específicas, la propagación de la partícula de arnavirus trisegmentada que comprende dos segmentos L y un segmento S no da como resultado una partícula viral bisegmentada competente para la replicación después de al menos 10 días, al menos 20 días, al menos 30 días, al menos 40 días, al menos 50 días, al menos 60 días, al menos 70 días, al menos 80 días, al menos 90 días, al menos 100 días de infección persistente en ratones que carecen de receptor de interferón tipo I, receptor de interferón tipo II y gen activador de la recombinación (RAG1), y haber sido infectado con  $10^4$  PFU de la partícula de arnavirus trisegmentada. En otras realizaciones, la propagación de la partícula de arnavirus trisegmentada que comprende dos segmentos L y un segmento S no da como resultado una partícula viral bisegmentada competente para la replicación después de al menos 10 pases, 20 pases, 30 pases, 40 pases o 50 pases.

En ciertas realizaciones, la recombinación intersegmentaria de los dos segmentos L de la partícula de arnavirus trisegmentada para uso con las composiciones y métodos proporcionados en la presente memoria, que une los dos ORF de arnavirus en uno en lugar de dos segmentos separados da como resultado un promotor no funcional (es decir, un segmento genómico de la estructura: UTR 5'-----UTR 5' o una UTR 3'-----UTR 3'), donde cada UTR que forma un extremo del genoma es una secuencia repetida invertida del otro extremo del mismo genoma.

En ciertas realizaciones, la partícula de arnavirus trisegmentada que comprende dos segmentos L y un segmento S se ha modificado para llevar un ORF de arnavirus en una posición distinta de la posición de tipo salvaje del ORF. En otras realizaciones, la partícula de arnavirus trisegmentada que comprende dos segmentos L y un segmento S se ha modificado para llevar dos ORF de arnavirus, o tres ORF de arnavirus, o cuatro ORF de arnavirus, o cinco ORF de arnavirus, o seis ORF de arnavirus en una posición diferente que la posición de tipo salvaje. En realizaciones específicas, la partícula de arnavirus trisegmentada que comprende dos segmentos L y un segmento S comprende un complemento completo de los cuatro ORF de arnavirus. Por lo tanto, en algunas realizaciones, la partícula de arnavirus trisegmentada es una partícula de arnavirus trisegmentada infecciosa y competente para la replicación. En realizaciones específicas, los dos segmentos L de la partícula de arnavirus trisegmentada se han modificado para llevar uno de sus ORF en una posición distinta a la posición de tipo salvaje. En realizaciones más específicas, los dos segmentos L comprenden un complemento completo de los ORF del segmento L. En ciertas realizaciones específicas, el segmento S se ha modificado para llevar uno de sus ORF en una posición distinta de la posición de tipo salvaje o el segmento S puede ser el segmento genómico de tipo salvaje.

En ciertas realizaciones, uno de los dos segmentos L puede ser:

(i) un segmento L, en donde el ORF que codifica la GP está bajo el control de una UTR 5' de arnavirus;

(ii) un segmento L, en donde el ORF que codifica NP está bajo el control de una UTR 5' de arnavirus;

- (iii) un segmento L, en donde el ORF que codifica la proteína L está bajo el control de una UTR 5' de arnavirus;
- (iv) un segmento L, en donde el ORF que codifica la GP está bajo el control de una UTR 3' de arnavirus;
- (v) un segmento L, en donde el ORF que codifica la NP está bajo el control de una UTR 3' de arnavirus; y
- (vi) un segmento L, en donde el ORF que codifica la proteína Z está bajo el control de una UTR 3' de arnavirus.

- 5 En ciertas realizaciones, la partícula de arnavirus trisegmentada que comprende dos segmentos L y segmentos S puede comprender un ORF duplicado (es decir, dos ORF de segmento L de tipo salvaje p. ej., proteína Z o proteína L). En realizaciones específicas, la partícula de arnavirus trisegmentada que comprende dos segmentos L y un segmento S puede comprender un ORF duplicado (p. ej., (proteína Z, proteína Z)) o dos ORF duplicados (p. ej., (proteína Z, proteína Z) y (proteína L, proteína L)).
- 10 La Tabla 2A, a continuación, es una ilustración de ejemplo de la organización del genoma de una partícula de arnavirus trisegmentada que comprende dos segmentos L y un segmento S, donde la recombinación intersegmentaria de los dos segmentos L en el genoma de arnavirus trisegmentado no da como resultado una partícula viral bisegmentada competente para la replicación y anula la actividad del promotor arnaviral (es decir, el segmento L resultante se compone de dos UTR 3' en lugar de una UTR 3' y una UTR 5'). Basándose en la Tabla 3,
- 15 se podrían predecir combinaciones similares para generar una partícula de arnavirus formada por dos UTR 5' en lugar de una UTR 3' y una UTR 5'.

Tabla 2A

Partícula de arnavirus trisegmentada que comprende dos segmentos L y un segmento S					
Posición 1	Posición 2	Posición 3	Posición 4	Posición 5	Posición 6
*ORF	Z	*ORF	L	NP	GP
*ORF	Z	*ORF	L	GP	NP
*ORF	Z	GP	L	*ORF	NP
*ORF	Z	*ORF	GP	NP	L
*ORF	Z	GP	NP	*ORF	L
*ORF	Z	NP	GP	*ORF	L
*ORF	L	*ORF	Z	NP	GP
*ORF	L	*ORF	Z	GP	NP
*ORF	L	*ORF	GP	NP	Z
*ORF	L	GP	Z	*ORF	NP
*ORF	L	NP	Z	*ORF	GP
*ORF	L	GP	NP	*ORF	Z
*ORF	L	NP	GP	*ORF	Z
*ORF	GP	*ORF	L	NP	Z
*ORF	GP	NP	L	*ORF	Z

# ES 2 934 698 T3

Partícula de arnavirus trisegmentada que comprende dos segmentos L y un segmento S					
Posición 1	Posición 2	Posición 3	Posición 4	Posición 5	Posición 6
*ORF	GP	*ORF	Z	NP	L
*ORF	GP	NP	Z	*ORF	L
*ORF	NP	*ORF	L	GP	Z
*ORF	NP	GP	L	*ORF	Z
*ORF	NP	GP	Z	*ORF	L
*ORF	NP	*ORF	Z	GP	L
*ORF	L	*ORF	Z	NP	GP
*ORF	L	*ORF	Z	GP	NP
*ORF	L	*ORF	NP	GP	Z
*ORF	L	*ORF	GP	NP	Z
*ORF	L	NP	Z	*ORF	GP
*ORF	Z	*ORF	GP	NP	L
*ORF	Z	GP	L	*ORF	NP
*ORF	Z	NP	GP	*ORF	L
*ORF	Z	GP	NP	*ORF	L
*ORF	GP	*ORF	L	Z	NP
*ORF	GP	*ORF	Z	GP	L
*ORF	GP	NP	L	*ORF	Z
GP	L	*ORF	Z	*ORF	NP
GP	L	*ORF	NP	*ORF	Z
GP	Z	*ORF	L	*ORF	NP
GP	Z	*ORF	NP	*ORF	L
GP	NP	*ORF	Z	*ORF	L
NP	L	*ORF	Z	*ORF	GP
NP	L	*ORF	GP	*ORF	Z

\*La posición 1 está bajo el control de una UTR 5' del segmento L de arnavirus; la posición 2 está bajo el control de

Partícula de arnavirus trisegmentada que comprende dos segmentos L y un segmento S					
Posición 1	Posición 2	Posición 3	Posición 4	Posición 5	Posición 6
una UTR 3' del segmento L de arnavirus; la posición 3 está bajo el control de un segmento UTR 5' de arnavirus L; la posición 4 está bajo el control de una UTR 3' del segmento L de arnavirus; la posición 5 está bajo el control de una UTR 5' del segmento S de arnavirus; la posición 6 está bajo el control de una UTR 3' del segmento S de arnavirus.					
* ORF indica que se ha insertado un ORF heterólogo, por ejemplo, un ORF heterólogo que codifica un antígeno del HBV.					

En ciertas realizaciones, el IGR entre la posición uno y la posición dos puede ser un IGR del segmento S o del segmento L de arnavirus; el IGR entre la posición tres y cuatro puede ser un segmento S de arnavirus o un IGR de segmento L; y el IGR entre la posición cinco y seis puede ser un IGR del segmento S de arnavirus. En una realización específica, el IGR entre la posición uno y la posición dos puede ser un IGR del segmento L de arnavirus; el IGR entre la posición tres y cuatro puede ser un IGR del segmento L de arnavirus; y el IGR entre la posición cinco y seis puede ser un IGR del segmento S de arnavirus. En ciertas realizaciones, también son posibles otras combinaciones.

En ciertas realizaciones, la recombinación intersegmentaria de un segmento L y un segmento S de la partícula de arnavirus trisegmentada que comprende dos segmentos L y un segmento S restaura un segmento funcional con dos genes virales en un solo segmento en lugar de dos segmentos separados. En otras realizaciones, la recombinación intersegmentaria de un segmento L y un segmento S en la partícula de arnavirus trisegmentada que comprende dos segmentos L y un segmento S no da como resultado una partícula viral bisegmentada competente para la replicación.

En ciertas realizaciones, la partícula de arnavirus trisegmentada como se describe en la presente memoria es una partícula de arnavirus infecciosa y competente para la replicación. En realizaciones específicas, la partícula de arnavirus descrita en la presente memoria está atenuada. En una realización particular, la partícula de arnavirus trisegmentada se atenúa de manera que el virus permanece, al menos parcialmente, competente para la replicación y puede replicarse. en vivo, pero solo puede generar cargas virales bajas que dan como resultado niveles subclínicos de infección que no son patógenos. Dichos virus atenuados pueden usarse como una composición inmunogénica. En otras realizaciones, la partícula de arnavirus es infecciosa pero incapaz de producir descendencia infecciosa adicional en células que no se complementan.

En ciertas realizaciones, el segmento genómico de arnavirus y la partícula de arnavirus respectiva o la partícula de arnavirus trisegmentada pueden comprender un ORF heterólogo. En otras realizaciones, el segmento genómico de arnavirus y la partícula de arnavirus respectiva o la partícula de arnavirus trisegmentada pueden comprender un gen de interés. En realizaciones más específicas, el ORF heterólogo o el gen de interés codifica un antígeno. En realizaciones más específicas, el ORF heterólogo o el gen de interés codifica un antígeno del HBV o un fragmento antigénico del mismo (véase Sección 6.2).

En ciertas realizaciones, el segmento genómico de arnavirus, la partícula de arnavirus o la partícula de arnavirus trisegmentada puede comprender uno o más ORF heterólogos o uno o más genes de interés. En otras realizaciones, el segmento genómico de arnavirus, la partícula de arnavirus o la partícula de arnavirus trisegmentada puede comprender al menos aproximadamente ORF heterólogo, al menos dos ORF heterólogos, al menos tres ORF heterólogos o más ORF heterólogos. En otras realizaciones, la partícula de arnavirus o la partícula de arnavirus trisegmentada comprende al menos aproximadamente gen de interés, al menos dos genes de interés, al menos tres genes de interés o más genes de interés. En realizaciones más específicas, el uno o más ORF heterólogos o los genes de interés codifican uno o más antígenos del HBV o fragmentos antigénicos de los mismos (véase Sección 6.2).

En ciertas realizaciones, un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV descrito en la presente memoria es una partícula de arnavirus trisegmentada que comprende un segmento L y dos segmentos S. En ciertas realizaciones, un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV descrito en la presente memoria es una partícula de arnavirus trisegmentada que comprende dos segmentos L y un segmento S.

## 6.2 Antígenos del HBV

En ciertas realizaciones, los antígenos para uso con los métodos y composiciones descritos en la presente memoria son antígenos del HBV.

En ciertas realizaciones, los ORF de dos o más antígenos del HBV descritos se transcriben como un solo transcrito.

En ciertas realizaciones, cualquier genotipo o subgenotipo de HBV humano o cualquier aislado clínico de HBV humano



puede usarse con la presente invención para obtener los antígenos para la generación de los vectores arenavirales descritos en la presente memoria. Dichos genotipos y subgenotipos del HBV incluyen los genotipos A-J y los subgenotipos A1-A6, B1-B4, C1-C6, D1-D7 y F1-F4.

5 En ciertas realizaciones, el antígeno de HBV puede ser un ortólogo de antígeno de HBV, por ejemplo, un antígeno de HBV de mamífero (es decir, primate no humano, cerdo, perro, gato o caballo).

#### (a) antígenos de la proteína pre-S2/S

10 En ciertas realizaciones, el antígeno es la proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento de la misma. En ciertas realizaciones, el antígeno es un fragmento de al menos 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150 o más aminoácidos de HBV pre-S2 proteína /S. En ciertas realizaciones, el antígeno es un fragmento antigénico de la proteína pre-S2/S del HBV. En ciertas realizaciones, el antígeno está codificado por una secuencia de ácido nucleico que es 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntico a SEQ ID NO: 1. En ciertas realizaciones, el antígeno comprende una secuencia de aminoácidos que es 80 %, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntico a una secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 1.

#### (b) antígenos de la proteína HBc

20 En ciertas realizaciones, el antígeno es la proteína HBc del HBV o un fragmento de la misma. En ciertas realizaciones, el antígeno es un fragmento de al menos 10, 15, 20, 25, 50, 75, 100, 125, 150 o más aminoácidos de la proteína HBc del HBV. En ciertas realizaciones, el antígeno es un fragmento antigénico de HBc. En ciertas realizaciones, el antígeno está codificado por una secuencia de ácido nucleico que es 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntico a SEQ ID NO: 2. En ciertas realizaciones, el antígeno comprende una secuencia de aminoácidos que es 80 %, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntico a una secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 2.

#### 25 (c) antígenos de la proteína HBs

En ciertos ejemplos, fuera del contexto de la invención, el antígeno es la proteína HBs del HBV o un fragmento de la misma. En ciertos ejemplos, el antígeno es un fragmento de al menos 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50 o más aminoácidos de la proteína HBs del HBV. En ciertos ejemplos, el antígeno es un fragmento antigénico de HBs.

30 En ciertos ejemplos, el antígeno es el polipéptido pequeño HBs del HBV (p.ej., "S") o un fragmento del mismo. En ciertos ejemplos, el antígeno es el polipéptido medio HBs del HBV (p.ej., "pre-S2/S") o un fragmento del mismo. En ciertos ejemplos, el antígeno es el polipéptido grande HBs del HBV (p.ej., "pre-S1/pre-S2/S") o un fragmento del mismo. En ciertos ejemplos, el antígeno es un fragmento de al menos 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150 o más aminoácidos del polipéptido pequeño HBs del HBV. En ciertos ejemplos, el antígeno es un fragmento de al menos 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150 o más aminoácidos del medio polipéptido HBs del HBV. En ciertos ejemplos, el antígeno es un fragmento de al menos 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350 o más aminoácidos del polipéptido grande HBs del HBV.

#### (d) Proteínas de fusión HBs y HBc

40 En ciertas realizaciones, el antígeno es una proteína de fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigénicos de las mismas. En ciertas realizaciones, el antígeno es un fragmento de al menos 10, 15, 20, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225 o más aminoácidos de una proteína de fusión de HBs y HBc. En ciertas realizaciones, el antígeno está codificado por una secuencia de ácido nucleico que es 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntico a SEQ ID NO: 3. En ciertas realizaciones, el antígeno comprende una secuencia de aminoácidos que es 80 %, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntico a una secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 3.

#### (e) antígenos de la proteína HBe

50 En ciertos ejemplos, fuera del contexto de la invención, el antígeno es la proteína HBe del HBV o un fragmento de la misma. En ciertos ejemplos, el antígeno es un fragmento de al menos 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150 o más aminoácidos de la proteína HBe del HBV. En ciertos ejemplos, el antígeno es un fragmento antigénico de HBe. En ciertos ejemplos, el antígeno está codificado por una secuencia de ácido nucleico que es 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntico a SEQ ID NO: 26. En ciertos ejemplos, el antígeno comprende una secuencia de aminoácidos que es 80 %, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntico a una secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 26.

**(f) Antígenos de la proteína polimerasa**

En ciertos ejemplos, fuera del contexto de la invención, el antígeno es una proteína polimerasa del HBV o un fragmento antigénico de la misma. En ciertos ejemplos, el antígeno es un fragmento de al menos 10, 15, 20, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 300, 400, 500, 600, 700 o más amino ácidos de una proteína polimerasa del HBV.

5 Las secuencias de ácido nucleico que codifican un antígeno del HBV pueden introducirse en el genoma de un  
 arenavirus infeccioso mediante la sustitución de la secuencia de ácido nucleico del ORF de la glicoproteína GP, la  
 proteína de matriz Z, la nucleoproteína NP o la proteína polimerasa L. En otros ejemplos, la secuencia de ácido  
 10 nucleico que codifica el antígeno del HBV se fusiona con el ORF de la glicoproteína GP, la proteína de matriz Z, la  
 nucleoproteína NP o la proteína polimerasa L. La secuencia de nucleótidos que codifica el antígeno del HBV, una vez  
 insertada en el genoma de un arenavirus infeccioso, pueden transcribirse y/o expresarse bajo el control de uno de los  
 cuatro promotores de arenavirus (UTR 5' y UTR 3' del segmento S, y UTR 5' y UTR 3' del segmento L), así como  
 ácidos ribonucleicos que pueden ser insertados con elementos reguladores que pueden ser leídos por la ARN  
 15 polimerasa dependiente de ARN viral, la ARN polimerasa I celular, la ARN polimerasa II o la ARN polimerasa III, como  
 duplicaciones de secuencias de promotores virales que se encuentran naturalmente en las UTR virales, el promotor  
 de ARN ribosomal 28S, el promotor de beta-actina o el promotor de ARN ribosomal 5S, respectivamente. Los ácidos  
 nucleicos que codifican el antígeno del HBV se pueden transcribir y/o expresar por sí mismos o mediante lectura  
 mediante fusión con ORF y genes de arenavirus, respectivamente, y/o en combinación con uno o más, p. ej., dos, tres  
 o cuatro, sitios internos de entrada a los ribosomas.

20 En una realización, el antígeno es útil para la prevención y/o tratamiento de enfermedades infecciosas. En una  
 realización específica, el antígeno se deriva de HBV. En ciertas realizaciones, el ORF que codifica la glicoproteína del  
 arenavirus se sustituye por una secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína pre-S2/S del HBV. En ciertas  
 realizaciones, el ORF que codifica la glicoproteína del arenavirus se sustituye por una secuencia de ácido nucleico  
 que codifica la proteína HBc del HBV.

25 En ciertas realizaciones, el ORF que codifica la glicoproteína del arenavirus se sustituye por una secuencia de ácido  
 nucleico que codifica una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigénicos de las mismas.

**(g) Sustitución del ORF que codifica la glicoproteína del arenavirus**

En ciertas realizaciones, el ORF que codifica la glicoproteína del arenavirus se sustituye por una secuencia de ácido  
 nucleico que codifica uno, dos o más antígenos del HBV descritos en la presente memoria.

30 En una realización, el ORF que codifica la glicoproteína del arenavirus se sustituye por secuencias de ácido nucleico  
 que codifican un antígeno del HBV. En ciertas realizaciones, el ORF que codifica la glicoproteína del arenavirus se  
 sustituye por secuencias de ácido nucleico que codifican un antígeno que es un fragmento de al menos 10, 15, 20, 25,  
 30, 35, 40, 45, 50 o más aminoácidos de un producto génico de un gen de la proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento  
 del mismo. En ciertas realizaciones, el ORF que codifica la glicoproteína del arenavirus se sustituye por secuencias  
 35 de ácido nucleico que codifican un fragmento antigénico de pre-S2/S. En ciertas realizaciones, el ORF que codifica la  
 glicoproteína del arenavirus se sustituye por secuencias de ácido nucleico que codifican antígenos que incluyen, pero  
 no se limitan a, pre-S2/S o un fragmento de pre-S2/S.

40 En ciertas realizaciones, el ORF que codifica la glicoproteína del arenavirus se sustituye por secuencias de ácido  
 nucleico que codifican un antígeno que es un fragmento de al menos 10, 15, 20, 25, 50, 75, 100, 125, 150 o más  
 aminoácidos. de un gen producto de un gen de la proteína HBc del HBV o un fragmento del mismo. En ciertas  
 realizaciones, el ORF que codifica la glicoproteína del arenavirus se sustituye por secuencias de ácido nucleico que  
 codifican un fragmento antigénico de HBc. En ciertas realizaciones, el ORF que codifica la glicoproteína del arenavirus  
 se sustituye por secuencias de ácido nucleico que codifican antígenos que incluyen, pero no se limitan a, HBc o un  
 fragmento de HBc.

45 En ciertos ejemplos, fuera del contexto de la invención, el ORF que codifica la glicoproteína del arenavirus se sustituye  
 por secuencias de ácido nucleico que codifican un antígeno que es un fragmento de al menos 10, 15, 20, 25, 30, 35,  
 40, 45, 50 o más aminoácidos de un producto génico de un gen de la proteína HBs del HBV o un fragmento del mismo.  
 En ciertos ejemplos, fuera del contexto de la invención, el ORF que codifica la glicoproteína del arenavirus se sustituye  
 por secuencias de ácido nucleico que codifican un fragmento antigénico de HBs. En ciertos ejemplos, fuera del  
 50 contexto de la invención, el ORF que codifica la glicoproteína del arenavirus se sustituye por secuencias de ácido  
 nucleico que codifican antígenos que incluyen, pero no se limitan a HBs o un fragmento de HBs.

En ciertas realizaciones, el ORF que codifica la glicoproteína del arenavirus se sustituye por una secuencia de ácido  
 nucleico que codifica dos o más proteínas del HBV o fragmentos de al menos 10, 15, 20, 25, 50, 75, 100, 125, 150,  
 175, 200, 225 o más aminoácidos de los mismos. En ciertas realizaciones, el ORF que codifica la glicoproteína del  
 arenavirus se sustituye por una secuencia de ácido nucleico que codifica HBs y HBc.

55 En ciertas realizaciones, el ORF que codifica la glicoproteína del arenavirus se sustituye por una secuencia de ácido  
 nucleico que codifica una o más de la proteína pre-S2/S o un fragmento antigénico de la misma, la proteína HBc o un  
 fragmento antigénico de la misma,

### 6.3 Generación de arenavirus infecciosos que expresan un antígeno del HBV

En general, las partículas de arenavirus se pueden producir de forma recombinante mediante técnicas genéticas inversas estándar como se describe para LCMV (L. Flatz, A. Bergthaler, J. C. de la Torre y D. D. Pinschewer, Proc Natl Acad Sci USA 103:4663-4668, 2006; A. B. Sánchez y J. C. de la Torre, Virology 350:370, 2006; E. Ortiz-Riano, B.Y. Cheng, J. C. de la Torre, L. Martínez-Sobrido. J Gen Virol. 94:1175-88, 2013).

#### (a) Arenavirus deficiente en replicación

Para generar arenavirus infecciosos deficientes en replicación para su uso con la presente invención, se pueden usar estas técnicas, sin embargo, el genoma del virus rescatado se modifica como se describe en la Sección 6.1. Estas modificaciones pueden ser: i) uno o más, por ejemplo, dos, tres o cuatro, de los cuatro ORF de arenavirus (glicoproteína (GP); nucleoproteína (NP); la proteína de matriz Z; la ARN polimerasa L dependiente de ARN) se eliminan o inactivado funcionalmente para evitar la formación de partículas infecciosas en células normales, aunque todavía permite la expresión génica en células huésped infectadas con vector de arenavirus; y ii) pueden introducirse ácidos nucleicos que codifican antígenos de HBV. Los virus infecciosos, deficientes en replicación, como se describe en la presente memoria, se pueden producir como se describe en la Publicación de Solicitud de Patente Internacional No. WO 2009/083210 (Numero de solicitud PCT/EP2008/010994) y la Publicación de Solicitud de Patente Internacional No. WO 2014/140301 (Numero de solicitud PCT/EP2014/055144),

Una vez generados a partir del ADNc, los arenavirus infecciosos deficientes en replicación proporcionados en la presente memoria pueden propagarse en células complementarias. Las células complementarias son células que brindan la funcionalidad que se eliminó del arenavirus deficiente en replicación mediante la modificación de su genoma (p. ej., si el ORF que codifica la proteína GP se elimina o se inactiva funcionalmente, una célula complementaria proporciona la proteína GP).

Debido a la eliminación o inactivación funcional de uno o más de los genes virales en los vectores de arenavirus (aquí se tomará como ejemplo la eliminación de la glicoproteína, GP), los vectores de arenavirus pueden generarse y expandirse en las células proporcionando en trans los genes virales eliminados, por ejemplo, la GP en el presente ejemplo. Dicha línea celular complementaria, denominada en lo sucesivo células C, se genera mediante la transfección de una línea celular de mamífero tal como BHK-21, HEK 293, VERO u otra (aquí se tomará BHK-21 como ejemplo) con uno o más plásmido(s) para la expresión de los genes virales de interés (plásmido de complementación, denominado plásmido C). El (los) plásmido (s) C expresa(n) el (los) gen (es) viral (es) eliminado (s) en el vector de arenavirus que se generará bajo el control de uno o más casetes de expresión adecuados para la expresión en células de mamífero, por ejemplo, un promotor de polimerasa II de mamífero como el CMV o EF1alfa promotor con una señal de poliadenilación. Además, el plásmido de complementación presenta un marcador de selección de mamíferos, por ejemplo, resistencia a la puomicina, bajo el control de un casete de expresión adecuado para la expresión génica en células de mamífero, por ejemplo, casete de expresión de polimerasa II como se indicó anteriormente, o se siguen los transcritos de genes virales. por un sitio de entrada al ribosoma interno, como el del virus de la encefalomiocarditis, seguido por el marcador de resistencia de los mamíferos. Para la producción en E. coli, el plásmido cuenta además con un marcador de selección bacteriana, como un casete de resistencia a la ampicilina.

Las células que se pueden usar, p. ej., BHK-21, HEK 293, MC57G u otras, se mantienen en cultivo y se transfectan con los plásmidos de complementación usando cualquiera de las estrategias comúnmente usadas, como protocolos basados en liposomas con fosfato de calcio o electroporación. Unos días más tarde se añade el agente de selección adecuado, p. ej., puomicina, en concentraciones tituladas. Los clones supervivientes se aíslan y subclonan siguiendo procedimientos estándar, y los clones de células C de alta expresión se identifican mediante procedimientos de transferencia Western o citometría de flujo con anticuerpos dirigidos contra la(s) proteína(s) viral(es) de interés. Como alternativa al uso de células C transfectadas de forma estable, la transfección transitoria de células normales puede complementar los genes virales que faltan en cada uno de los pasos en donde se utilizarán células C a continuación. Además, se puede utilizar un virus auxiliar para proporcionar la funcionalidad que falta en trans.

Los plásmidos que se pueden usar pueden ser de dos tipos: i) Dos plásmidos, denominados plásmidos TF para expresar intracelularmente en células C los factores de transacción mínimos del arenavirus, de los cuales se deriva el vector de arenavirus deficiente en replicación, p. ej., proteínas NP y L de LCMV en el presente ejemplo; y ii) plásmidos, denominados plásmidos GS, para expresar intracelularmente en células C los segmentos del genoma del vector de arenavirus, p. ej., los segmentos con modificaciones diseñadas. Los plásmidos TF expresan las proteínas NP y L del respectivo vector de arenavirus bajo el control de un casete de expresión adecuado para la expresión de proteínas en células de mamíferos, normalmente, p. ej., un promotor de la polimerasa II de mamíferos como el CMV o el promotor alfa EF1, cualquiera de ellos preferentemente en combinación con una señal de poliadenilación. Los plásmidos GS expresan los segmentos del genoma pequeño (S) y grande (L) del vector. Por lo general, se pueden usar casetes de expresión impulsados por polimerasa I o casetes de expresión impulsados por ARN polimerasa (T7-) del bacteriófago T7, este último preferentemente con una ribozima 3'-terminal para el procesamiento de la transcripción primaria para producir el extremo correcto. En el caso de utilizar un sistema basado en T7, la expresión de T7 en células C debe proporcionarse mediante la inclusión en el proceso de recuperación de un plásmido de expresión adicional, construido de manera análoga a los plásmidos TF, siempre que T7, o las células C se construyan para adicionalmente expresar T7 de manera estable. En ciertas realizaciones, los plásmidos TF y GS pueden ser iguales, es decir, la secuencia del

genoma y los factores de transacción pueden transcribirse mediante los promotores T7, poll y polII de un plásmido.

Para la recuperación del vector de arnavirus, se pueden usar los siguientes procedimientos. Primer día: las células C, normalmente con una confluencia del 80 % en placas de pocillos M6, se transfectan con una mezcla de los dos plásmidos TF más los dos plásmidos GS. En ciertas realizaciones, los plásmidos TF y GS pueden ser iguales, es decir, la secuencia del genoma y los factores de transacción pueden transcribirse mediante los promotores T7, poll y polII de un plásmido. Para esto, se puede explotar cualquiera de las estrategias comúnmente utilizadas, como el fosfato de calcio, los protocolos basados en liposomas o la electroporación.

3-5 días después: el sobrenadante del cultivo (preparación del vector de arnavirus) se recolecta, se divide en alícuotas y se almacena a 4 °C, -20 °C o -80 °C, dependiendo de cuánto tiempo deba almacenarse el vector de arnavirus antes de su uso. Luego, el título infeccioso de la preparación del vector de arnavirus se evalúa mediante un ensayo de inmunoenfoque en células C.

La invención además se refiere a la expresión de un antígeno del HBV en un cultivo celular en donde el cultivo celular está infectado con un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV. Cuando se usa para la expresión de un antígeno del HBV en células cultivadas, se pueden usar los dos procedimientos siguientes:

i) El tipo de célula de interés se infecta con la preparación de vector de arnavirus descrita en la presente memoria a una multiplicidad de infección (MOI) de uno o más, por ejemplo, dos, tres o cuatro, lo que da como resultado la producción del antígeno del HBV en todas las células poco después. infección.

ii) Alternativamente, se puede usar una MOI más baja y se pueden seleccionar clones de células individuales por su nivel de expresión del antígeno del HBV impulsado por el virus. Posteriormente, los clones individuales se pueden expandir infinitamente debido a la naturaleza no citolítica de los vectores de arnavirus. Independientemente del enfoque, el antígeno del HBV se puede recolectar (y purificar) posteriormente del sobrenadante del cultivo o de las propias células, según las propiedades del antígeno del HBV producido. Sin embargo, la invención no se limita a estas dos estrategias, y se pueden considerar otras formas de impulsar la expresión del antígeno del HBV usando arnavirus infecciosos deficientes en replicación como vectores.

Alternativamente, se puede usar un sistema de rescate que consiste en tres plásmidos: (1) el primer plásmido expresa la proteína NP por transcripción a través de la polimerasa II y posterior traducción en células transfectadas; (2) el segundo plásmido da lugar al segmento L (de cadena negativa) del genoma de LCMV por transcripción a través de la polimerasa I, así como a la proteína L por transcripción a través de la polimerasa II del mismo molde en la dirección opuesta al promotor de la polimerasa I; (3) el tercer plásmido da lugar al segmento S del genoma del LCMV (que codifica la secuencia codificante del antígeno en lugar de la glicoproteína del LCMV) a través de la transcripción por la polimerasa I. Se utilizan 3 µg de cada plásmido para la electroporación de las células C, seguido de siembra de células en placas de 6 pozos e incubación a 37°C. Después de la incubación, las células y el sobrenadante de las transfecciones se combinan con células C recién sembradas, y los vectores se recolectan y eliminan de las células y los desechos en un punto de tiempo definido después de la infección. Una vez que se ha generado el vector, se puede insertar un ácido nucleico que codifica un antígeno de un virus oncogénico y/o un péptido, polipéptido o proteína inmunomodulador (Véase la Sección 6.2) en un plásmido del que se extrae un segmento genómico de un vector infeccioso deficiente en replicación se transcribe mediante cualquier técnica conocida por el experto en la técnica.

Debido a la eliminación o inactivación funcional de uno o más de los genes virales en vectores de arnavirus (aquí se tomará como ejemplo la eliminación de la glicoproteína, GP), los vectores de arnavirus pueden generarse y expandirse en células que proporcionan los genes virales eliminados o funcionalmente inactivados (p. ej., la GP) en trans. El virus resultante en sí mismo es infeccioso pero no puede producir más partículas de progenie infecciosas en células que no se complementan debido a la falta de genes virales eliminados o inactivados funcionalmente (p. ej., la GP). La célula complementaria puede proporcionar la viralidad faltante ya sea por transfección estable, transfección transitoria o por infección con un virus auxiliar que exprese la funcionalidad faltante.

En ciertas realizaciones, la célula complementaria proporciona el gen viral que se ha eliminado o inactivado funcionalmente del genoma del vector de arnavirus. En una realización específica, la célula complementaria proporciona el gen viral de una cepa viral que es la misma que la cepa viral que se usó para generar el genoma del vector de arnavirus. En otra realización, la célula complementaria proporciona el gen viral de una cepa viral que es diferente de la cepa viral que se usó para generar el genoma del vector de arnavirus. Por ejemplo, el gen viral proporcionado en la célula complementaria se obtiene de la cepa MP de LCMV y codifica una proteína que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15, 16, 17 o 18. En otro ejemplo, el gen viral proporcionado en la célula complementaria se obtiene de la cepa Clon 13 de LCMV y codifica una proteína que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21, 22, 23 o 24. En otro ejemplo, se obtiene el gen viral proporcionado en la célula complementaria de la cepa WE de LCMV y codifica una proteína que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 25.

En una realización específica, la célula complementaria proporciona la GP de la cepa MP de LCMV y el vector de arnavirus comprende un ORF de un antígeno del HBV humano como se describe en la presente memoria en lugar del ORF que codifica la proteína GP. En una realización aún más específica, la célula complementaria proporciona la GP de la cepa MP de LCMV y el vector de arnavirus se obtiene del Clon 13 de LCMV y comprende un ORF de un

antígeno del HBV humano como se describe en la presente memoria en lugar del ORF que codifica la proteína GP. En una realización aún más específica, la proteína GP es al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, al menos 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 16.

En una realización específica, la célula complementaria proporciona la GP de la cepa Clon 13 de LCMV y el vector de arenavirus comprende un ORF de un antígeno del HBV humano como se describe en la presente memoria en lugar del ORF que codifica la proteína GP. En una realización aún más específica, la célula complementaria proporciona la GP de la cepa Clon 13 de LCMV y el vector de arenavirus se obtiene de la cepa MP de LCMV y comprende un ORF de un antígeno del HBV humano como se describe en la presente memoria en lugar del ORF que codifica la proteína GP. En una realización aún más específica, la proteína GP es al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, al menos 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22.

En una realización específica, la célula complementaria proporciona la GP de la cepa WE de LCMV y el vector de arenavirus comprende un ORF de un antígeno del HBV humano como se describe en la presente memoria en lugar del ORF que codifica la proteína GP. En una realización aún más específica, la célula complementaria proporciona la GP de la cepa WE de LCMV y el vector de arenavirus se obtiene del Clon 13 de LCMV y comprende un ORF de un antígeno del HBV humano como se describe en la presente memoria en lugar del ORF que codifica la proteína GP. En una realización aún más específica, la proteína GP es al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, al menos 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 25.

En una realización específica, la célula complementaria proporciona la GP de la cepa WE de LCMV y el vector de arenavirus comprende un ORF de un antígeno del HBV humano como se describe en la presente memoria en lugar del ORF que codifica la proteína GP. En una realización aún más específica, la célula complementaria proporciona la GP de la cepa WE de LCMV y el vector de arenavirus se obtiene de la cepa MP de LCMV y comprende un ORF de un antígeno del HBV humano como se describe en la presente memoria en lugar del ORF que codifica la proteína GP. En una realización aún más específica, la proteína GP es al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, al menos 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 25.

En ciertas realizaciones, el arenavirus infeccioso deficiente en replicación está trisegmentado.

#### **(b) Arenavirus trisegmentados, competentes para la replicación**

En la presente memoria se proporcionan métodos *in vitro* de generación de vectores de arenavirus competentes para la replicación. Los virus trisegmentados infecciosos, competentes para la replicación, como se describe en la presente memoria, se pueden producir como se describe en la solicitud de patente provisional de los Estados Unidos No. 62/079,493.

En ciertas realizaciones, el método para generar una partícula de arenavirus trisegmentada comprende (i) transfectar en una célula huésped los ADNc de un segmento L y dos segmentos S o dos segmentos L y un segmento S; (ii) transfectar en una célula huésped plásmidos que expresan los factores mínimos NP y L que actúan en trans del arenavirus; (iii) mantener la célula huésped en condiciones adecuadas para la formación de virus; y (iv) recolectar la partícula de arenavirus.

Una vez generada a partir del ADNc, la partícula de arenavirus trisegmentada (es decir, infecciosa y competente para la replicación) puede propagarse. En ciertas realizaciones, las partículas de arenavirus trisegmentadas se pueden propagar en cualquier célula huésped que permita que el virus crezca hasta títulos que permitan los usos del virus como se describe en la presente memoria. En una realización, la célula huésped permite que la partícula de arenavirus trisegmentada crezca hasta títulos comparables a los determinados para el tipo salvaje correspondiente.

En ciertas realizaciones, la partícula de arenavirus trisegmentada puede propagarse en células huésped. Los ejemplos específicos de células huésped que se pueden usar incluyen BHK-21, HEK 293, VERO u otras. En una realización específica, la partícula de arenavirus trisegmentada puede propagarse en una línea celular.

En ciertas realizaciones, las células huésped se mantienen en cultivo y se transfectan con uno o más plásmidos. Los plásmidos expresan los segmentos genómicos de arenavirus que se van a generar bajo el control de uno o más casetes de expresión adecuados para la expresión en células de mamífero, p. ej., que consisten en un promotor y un terminador de la polimerasa I.

En realizaciones específicas, las células huésped se mantienen en cultivo y se transfectan con uno o más plásmidos. Los plásmidos expresan los genes virales que se van a generar bajo el control de uno o más casetes de expresión adecuados para la expresión en células de mamífero, p. ej., que consisten en un promotor y un terminador de la polimerasa I.

Los plásmidos que se pueden usar para generar un arenavirus trisegmentado que comprende un segmento L y dos segmentos S pueden incluir: i) dos plásmidos, cada uno de los cuales codifica el segmento del genoma S, p. ej., plásmidos de expresión del segmento S impulsados por pol-I, ii) un plásmido que codifica el Segmento del genoma L, p. ej., un plásmido de expresión del segmento L impulsado por pol-I. Los plásmidos necesarios para el arenavirus trisegmentado que comprende dos segmentos L y un segmento S son: i) dos plásmidos, cada uno de los cuales

codifica el segmento del genoma L, p. ej., pol-L, ii) un plásmido que codifica el segmento del genoma S, p. ej., pol-I S.

En ciertas realizaciones, los plásmidos que codifican una polimerasa de arnavirus que dirige la síntesis intracelular de los segmentos L y S virales pueden incorporarse a la mezcla de transfección. Por ejemplo, un plásmido que codifica la proteína L y un plásmido que codifica NP (pC-L y pC-NP, respectivamente). La proteína L y NP son los factores mínimos que actúan en trans necesarios para la transcripción y replicación del ARN viral. Alternativamente, la síntesis intracelular de los segmentos L y S virales, junto con la proteína NP y L se puede realizar usando un casete de expresión con promotores pol-I y pol-II leyendo desde lados opuestos en los ADNc de los segmentos L y S de dos plásmidos separados, respectivamente.

Además, los plásmidos presentan un marcador de selección de mamífero, p. ej., resistencia a la puromicina, bajo el control de un casete de expresión adecuado para la expresión génica en células de mamífero, p. ej., el casete de expresión de la polimerasa II como se indicó anteriormente, o los transcritos de genes virales. van seguidos de un sitio de entrada al ribosoma interno, como el del virus de la encefalomiocarditis, seguido del marcador de resistencia de los mamíferos. Para la producción en E.coli, el plásmido cuenta además con un marcador de selección bacteriana, como un casete de resistencia a la ampicilina.

La transfección de células BHK-21 con plásmidos se puede realizar utilizando cualquiera de las estrategias comúnmente utilizadas, como fosfato de calcio, protocolos basados en liposomas o electroporación. Unos días más tarde se añade el agente de selección adecuado, p. ej., puromicina, en concentraciones tituladas. Los clones supervivientes se aíslan y subclonan siguiendo procedimientos estándar, y los clones de alta expresión se identifican utilizando procedimientos de transferencia Western o citometría de flujo con anticuerpos dirigidos contra la(s) proteína(s) viral(es) de interés.

Por lo general, se pueden usar casetes de expresión impulsados por ARN polimerasa I, casetes impulsados por ARN polimerasa II o casetes impulsados por ARN polimerasa de bacteriófago T7, este último preferiblemente con una ribozima 3'-terminal para el procesamiento de la transcripción primaria para producir el extremo correcto. En ciertas realizaciones, los plásmidos que codifican los segmentos genómicos de arnavirus pueden ser los mismos, es decir, la secuencia del genoma y los factores de transacción pueden transcribirse mediante los promotores T7, polI y polII de un plásmido.

Para recuperar el vector arnavirus trisegmentado, se prevén los siguientes procedimientos. Primer día: las células, normalmente con una confluencia del 80 % en placas de pocillos M6, se transfectan con una mezcla de plásmidos, como se ha descrito anteriormente. Para ello, se pueden aprovechar las estrategias de uso común, como el fosfato de calcio, los protocolos basados en liposomas o la electroporación.

3-5 días después: el sobrenadante cultivado (preparación del vector de arnavirus) se recolecta, se divide en alícuotas y se almacena a 4 °C, -20 °C o -80 °C, dependiendo de cuánto tiempo deba almacenarse el vector de arnavirus antes de su uso. El título infeccioso de la preparación del vector de arnavirus se evalúa mediante un ensayo de inmunoenfoque. Como alternativa, las células transfectadas y el sobrenadante se pueden pasar a un recipiente más grande (p. ej., un matraz de cultivo de tejidos T75) el día 3-5 después de la transfección, y el sobrenadante del cultivo se recoge hasta cinco días después del paso.

La presente solicitud se refiere además a la expresión de un ORF heterólogo (p. ej., un antígeno del HBV), en donde un plásmido que codifica el segmento genómico se modifica para incorporar un ORF heterólogo. El ORF heterólogo se puede incorporar al plásmido utilizando enzimas de restricción. En ciertas realizaciones, el ORF heterólogo codifica un antígeno de HBV. En ciertas realizaciones, el plásmido que codifica el segmento genómico se modifica para incorporar uno o más ORF heterólogos. En ciertas realizaciones, los ORF heterólogos codifican uno o más antígenos de HBV.

#### 6.4 Ácidos nucleicos, sistemas vectoriales y líneas celulares

En una realización, se describe en la presente memoria una secuencia de ácido nucleico que es el ADNc del segmento genómico grande (segmento L) de un arnavirus infeccioso descrito en la presente memoria, en la que se elimina o inactiva funcionalmente un ORF del segmento genómico, y el segmento genómico comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un antígeno del HBV. En ciertas realizaciones, el vector viral de arnavirus infeccioso es deficiente en replicación (Véase la Sección 6.1 (a)). En ciertas realizaciones, el vector viral de arnavirus infeccioso es competente para la replicación (Véase la Sección 6.1 (b)).

En una realización, se describe en la presente memoria una secuencia de ácido nucleico que codifica el segmento genómico corto (segmento S) de un arnavirus infeccioso descrito en la presente memoria, en la que un ORF del segmento genómico se elimina o inactiva funcionalmente y en donde el segmento genómico corto comprende un nucleótido secuencia que codifica un antígeno del HBV. En otra realización, en la presente memoria se describe una secuencia de ácido nucleico que codifica el segmento genómico corto (segmento S) de un arnavirus infeccioso descrito en la presente memoria, en la que el ORF del gen de la glicoproteína se elimina o inactiva funcionalmente y en donde el segmento genómico corto comprende un nucleótido secuencia que codifica un antígeno del HBV. En ciertas realizaciones más específicas, el antígeno de HBV es un antígeno descrito en la Sección 6.2.

En ciertas realizaciones, las secuencias de ácido nucleico proporcionadas en la presente memoria pueden derivar de una cepa particular de LCMV. Las cepas de LCMV incluyen Clon 13, cepa MP, Arm E-250, WE, UBC, Traub, Pasteur, 810885, CH-5692, Marseille #12, HP65-2009, 200501927, 810362, 811316, 810316, 810366, 20112714, Douglas, GR01, SN05, CABN y sus derivados. En realizaciones específicas, el ácido nucleico se deriva del Clon 13 de LCMV.

5 En otras realizaciones específicas, el ácido nucleico se deriva de la cepa MP de LCMV.

En una realización más específica, en la presente memoria se proporciona un ácido nucleico que comprende un segmento genómico de arnavirus que comprende una secuencia que es al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, al menos 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3. En otra realización, se proporciona en el presente un ácido nucleico que comprende un segmento genómico

10 de arnavirus que comprende (i) una secuencia de nucleótidos que es al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, al menos 99% o 100% idéntica a la secuencia de nucleótido 1639 a 3315 de SEQ ID NO: 11; y (ii) una secuencia de nucleótidos que codifica un antígeno de HBV.

En otra realización, en la presente memoria se proporciona un ácido nucleico que comprende un segmento genómico de arnavirus que comprende (i) una secuencia de nucleótidos que codifica un producto de expresión cuya secuencia de aminoácidos es al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96%, 97%, 98%, al menos 99% o 100% idéntica a la secuencia de aminoácidos codificada por 1639 a 3315 de SEQ ID NO: 11; y (ii) una secuencia de nucleótidos que codifica un antígeno de HBV.

15 de aminoácidos es al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96%, 97%, 98%, al menos 99% o 100% idéntica a la secuencia de aminoácidos codificada por 1639 a 3315 de SEQ ID NO: 11; y (ii) una secuencia de nucleótidos que codifica un antígeno de HBV.

En otra realización, en la presente memoria se proporciona un ácido nucleico que comprende un segmento genómico de arnavirus que comprende (i) una secuencia de nucleótidos que es al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98%, al menos 99% o 100% idéntica a la secuencia de nucleótidos 1640 a 3316 de SEQ ID NO: 12; y (ii) una secuencia de nucleótidos que codifica un antígeno de HBV.

20 de nucleótidos que es al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98%, al menos 99% o 100% idéntica a la secuencia de nucleótidos 1640 a 3316 de SEQ ID NO: 12; y (ii) una secuencia de nucleótidos que codifica un antígeno de HBV.

En otra realización, en la presente memoria se proporciona un ácido nucleico que comprende un segmento genómico de arnavirus que comprende (i) una secuencia de nucleótidos que codifica un producto de expresión cuya secuencia de aminoácidos es al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, al menos 99 % o 100 % idénticos a la secuencia de aminoácidos codificada por 1640 a 3316 de SEQ ID NO: 12; y (ii) una secuencia de nucleótidos que codifica un antígeno del HBV

25 a la secuencia de aminoácidos codificada por 1640 a 3316 de SEQ ID NO: 12; y (ii) una secuencia de nucleótidos que codifica un antígeno del HBV

En una realización, en la presente memoria se describe un sistema de vector que comprende uno o más vectores que juntos comprenden el genoma de una partícula de arnavirus infecciosa descrita en la presente memoria. Específicamente, en la presente memoria se proporciona un sistema de vector en donde uno o más vectores comprenden dos segmentos genómicos de arnavirus, a saber, un segmento L y un segmento S, de un arnavirus infeccioso descrito en la presente memoria. Tal sistema de vector puede comprender (en una o más moléculas de ADN separadas):

30 comprenden dos segmentos genómicos de arnavirus, a saber, un segmento L y un segmento S, de un arnavirus infeccioso descrito en la presente memoria. Tal sistema de vector puede comprender (en una o más moléculas de ADN separadas):

Un segmento genómico de arnavirus S que está modificado de tal manera que una partícula de arnavirus que lleva este segmento genómico S modificado no puede producir partículas de virus de progenie infecciosas y un segmento genómico de arnavirus L que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica (en sentido o antisentido) un antígeno de HBV;

35 Un segmento genómico de arnavirus S que está modificado de tal manera que una partícula de arnavirus que lleva este segmento genómico S modificado no puede producir partículas de virus de progenie infecciosas y un segmento genómico de arnavirus L que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica (en sentido o antisentido) un antígeno de HBV;

Un segmento genómico de arnavirus L que se modifica de tal manera que una partícula de arnavirus que lleva este segmento genómico L modificado no puede producir partículas de virus de progenie infecciosas y un segmento genómico de arnavirus S que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica en (sentido o antisentido) un antígeno del HBV;

40 Un segmento genómico de arnavirus L que se modifica de tal manera que una partícula de arnavirus que lleva este segmento genómico L modificado no puede producir partículas de virus de progenie infecciosas y un segmento genómico de arnavirus S que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica en (sentido o antisentido) un antígeno del HBV;

Un segmento genómico S de arnavirus que está modificado de tal manera que una partícula de arnavirus que lleva este segmento genómico S modificado no puede producir partículas de virus de progenie infecciosas y en donde el segmento genómico S de arnavirus comprende una secuencia de nucleótidos que codifica (en sentido o antisentido) un antígeno de HBV y que comprende un segmento genómico de arnavirus L de tipo salvaje; o

45 Un segmento genómico de arnavirus L que está modificado de tal manera que una partícula de arnavirus que lleva este segmento genómico L modificado no puede producir partículas de virus de progenie infecciosas y en donde el segmento genómico de arnavirus L comprende una secuencia de nucleótidos que codifica (en sentido o antisentido) un antígeno de HBV y que comprende un segmento genómico de arnavirus S de tipo salvaje.

En el contexto de la invención, en la presente memoria se proporciona una secuencia de ácido nucleico que comprende un segmento genómico de arnavirus (p. ej., LCMV) en donde el ORF que codifica la GP del segmento genómico S se sustituye por una secuencia de nucleótidos que comprende:

50 un segmento genómico de arnavirus (p. ej., LCMV) en donde el ORF que codifica la GP del segmento genómico S se sustituye por una secuencia de nucleótidos que comprende:

una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína pre-S2/S de hepatitis B o un fragmento antigénico de la misma;

una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína HBc del virus de la hepatitis B o un fragmento antigénico de la misma; o

una secuencia de nucleótidos que codifica una fusión de proteínas HBs y HBc del virus de la hepatitis B o fragmentos antigénicos de las mismas;

y en donde un vector viral que comprende el segmento genómico de arnavirus es capaz de provocar una respuesta de células T contra la proteína pre-S2/S del HBV, la proteína HBc, la fusión de proteínas HBs y HBc, o un fragmento antigénico de las mismas.

En ciertas realizaciones, en la presente memoria se proporciona una secuencia de ácido nucleico que comprende un segmento genómico de arnavirus (p. ej., LCMV) en la que el ORF que codifica la GP del segmento genómico S se sustituye por una secuencia de nucleótidos que codifica uno o más antígenos del HBV (p. ej., uno o más de los enumerados en el párrafo anterior).

En otra realización, una célula puede comprender un ácido nucleico o un sistema de vector descrito anteriormente en esta sección. También se describen líneas celulares derivadas de tales células, cultivos que comprenden tales células y métodos para cultivar tales células infectadas con ácidos nucleicos o sistemas de vectores. En ciertas realizaciones, la célula puede comprender un ácido nucleico que comprende el segmento genómico grande (segmento L) de un arnavirus infeccioso descrito en la presente memoria, en el que se elimina o inactiva funcionalmente un ORF del segmento genómico, y el segmento genómico comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un antígeno del HBV.

En otras realizaciones, la célula puede comprender una secuencia de ácido nucleico que comprende el segmento genómico corto (segmento S) de un arnavirus infeccioso proporcionado en la presente memoria, en la que se elimina o inactiva funcionalmente un ORF del segmento genómico y en donde el segmento genómico corto comprende una secuencia de nucleótidos que codifica la proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma.

En otras realizaciones, una célula puede comprender una secuencia de ácido nucleico que comprende el segmento genómico corto (segmento S) de un arnavirus infeccioso proporcionado en la presente memoria, en la que se elimina o inactiva funcionalmente un ORF del segmento genómico y en donde el segmento genómico corto comprende una secuencia de nucleótidos que codifica la proteína HBc del HBV o un fragmento antigénico de la misma.

En ejemplos, fuera del contexto de la invención, una célula puede comprender una secuencia de ácido nucleico que comprende el segmento genómico corto (segmento S) de un arnavirus infeccioso, en la que se elimina o inactiva funcionalmente un ORF del segmento genómico y en donde el segmento genómico corto comprende una secuencia de nucleótidos que codifica la proteína HBs del HBV o un fragmento antigénico de la misma.

En otras realizaciones, una célula puede comprender una secuencia de ácido nucleico que comprende el segmento genómico corto (segmento S) de un arnavirus infeccioso proporcionado en la presente memoria, en la que se elimina o inactiva funcionalmente un ORF del segmento genómico y en donde el segmento genómico corto comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína de fusión que comprende al menos aproximadamente dominio de la proteína HBs del HBV y la proteína HBc del HBV.

En otras realizaciones, una célula puede comprender una secuencia de ácido nucleico que comprende el segmento genómico corto (segmento S) de un arnavirus infeccioso proporcionado en la presente memoria, en la que se elimina o inactiva funcionalmente un ORF del segmento genómico y en donde el segmento genómico corto comprende una secuencia de nucleótidos que codifica uno o más de los antígenos del HBV.

En otra realización, una célula puede comprender dos ácidos nucleicos o sistemas de vectores descritos en la presente memoria.

En ciertas realizaciones, un ácido nucleico comprende una secuencia de nucleótidos que es al menos 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntico a SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14. En ciertas realizaciones, un vector de expresión comprende una secuencia de nucleótidos que es al menos 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntico a SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14. En ciertas realizaciones, una célula huésped comprende una secuencia de nucleótidos que es al menos 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntico a SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14.

En ciertas realizaciones, un ácido nucleico comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una secuencia de aminoácidos en al menos el 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntico a SEQ ID NO: 15, 16, 17 o 18. En ciertas realizaciones, un vector de expresión comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una secuencia de aminoácidos que es al menos 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntico a SEQ ID NO: 15, 16, 17 o 18. En ciertas realizaciones, una célula huésped comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una secuencia de aminoácidos que es al menos 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntico a SEQ ID NO: 15, 16, 17 o 18.



En ciertas realizaciones, una proteína aislada comprende una secuencia de aminoácidos de al menos 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntico a SEQ ID NO: 15, 16, 17 o 18. En ciertas realizaciones, una célula huésped expresa una proteína que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntico a SEQ ID NO: 15, 16, 17 o 18. En ciertas realizaciones, la célula huésped se cultiva en medio de cultivo celular.

En ciertas realizaciones, un ácido nucleico comprende una secuencia de nucleótidos que es al menos 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntico a SEQ ID NO: 12 o SEQ ID NO: 7. En ciertas realizaciones, un vector de expresión comprende una secuencia de nucleótidos que es al menos 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntico a SEQ ID NO: 12 o SEQ ID NO: 7. En ciertas realizaciones, una célula huésped comprende una secuencia de nucleótidos que es al menos 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntico a SEQ ID NO: 12 o SEQ ID NO: 7.

En ciertas realizaciones, un ácido nucleico comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una secuencia de aminoácidos en al menos el 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntico a SEQ ID NO: 21, 22, 23 o 24. En ciertas realizaciones, un vector de expresión comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una secuencia de aminoácidos que es al menos 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntico a SEQ ID NO: 21, 22, 23 o 24. En ciertas realizaciones, una célula huésped comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una secuencia de aminoácidos que es al menos 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntico a SEQ ID NO: 21, 22, 23 o 24.

En ciertas realizaciones, una proteína aislada comprende una secuencia de aminoácidos de al menos 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntico a SEQ ID NO: 21, 22, 23 o 24. En ciertas realizaciones, una célula huésped expresa una proteína que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntico a SEQ ID NO: 21, 22, 23 o 24. En ciertas realizaciones, la célula huésped se cultiva en medio de cultivo celular.

## 6.5 Métodos de uso

En la presente memoria se proporcionan vectores virales de arnavirus según la invención, para uso en inmunoterapias para infecciones por el virus de la hepatitis B. En una realización, en la presente memoria se proporcionan uno o más arnavirus infecciosos que expresan un antígeno del HBV como se proporciona en la presente memoria o una composición de los mismos para uso en métodos de tratamiento de una infección en un sujeto que comprende administrar al sujeto uno o más arnavirus infecciosos que expresan un antígeno del HBV como se proporciona presente o una composición del mismo. En ciertas realizaciones, los arnavirus infecciosos son deficientes en replicación. En ciertas realizaciones, los arnavirus infecciosos son competentes para la replicación. En una realización específica, un método para tratar una infección comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de uno o más arnavirus infecciosos que expresan un antígeno del HBV proporcionado en la presente memoria o una composición del mismo. El sujeto puede ser un mamífero, como, entre otros, un ser humano, un ratón, una rata, un conejillo de indias, un animal doméstico, como, entre otros, una vaca, un caballo, una oveja, un cerdo, una cabra, un gato, un perro, un hámster, un burro. En una realización específica, el sujeto es un ser humano.

En otra realización, los métodos para inducir una respuesta inmunitaria contra el HBV en un sujeto comprenden administrar al sujeto un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o una composición del mismo.

En otra realización, los sujetos a los que se administra un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV descrito en la presente memoria o una composición del mismo tienen, son susceptibles o corren el riesgo de contraer una infección por el HBV. En otra realización específica, los sujetos a los que se administra un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV descrito en la presente memoria o una composición del mismo están infectados, son susceptibles o corren el riesgo de contraer una infección por el HBV.

En otra realización, los sujetos a los que se administra un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV descrito en la presente memoria o una composición del mismo padecen, son susceptibles o corren el riesgo de contraer una infección por el HBV, p. ej., en el hígado. En una realización específica, los sujetos a los que se administra un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV descrito en la presente memoria o una composición del mismo padecen, son susceptibles o corren el riesgo de sufrir una infección por el HBV en uno o más órganos del cuerpo, p. ej., el hígado.

En otra realización, los sujetos a los que se administra un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV descrito en la presente memoria o una composición del mismo tienen resultados de prueba (p. ej., resultados de análisis de sangre) que indican daño hepático. En ciertas realizaciones, los sujetos tienen niveles de alanina

- aminotransferasa (ALT) en la sangre que indican daño hepático. En cierta realización, los sujetos tienen niveles de aspartato aminotransferasa (AST) en la sangre que indican daño hepático. En ciertas realizaciones, los sujetos tienen niveles de fosfatasa alcalina en la sangre que indican daño hepático. En ciertas realizaciones, los sujetos tienen niveles de lactato deshidrogenasa (LDH) en la sangre que indican daño hepático. En ciertas realizaciones, los sujetos tienen uno o más niveles de ALT, AST, fosfatasa alcalina y LDH en la sangre que indican daño hepático.
- En ciertas realizaciones, los sujetos tienen niveles de alfa-fetoproteína (AFP) en la sangre que indican cáncer de hígado o susceptibilidad al mismo. En ciertas realizaciones, los sujetos tienen niveles de bilirrubina (p. ej., bilirrubina conjugada) en la sangre que indican daño hepático. En ciertas realizaciones, los sujetos tienen niveles de albúmina en la sangre que indican daño hepático.
- En ciertas realizaciones, los sujetos tienen resultados de ultrasonido abdominal que indican daño hepático. En ciertas realizaciones, los sujetos tienen resultados de TAC que indican daño hepático. En ciertas realizaciones, los sujetos tienen resultados de resonancia magnética que indican daño hepático.
- En otra realización, los sujetos a los que se administra un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV descrito en la presente memoria o una composición del mismo tienen niveles detectables de antígeno HBs (HBsAg) en la sangre. En ciertas realizaciones, los sujetos tienen niveles detectables de anticuerpos IgM contra el antígeno HBc (HBcAg) en la sangre. En ciertas realizaciones, los sujetos tienen niveles detectables de antígeno HBe (HBeAg, la versión extracelular/secretada de la proteína HBc) en la sangre. En ciertas realizaciones, los sujetos tienen niveles detectables de anticuerpos contra HBsAg en la sangre.
- En otra realización, los sujetos a los que se administra un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV descrito en la presente memoria o una composición del mismo tienen niveles persistentes de HBsAg, indicativos de hepatitis crónica. En ciertas realizaciones, los sujetos tienen niveles persistentes de HBeAg, indicativos de hepatitis crónica. En ciertas realizaciones, los sujetos tienen niveles persistentes de HBsAg y HBeAg, indicativos de hepatitis crónica.
- En otra realización, los sujetos a los que se administra un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV descrito en la presente memoria o una composición del mismo sufren síntomas de infección por HBV, que incluyen, pero no se limitan a, pérdida de apetito, fatiga, náuseas, vómitos, picazón, dolor abdominal, hinchazón abdominal o ictericia.
- En otra realización, los sujetos a los que se administra un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV descrito en la presente memoria o una composición del mismo sufren manifestaciones del HBV, que incluyen, pero no se limitan a, hepatitis B aguda, infección crónica por el HBV, cirrosis y carcinoma hepatocelular (HCC). En otra realización, el arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV descrito en la presente memoria o una composición del mismo se administra a un sujeto con HBV asintomático.
- En otra realización, un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV como se describe en la presente memoria o una composición del mismo se administra a un sujeto de cualquier grupo de edad que padece, es susceptible o corre el riesgo de contraer una infección por el HBV. En una realización específica, un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV como se describe en la presente memoria o una composición del mismo se administra a un sujeto con un sistema inmunitario comprometido, un sujeto femenino en embarazo, un sujeto que se somete a un trasplante de órgano o de médula ósea, un sujeto que toma medicamentos inmunosupresores, un sujeto sometido a hemodiálisis, un sujeto que tiene cáncer, o un sujeto que padece, es susceptible o está en riesgo de sufrir una infección por HBV. En una realización más específica, un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV como se describe en la presente memoria o una composición del mismo se administra a un sujeto con un sistema inmunitario comprometido debido a la infección por el VIH, que padece, es susceptible o está en riesgo de padecer una infección por HBV. En otra realización específica más, un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV como se describe en la presente memoria o una composición del mismo se administra a un sujeto que es un niño de 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 o 17 años de edad que padecen, son susceptibles o corren el riesgo de contraer una infección por el HBV. En otra realización específica más, un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV descrito en la presente memoria o una composición del mismo se administra a un sujeto que es un bebé que padece, es susceptible o corre el riesgo de contraer una infección por el HBV. En otra realización específica más, un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV descrito en la presente memoria o una composición del mismo se administra a un sujeto que es un bebé de 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 meses de edad que padecen, son susceptibles o corren el riesgo de contraer una infección por el HBV. En otra realización específica más, un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV descrito en la presente memoria o una composición del mismo se administra a un sujeto de edad avanzada que padece, es susceptible o está en riesgo de infección por HBV.
- En otra realización, un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV descrito en la presente memoria o una composición del mismo se administra a sujetos con un mayor riesgo de infección por el HBV diseminada. En una realización específica, un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV descrito en la presente memoria o una composición del mismo se administra a sujetos en período neonatal con un sistema inmunitario neonatal inmaduro. En otra realización, se administra un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV descrito en la presente

memoria o una composición del mismo a un sujeto que utiliza fármacos intravenosos con un mayor riesgo de infección por el HBV.

En otra realización, un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV descrito en la presente memoria o una composición del mismo se administra a sujetos infectados con uno o más genotipos o subgenotipos del HBV. En ciertas realizaciones, el genotipo es uno o más de los genotipos A-J u otro genotipo. En ciertas realizaciones, el subgenotipo es uno o más subgenotipos A1-A6, B1-B4, C1-C6, D1-D7, F1-F4 u otro subgenotipo.

En otra realización, la administración de un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV como se describe en la presente memoria o una composición del mismo a sujetos confiere inmunidad mediada por células (CMI) contra una infección por el HBV. Sin estar ligado a la teoría, en otra realización, un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV como se describe en la presente memoria o una composición del mismo infecta y expresa antígenos de interés en células presentadoras de antígenos (APC) del huésped (p. ej., macrófagos) para la presentación directa de antígenos sobre el Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC) clase I y II. En otra realización, la administración de un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV como se describe en la presente memoria o una composición del mismo a sujetos induce respuestas de células T CD4+ y CD8+ específicas del HBV coproductoras de IFN- $\gamma$  y TNF- $\alpha$  plurifuncionales (el IFN- $\gamma$  es producido por células T CD4+ y T CD8+ y TNF- $\alpha$  es producido por células T CD4+) de gran magnitud para tratar o prevenir una infección por HBV.

En otra realización, la administración de un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o una composición del mismo reduce el riesgo de que un individuo desarrolle una infección por el HBV en al menos aproximadamente 10%, al menos aproximadamente 20%, al menos aproximadamente 25%, al menos 30%, al menos aproximadamente 35%, al menos aproximadamente 40%, al menos aproximadamente 50%, al menos aproximadamente 60%, al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 90%, o más, en comparación con el riesgo de desarrollar una infección por HBV en ausencia de tal tratamiento.

En otra realización, la administración de un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o una composición del mismo reduce los síntomas de una infección por el HBV en al menos aproximadamente 10 %, al menos aproximadamente 20 %, al menos aproximadamente 25 %, al menos aproximadamente 30 %, al menos aproximadamente 35 %, al menos aproximadamente 40 %, al menos aproximadamente 50 %, al menos aproximadamente 60 %, al menos aproximadamente 70 %, al menos aproximadamente 80 %, al menos aproximadamente 90 %, o más, en comparación con la manifestación de la síntomas de una infección por el HBV en ausencia de tal tratamiento.

En otra realización, la administración de un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o una composición del mismo a sujetos con un sistema inmunitario neonatal inmaduro induce una respuesta de inmunidad mediada por células (CMI) contra una infección por el HBV en al menos aproximadamente 10 %, al menos aproximadamente 20 %, al menos aproximadamente 25%, al menos aproximadamente 30%, al menos aproximadamente 35%, al menos aproximadamente 40%, al menos aproximadamente 50%, al menos aproximadamente 60%, al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 90%, o más, en comparación con la respuesta de inmunidad mediada por células (CMI) contra una infección con HBV en ausencia de tal tratamiento.

En ciertas realizaciones, la administración de un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o una composición del mismo reduce los niveles de ALT en la sangre. En ciertas realizaciones, la administración de un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o una composición del mismo reduce los niveles de AST en la sangre. En ciertas realizaciones, la administración de un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o una composición del mismo reduce los niveles de fosfatasa alcalina en la sangre. En ciertas realizaciones, la administración de un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o una composición del mismo reduce los niveles de LDH en la sangre. En ciertas realizaciones, la administración de un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o una composición del mismo reduce uno o más de los niveles de ALT, AST, fosfatasa alcalina y LDH en la sangre.

En ciertas realizaciones, la administración de un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o una composición del mismo reduce los niveles de AFP en la sangre. En ciertas realizaciones, la administración de un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o una composición del mismo reduce los niveles de bilirrubina (p. ej., bilirrubina conjugada) en la sangre. En ciertas realizaciones, la administración de un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o una composición del mismo aumenta los niveles de albúmina en la sangre.

En ciertas realizaciones, la administración de un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o una composición del mismo reduce los niveles de HBsAg en la sangre. En ciertas realizaciones, la administración de un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o una composición del mismo reduce los niveles de anticuerpos IgM contra el HBcAg en la sangre. En ciertas realizaciones, la administración de un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o una composición del mismo reduce los niveles de HBsAg en la sangre. En ciertas realizaciones, la administración de un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o una composición del mismo reduce los niveles de anticuerpos contra el HBsAg en la sangre.

En ciertas realizaciones, la administración de un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o una

composición del mismo reduce el número de cuerpos de inclusión detectados en las glándulas salivales u otra muestra histológica. En ciertas realizaciones, la administración de un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o una composición del mismo reduce el número de anticuerpos anti-HBV detectados en una muestra de sangre del paciente. En ciertas realizaciones, la administración de un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o una composición del mismo reduce la cantidad de HBV detectada en orina, saliva, sangre, lágrimas, semen o leche materna. En ciertas realizaciones, la administración de un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o una composición del mismo reduce el nivel de virus cultivado a partir de una muestra de orina, frotis faríngeo, lavado bronquial o tejido. En ciertas realizaciones, la administración de un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o una composición del mismo reduce el nivel de virus detectado a través de pruebas de PCR cuantitativas o cualitativas.

Los cambios en la función de respuesta de la inmunidad mediada por células (CMI) frente a una infección por el HBV inducida mediante la administración de un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o una composición del mismo en sujetos pueden medirse mediante cualquier ensayo conocido por el experto en la técnica, incluido, pero no limitado a, citometría de flujo (véase, p. ej., Perfetto S.P. et al., *Nat Rev Immun.* 2004; 4(8):648-55), ensayos de proliferación de linfocitos (véase, p. ej., Bonilla F.A. et al., *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2008; 101:101-4; y Hicks M.J. et al., *Am J Clin Pathol.* 1983; 80:159-63), ensayos para medir la activación de linfocitos, incluida la determinación de cambios en la expresión de marcadores de superficie después de la activación de la medición de citoquinas de linfocitos T (véase, p. ej., Caruso A. et al., *Cytometry.* 1997;27:71-6), ensayos ELISPOT (véase, p. ej., Czerkinsky CC et al., *J Immunol Methods.* 1983; 65:109-121; y Hutchings PR et al., *J Immunol Methods.* 1989; 120:1-8), o ensayos de citotoxicidad de células asesinas naturales (véase, p. ej., Bonilla F.A. et al., *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2005 mayo; 94(5 Suppl 1):S1-63).

En otra realización, en la presente memoria se describe el uso de un arnavirus infeccioso (p. ej., LCMV) que expresa un antígeno del HBV como se describe en la presente memoria, en donde el ORF que codifica la GP del segmento genómico S se sustituye por una secuencia de nucleótidos que comprende:

- a. una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma;
- b. una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína HBc del HBV o un fragmento antigénico de la misma; o
- c. una secuencia de nucleótidos que codifica una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigénicos de las mismas;

y en donde el arnavirus es capaz de provocar una respuesta de células T contra la proteína pre-S2/S del HBV, la proteína HBc, la fusión de proteínas HBs y HBc, o un fragmento antigénico de las mismas.

En otra realización, en la presente memoria se proporciona un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV como se reivindica para su uso en métodos para prevenir la transmisión y/o infección del HBV de una madre a un feto, los métodos comprenden administrar a un sujeto en edad fértil el arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV. Véase la Sección 6.2. En realizaciones específicas, los métodos para prevenir la transmisión y/o infección de HBV de una madre a un feto comprenden administrar a un sujeto seronegativo en edad fértil un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno de HBV como se describe en la presente memoria. En aún otra realización, los métodos para prevenir la transmisión y/o infección de HBV de una madre a un feto comprenden administrar a un sujeto en edad fértil con la intención de procrear un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno de HBV como se describe en la presente memoria.

En otra realización, los métodos para prevenir la transmisión y/o infección de HBV de una madre a un feto comprenden administrar a un sujeto en edad fértil uno o más arnavirus infecciosos que expresan un antígeno de HBV como se describe en la presente memoria. Véase la Sección 6.2. En realizaciones específicas, los métodos para prevenir la transmisión y/o infección de HBV de una madre a un feto comprenden administrar a un sujeto seronegativo en edad fértil uno o más arnavirus infecciosos que expresan un antígeno de HBV como se describe en la presente memoria.

En aún otra realización, los métodos para prevenir la transmisión y/o infección de HBV de una madre a un feto comprenden administrar a un sujeto en edad fértil con la intención de procrear uno o más arnavirus infecciosos que expresan un antígeno de HBV como se describe en la presente memoria.

En otra realización, los métodos para prevenir la transmisión y/o infección de HBV de una madre a un feto comprenden administrar a un sujeto femenino en embarazo un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno de HBV como se describe en la presente memoria. En realizaciones específicas, los métodos para prevenir la transmisión y/o infección de HBV de una madre a un feto comprenden administrar a un sujeto femenino en embarazo una cantidad efectiva de un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno de HBV descrito en la presente memoria.

En otra realización, los métodos para prevenir la transmisión y/o infección de HBV de una madre a un feto comprenden administrar a un sujeto femenino en embarazo uno o más arnavirus infecciosos que expresan un antígeno de HBV como se describe en la presente memoria. En realizaciones específicas, los métodos para prevenir la transmisión y/o infección de HBV de una madre a un feto comprenden administrar a un sujeto femenino en embarazo una cantidad efectiva de uno o más arnavirus infecciosos que expresan un antígeno de HBV descrito en la presente memoria.

En otra realización, la administración de un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno de HBV reduce la infección por HBV congénita. En otra realización, la administración de uno o más arnavirus infecciosos que expresan un antígeno de HBV reduce la infección por HBV congénita.

En otra realización, la administración de un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV reduce las manifestaciones de la infección por HBV congénita en al menos aproximadamente 10 %, al menos aproximadamente 20 %, al menos aproximadamente 25 %, al menos aproximadamente 30 %, al menos aproximadamente 35 %, al menos aproximadamente 40%, al menos aproximadamente 50%, al menos aproximadamente 60%, al menos aproximadamente 70%, al menos el 80%, al menos el 90% o más. En otra realización específica, la administración de un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno de HBV reduce la mortalidad de recién nacidos con infección congénita de HBV.

En otra realización, la administración de uno o más arnavirus infecciosos que expresan un antígeno del HBV reduce las manifestaciones de la infección congénita por HBV en al menos aproximadamente 10 %, al menos aproximadamente 20 %, al menos aproximadamente 25 %, al menos aproximadamente 30 %, al menos aproximadamente 35 %, al menos aproximadamente 40%, al menos aproximadamente 50%, al menos aproximadamente 60%, al menos aproximadamente 70%, al menos el 80%, al menos el 90% o más. En otra realización específica, la administración de uno o más arnavirus infecciosos que expresan un antígeno del HBV reduce la mortalidad de recién nacidos con infección congénita por HBV.

Tales manifestaciones de HBV congénito incluyen, pero no se limitan a, hepatitis B aguda, infección crónica por HBV, cirrosis y carcinoma hepatocelular (HCC).

## 6.6 Composiciones, Administración y Dosificación

La invención además se refiere a vacunas, composiciones inmunogénicas y composiciones farmacéuticas que comprenden un arnavirus modificado genéticamente como se describe en la presente memoria. Dichas vacunas y composiciones farmacéuticas se pueden formular de acuerdo con procedimientos estándar en la técnica.

En otra realización, en la presente memoria se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden un arnavirus infeccioso descrito en la presente memoria. Tales composiciones se pueden usar en métodos de tratamiento y prevención de enfermedades. En una realización específica, las composiciones descritas en la presente memoria se utilizan en los métodos de tratamiento de sujetos infectados o susceptibles a una infección por HBV. En otra realización específica, las composiciones inmunogénicas proporcionadas en la presente memoria se pueden usar para inducir una respuesta inmunitaria en un huésped al que se administra la composición. Las composiciones inmunogénicas descritas en la presente memoria se pueden usar como vacunas y, en consecuencia, se pueden formular como composiciones farmacéuticas. En una realización específica, las composiciones inmunogénicas proporcionadas en la presente memoria se utilizan en los métodos de prevención de la infección de sujetos (p. ej., sujetos humanos) por el HBV. En ciertas realizaciones, el vector viral de arnavirus infeccioso es deficiente en replicación (Véase la Sección 6.1 (a)). En ciertas realizaciones, el vector viral de arnavirus infeccioso es competente para la replicación (Véase la Sección 6.1 (b)).

En ciertas realizaciones, en la presente memoria se proporcionan composiciones inmunogénicas que comprenden un vector de arnavirus (o una combinación de diferentes vectores de arnavirus) como se describe en la presente memoria. En ciertas realizaciones, dicha composición inmunogénica comprende además un excipiente farmacéuticamente aceptable. En ciertas realizaciones, dicha composición inmunogénica comprende además un adyuvante. El adyuvante para la administración en combinación con una composición descrita en la presente memoria puede administrarse antes, junto con o después de la administración de dicha composición. En algunas realizaciones, el término "adyuvante" se refiere a un compuesto que, cuando se administra junto con o como parte de una composición descrita en la presente memoria, aumenta, mejora y/o potencia la respuesta inmunitaria a una partícula de arnavirus infecciosa, pero cuando el compuesto se administra solo no genera una respuesta inmunitaria a la partícula de arnavirus infecciosa. En algunas realizaciones, el adyuvante genera una respuesta inmunitaria a la partícula de arnavirus infecciosa y no produce alergia u otra reacción adversa. Los adyuvantes pueden potenciar una respuesta inmunitaria mediante varios mecanismos que incluyen, p. ej., el reclutamiento de linfocitos, la estimulación de células B y/o T y la estimulación de macrófagos. Cuando una vacuna o composición inmunogénica de la invención comprende adyuvantes o se administra junto con uno o más adyuvantes, los adyuvantes que se pueden usar incluyen, pero no se limitan a, adyuvantes de sales minerales o adyuvantes de gel de sales minerales, adyuvantes en partículas, adyuvantes en micropartículas, adyuvantes mucosales y adyuvantes inmunoestimuladores. Los ejemplos de adyuvantes incluyen, pero no se limitan a, sales de aluminio (alumbre) (tales como hidróxido de aluminio, fosfato de aluminio y sulfato de aluminio), monofosforil lípido A 3 Des-O-acilado (MPL) (véase GB 2220211), MF59 (Novartis), AS03 (GlaxoSmithKline), AS04 (GlaxoSmithKline), polisorbato 80 (Tween 80; ICL Americas, Inc.), compuestos de imidazopiridina (véase Solicitud Internacional No. PCT/US2007/064857, publicado como Publicación Internacional No. WO2007/109812), compuestos de imidazoquinolina (véase Solicitud Internacional No. PCT/US2007/064858, publicado como Publicación Internacional No. WO2007/109813) y saponinas, tales como QS21 (véase Kensil et al., en Kensil et al., in Vaccine Design: The Subunit and Adjuvant Approach (eds. Powell & Newman, Plenum Press, NY, 1995); U.S. Pat. No. 5,057,540). En algunas realizaciones, el adyuvante es el adyuvante de Freund (completo o incompleto). Otros adyuvantes son las emulsiones de aceite en agua (como el escualeno o el aceite de maní),

opcionalmente en combinación con inmunoestimulantes, tales como el monofosforil lípido A (véase Stoute et al., N. Engl. J. Med. 336, 86-91 (1997)).

Las composiciones comprenden los arenavirus infecciosos descritos en la presente memoria solos o junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable. Pueden usarse suspensiones o dispersiones de arenavirus modificados genéticamente, especialmente suspensiones o dispersiones acuosas isotónicas. Las composiciones farmacéuticas pueden esterilizarse y/o pueden comprender excipientes, p. ej., conservantes, estabilizantes, humectantes y/o emulsionantes, solubilizantes, sales para regular la presión osmótica y/o reguladores, y se preparan de manera conocida, por ejemplo mediante medios de procesos convencionales de dispersión y suspensión. En ciertas realizaciones, dichas dispersiones o suspensiones pueden comprender agentes reguladores de la viscosidad. Las suspensiones o dispersiones se mantienen a temperaturas alrededor de 2-8°C, o preferiblemente para un almacenamiento más prolongado, se pueden congelar y luego descongelar poco antes de su uso. Para inyección, la vacuna o las preparaciones inmunogénicas pueden formularse en soluciones acuosas, preferiblemente en reguladores fisiológicamente compatibles tales como solución de Hanks, solución de Ringer o regulador salino fisiológico. La solución puede contener agentes de formulación tales como agentes de suspensión, estabilización y/o dispersión.

En ciertas realizaciones, las composiciones descritas en la presente memoria comprenden adicionalmente un conservante, p. ej., el timerosal derivado de mercurio. En una realización específica, las composiciones farmacéuticas descritas en la presente memoria comprenden de 0,001 % a 0,01 % de timerosal. En otras realizaciones, las composiciones farmacéuticas descritas en la presente memoria no comprenden conservantes.

Las composiciones farmacéuticas comprenden aproximadamente  $10^3$  a aproximadamente  $10^{11}$  unidades formadoras de focos de los arenavirus manipulados genéticamente. Las formas de dosis unitarias para administración parenteral son, por ejemplo, ampollas o viales, p. ej., viales que contienen aproximadamente  $10^3$  a  $10^{10}$  unidades formadoras de foco o  $10^5$  a  $10^{15}$  partículas físicas de arenavirus modificados genéticamente.

En otra realización, una vacuna o composición inmunogénica proporcionada en la presente memoria se administra a un sujeto por vía oral, intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, tópica, subcutánea, percutánea, intranasal y por inhalación, y mediante escarificación (rascado a través de las capas superiores de la piel, por ejemplo, usando una aguja bifurcada). En concreto, se pueden utilizar las vías subcutánea, intramuscular o intravenosa.

Para la administración por vía intranasal o por inhalación, la preparación para uso de acuerdo con la presente invención se puede administrar convenientemente en forma de una presentación de aspersión en aerosol desde paquetes presurizados o un nebulizador, con el uso de un propulsor adecuado, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado. En el caso de un aerosol presurizado, la unidad de dosificación puede determinarse proporcionando una válvula para administrar una cantidad medida. Se pueden formular cápsulas y cartuchos de, p. ej., gelatina para uso en un inhalador o insufladores que contengan una mezcla de polvo del compuesto y una base de polvo adecuada tal como lactosa o almidón.

La dosificación del ingrediente activo depende del tipo de vacunación y del sujeto, y su edad, peso, condición individual, los datos farmacocinéticos individuales y el modo de administración.

Los procesos y usos de arenavirus modificados genéticamente para la fabricación de vacunas en forma de preparados farmacéuticos pueden comprender arenavirus modificados genéticamente como ingrediente activo. Las composiciones farmacéuticas de la presente invención se preparan de manera en sí conocida, por ejemplo mediante procesos de mezcla y/o dispersión convencionales.

## 6.7 Generación optimizada de vectores de LCMV

Debido a la eliminación o inactivación funcional de uno o más de los genes virales en vectores de arenavirus (aquí se tomará como ejemplo la eliminación de la glicoproteína, GP), los vectores de arenavirus pueden generarse y expandirse en células que proporcionan los genes eliminados o funcionalmente inactivados (p. ej., la GP) "en trans". El virus resultante en sí mismo es infeccioso pero no puede producir más partículas de progenie infecciosas en células que no se complementan debido a la falta de los genes virales eliminados o inactivados funcionalmente (p. ej., la GP). La célula complementaria puede proporcionar la funcionalidad faltante ya sea por transfección estable, transfección transitoria o por infección con un virus auxiliar que exprese la funcionalidad faltante.

En ciertas realizaciones, la célula complementaria proporciona el gen viral que se ha eliminado o inactivado funcionalmente del genoma del vector de arenavirus. En una realización específica, la célula complementaria proporciona el gen viral de una cepa viral que es la misma que la cepa viral que se usó para generar el genoma del vector de arenavirus. En otra realización, la célula complementaria proporciona el gen viral de una cepa viral que es diferente de la cepa viral que se usó para generar el genoma del vector de arenavirus. Por ejemplo, el gen viral proporcionado en la célula complementaria se obtiene de la cepa MP de LCMV y codifica una proteína que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15, 16, 17 o 18. En otro ejemplo, el gen viral proporcionado en la célula complementaria se obtiene de la cepa Clon 13 de LCMV y codifica una proteína que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21, 22, 23 o 24. En otro ejemplo, se obtiene el gen viral proporcionado en la célula complementaria de la cepa WE de LCMV y codifica una proteína que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 25.

En una realización específica, la célula complementaria proporciona la GP de la cepa MP de LCMV y el vector de arenavirus comprende un ORF de un antígeno del HBV humano como se describe en la presente memoria en lugar del ORF que codifica la proteína GP. En una realización aún más específica, la célula complementaria proporciona la GP de la cepa MP de LCMV y el vector de arenavirus se obtiene del Clon 13 de LCMV y comprende un ORF de un antígeno del HBV humano como se describe en la presente memoria en lugar del ORF que codifica la proteína GP. En una realización aún más específica, la proteína GP es al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, al menos 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 16.

En una realización específica, la célula complementaria proporciona la GP de la cepa Clon 13 de LCMV y el vector de arenavirus comprende un ORF de un antígeno del HBV humano como se describe en la presente memoria en lugar del ORF que codifica la proteína GP. En una realización aún más específica, la célula complementaria proporciona la GP de la cepa Clon 13 de LCMV y el vector de arenavirus se obtiene de la cepa MP de LCMV y comprende un ORF de un antígeno del HBV humano como se describe en la presente memoria en lugar del ORF que codifica la proteína GP. En una realización aún más específica, la proteína GP es al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, al menos 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22.

En una realización específica, la célula complementaria proporciona la GP de la cepa WE de LCMV y el vector de arenavirus comprende un ORF de un antígeno del HBV humano como se describe en la presente memoria en lugar del ORF que codifica la proteína GP. En una realización aún más específica, la célula complementaria proporciona la GP de la cepa WE de LCMV y el vector de arenavirus se obtiene del Clon 13 de LCMV y comprende un ORF de un antígeno del HBV humano como se describe en la presente memoria en lugar del ORF que codifica la proteína GP. En una realización aún más específica, la proteína GP es al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, al menos 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 25.

En una realización específica, la célula complementaria proporciona la GP de la cepa WE de LCMV y el vector de arenavirus comprende un ORF de un antígeno del HBV humano como se describe en la presente memoria en lugar del ORF que codifica la proteína GP. En una realización aún más específica, la célula complementaria proporciona la GP de la cepa WE de LCMV y el vector de arenavirus se obtiene de la cepa MP de LCMV y comprende un ORF de un antígeno del HBV humano como se describe en la presente memoria en lugar del ORF que codifica la proteína GP. En una realización aún más específica, la proteína GP es al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, al menos 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 25.

## 6.8 Terapia de combinación

### 6.8 (a) Métodos

En una realización, se proporcionan en la presente memoria dos o más arenavirus infecciosos según se reivindica, para uso en métodos de tratamiento y/o prevención de una infección por HBV en un sujeto que comprende administrar al sujeto dichos dos o más arenavirus infecciosos que expresan un antígeno de HBV. Véase, p. ej., la Sección 6.2. En realizaciones específicas, un método para tratar y/o prevenir una infección por HBV comprende administrar un primer arenavirus infeccioso que expresa un antígeno de HBV como se describe en la presente memoria, por ejemplo, en el que el ORF que codifica la GP del segmento genómico S se sustituye por una secuencia de nucleótidos que codifica el antígeno del HBV, en donde la secuencia de nucleótidos se selecciona del grupo que consiste en:

- a) una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma;
- b) una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína HBc del HBV o un fragmento antigénico de la misma; y

- c) una secuencia de nucleótidos que codifica una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigénicos de las mismas y, en donde el primer arenavirus infeccioso es capaz de provocar una respuesta de células T contra la proteína pre-S2/S del HBV, la proteína HBc, la fusión de proteínas HBs y HBc, o un fragmento antigénico de las mismas;

y un segundo arenavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV como se describe en la presente memoria, p. ej., en el que el ORF que codifica la GP del segmento genómico S se sustituye por una secuencia de nucleótidos que codifica el antígeno del HBV, en donde la secuencia de nucleótidos se selecciona del grupo que consiste en:

- a) una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma;
- b) una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína HBc del HBV o un fragmento antigénico de la misma; y

- c) una secuencia de nucleótidos que codifica una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigénicos de las mismas; y en donde el segundo arenavirus infeccioso es capaz de provocar una respuesta de células T contra la proteína pre-S2/S del HBV, la proteína HBc, la fusión de proteínas HBs y HBc, o un fragmento antigénico de la misma.

En ciertas realizaciones, los arenavirus infecciosos primero y segundo son deficientes en replicación. En ciertas realizaciones, los arenavirus infecciosos primero y segundo son competentes para la replicación. En ciertas

realizaciones, el arnavirus infeccioso primero o segundo es deficiente en replicación. En ciertas realizaciones, los arnavirus infecciosos primero y segundo están bisegmentados. En ciertas realizaciones, los arnavirus infecciosos primero y segundo están trisegmentados. En ciertas realizaciones, el arnavirus infeccioso primero o segundo está bisegmentado y el otro está trisegmentado.

- 5 En realizaciones específicas, los métodos para tratar y/o prevenir una infección por HBV comprenden administrar un primer arnavirus infeccioso que expresa un primer antígeno de HBV, seleccionado entre: una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma; una proteína HBc del HBV o un fragmento antigénico de la misma, y un segundo arnavirus infeccioso que expresa un segundo antígeno del HBV, seleccionado entre: una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma; una proteína HBc del HBV o un fragmento antigénico de la misma.
- 10 En ciertas realizaciones, los métodos para tratar y/o prevenir una infección comprenden administrar dos constructos de vector de arnavirus que expresan un antígeno de HBV como se describe en la presente memoria. En una realización específica, los dos constructos de vector de arnavirus expresan un antígeno de HBV diferente.  
  
En ciertas realizaciones, los métodos para tratar y/o prevenir una infección comprenden administrar dos o más constructos de vector de arnavirus que expresan un antígeno de HBV como se describe en la presente memoria. En una realización específica, los métodos para tratar y/o prevenir una infección comprenden administrar tres o más constructos de vector de arnavirus que expresan un antígeno de HBV como se describe en la presente memoria. En ciertas realizaciones, el constructo de vector de arnavirus puede basarse en LCMV.
- 15 En ciertas realizaciones, los métodos para tratar y/o prevenir una infección comprenden administrar dos o más constructos de vector de arnavirus, cada uno de los cuales expresa un antígeno de HBV diferente como se describe en la presente memoria. En una realización específica, los métodos para tratar y/o prevenir una infección comprenden administrar tres o más constructos de vector de arnavirus, cada uno de los cuales expresa un antígeno de HBV diferente como se describe en la presente memoria. En ciertas realizaciones, el constructo de vector de arnavirus puede basarse en LCMV.
- 20 En realizaciones específicas, el antígeno es la proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento de la misma. (Véase, p. ej., la Sección 6.2(a)).
- 25 En ciertas realizaciones, el antígeno es la proteína HBc del HBV o un fragmento de la misma. (Véase, p. ej., la Sección 6.2(b)).  
  
En ciertas realizaciones, el antígeno es la proteína HBs del HBV o un fragmento de la misma. (Véase, p. ej., la Sección 6.2(c)).
- 30 En ciertas realizaciones, el antígeno es una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigénicos de las mismas. (Véase, p. ej., la Sección 6.2(d)).  
  
En ciertas realizaciones, el antígeno es la proteína HBe del HBV o un fragmento de la misma. (Véase, p. ej., la Sección 6.2(e)).
- 35 En ciertas realizaciones, el vector generado para codificar uno o más antígenos de HBV como se describe en la presente memoria comprende uno o más ácidos nucleicos que codifican un antígeno de HBV y combinaciones de los mismos como se describe. En realizaciones específicas, los antígenos del HBV, como se describe en la presente memoria, están separados por diversos enlazadores, espaciadores y sitios de escisión como se describe en la presente memoria.
- 40 En otra realización, el vector generado para codificar uno o más antígenos de HBV como se describe en la presente memoria del primer arnavirus infeccioso puede basarse en el Clon 13 de LCMV o en la cepa MP de LCMV. (Véase, p. ej., la Sección 7.1).
- 45 En otra realización, el vector generado para codificar uno o más antígenos de HBV como se describe en la presente memoria del segundo arnavirus infeccioso puede basarse en el Clon 13 de LCMV o en la cepa MP de LCMV. (Véase, p. ej., la Sección 7.1). En otra realización, el vector generado para codificar uno o más antígenos del HBV como se describe en la presente memoria del primer arnavirus infeccioso puede estar basado en el virus Junín.
- En otra realización, el vector generado para codificar uno o más antígenos del HBV como se describe en la presente memoria del segundo arnavirus infeccioso puede estar basado en el virus Junín.
- 50 En una realización específica, los métodos para tratar y/o prevenir una infección en un sujeto comprenden administrar al sujeto un primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma y un segundo arnavirus infeccioso que expresa una proteína HBc del HBV o un fragmento antigénico de la misma.  
  
En una realización específica, los métodos para tratar y/o prevenir una infección en un sujeto comprenden administrar secuencialmente al sujeto un primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma y un segundo arnavirus infeccioso que expresa una proteína HBs del HBV o un fragmento





simultáneamente al sujeto un primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína HBc del HBV o un fragmento antigénico de la misma y un segundo arnavirus infeccioso que expresa una proteína HBe del HBV o un fragmento antigénico de la misma.

5 En una realización específica, los métodos para tratar y/o prevenir una infección en un sujeto comprenden administrar simultáneamente al sujeto un primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína HBs del HBV o un fragmento antigénico de la misma y un segundo arnavirus infeccioso que expresa una proteína HBc del HBV o un fragmento antigénico de la misma.

10 En una realización específica, los métodos para tratar y/o prevenir una infección en un sujeto comprenden administrar simultáneamente al sujeto un primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína HBe del HBV o un fragmento antigénico de la misma y un segundo arnavirus infeccioso que expresa una proteína HBc del HBV o un fragmento antigénico de la misma.

En otra realización, el primer arnavirus infeccioso que expresa un antígeno de HBV es un antígeno de vacuna primario y el segundo arnavirus infeccioso que expresa otro antígeno de HBV es un antígeno de vacuna secundario.

15 En ciertas realizaciones, la administración de un primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento de la misma o una proteína HBc del HBV y un segundo arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o una proteína HBc del HBV proporciona un mejor efecto de protección al HBV después de la vacunación que administrar un solo arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV, p. ej., expresando solo la proteína pre-S2/S (o un fragmento de la misma) o solo la proteína HBc. En otras realizaciones, administrar un primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento de la misma o una proteína HBc del HBV y un segundo arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento de la misma o una proteína HBc del HBV provoca una respuesta inmunitaria mayor que la administración de un solo arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV, por ejemplo, expresando solo la proteína pre-S2/S (o un fragmento de la misma) o solo la proteína HBc. En otra realización, administrar un primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento de la misma o una proteína HBc del HBV y un segundo arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento de la misma, o una proteína HBc del HBV provoca una respuesta de células T CD8+ mayor que la administración de un solo arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV, p. ej., expresando solo la proteína pre-S2/S (o un fragmento de la misma) o solo la proteína HBc. En otras realizaciones, administrar un primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento de la misma o una proteína HBc del HBV y un segundo arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento de la misma o una proteína HBc del HBV provoca títulos más elevados de anticuerpos neutralizantes que la administración de un solo arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV, p. ej., expresando solo la proteína pre-S2/S (o un fragmento de la misma) o solo la proteína HBc.

35 En ciertas realizaciones, la administración de un primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento de la misma o una proteína HBs del HBV y un segundo arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o una proteína HBs del HBV proporciona un mejor efecto de protección al HBV después de la vacunación que administrar un solo arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV, p. ej., expresando solo la proteína pre-S2/S (o un fragmento de la misma) o solo la proteína HBs. En otras realizaciones, administrar un primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento de la misma o una proteína HBs del HBV y un segundo arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento de la misma o una proteína HBs del HBV provoca una respuesta inmunitaria mayor que la administración de un solo arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV, p. ej., expresando solo la proteína pre-S2/S (o un fragmento de la misma) o solo la proteína HBs. En otra realización, la administración de un primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento de la misma o una proteína HBs del HBV y un segundo arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento de la misma, o una proteína HBs del HBV provoca una respuesta de células T CD8+ mayor que la administración de un solo arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV, p. ej., expresando solo la proteína pre-S2/S (o un fragmento de la misma) o solo la proteína HBs. En otras realizaciones, administrar un primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento de la misma o una proteína HBs del HBV y un segundo arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento de la misma o una proteína HBs del HBV provoca títulos más elevados de anticuerpos neutralizantes que la administración de un solo arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV, p. ej., expresando solo la proteína pre-S2/S (o un fragmento de la misma) o solo la proteína HBs.

55 En ciertas realizaciones, administrar un primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento de la misma o una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV y un segundo arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV proporcionan un mejor efecto protector contra el HBV después de la vacunación que la administración de un solo arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV, p. ej., expresando solo la proteína pre-S2/S (o un fragmento de la misma) o solo la fusión de proteínas HBs y HBc del HBV. En otras realizaciones, administrar un primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento de la misma o una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV y un segundo arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento de la misma o una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV provoca una respuesta inmunitaria mayor que la administración de un solo arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV, p. ej., expresando solo la proteína pre-S2/S (o un fragmento de la misma)

o solo la fusión de proteínas HBs y HBc del HBV. En otra realización, administrar un primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento de la misma o una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV y un segundo arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento de la misma, o una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV provoca una respuesta de células T CD8+ mayor que la administración de un solo arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV, por ejemplo, expresando solo la proteína pre-S2/S (o un fragmento de la misma) o solo la fusión de proteínas HBs y HBc del HBV. En otras realizaciones, administrar un primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento de la misma o una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV y un segundo arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento de la misma o una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV provoca títulos más elevados de anticuerpos neutralizantes que la administración de un solo arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV, p. ej., que expresa solo la proteína pre-S2/S (o un fragmento de la misma) o solo la fusión de proteínas HBs y HBc del HBV.

En ciertas realizaciones, la administración de un primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento de la misma o una proteína HBe del HBV y un segundo arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o una proteína HBe del HBV proporciona un mejor efecto de protección al HBV después de la vacunación que administrar un solo arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV, p. ej., expresando solo la proteína pre-S2/S (o un fragmento de la misma) o solo la proteína HBe. En otras realizaciones, administrar un primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento de la misma o una proteína HBe del HBV y un segundo arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento de la misma o una proteína HBe del HBV provoca una respuesta inmunitaria mayor que la administración de un solo arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV, por ejemplo, expresando solo la proteína pre-S2/S (o un fragmento de la misma) o solo la proteína HBe. En otra realización, administrar un primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento de la misma o una proteína HBe del HBV y un segundo arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento de la misma, o una proteína HBe del HBV provoca una respuesta de células T CD8+ mayor que la administración de un solo arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV, por ejemplo, expresando solo la proteína pre-S2/S (o un fragmento de la misma) o solo la proteína HBe. En otras realizaciones, administrar un primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento de la misma o una proteína HBe del HBV y un segundo arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento de la misma o una proteína HBe del HBV provoca títulos más elevados de anticuerpos neutralizantes que la administración de un solo arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV, por ejemplo, expresando solo la proteína pre-S2/S (o un fragmento de la misma) o solo la proteína HBe.

En aún otra realización, en la presente memoria se proporciona el uso combinado del arnavirus deficiente en replicación que expresa un antígeno del HBV descrito en la presente memoria y uno o más vectores de virus defectuosos en replicación. En una realización más específica, el vector de virus defectuoso en replicación se selecciona del grupo que comprende poxvirus, adenovirus, alfavirus, virus del herpes simple, paramixovirus, rabdovirus, poliovirus, virus adenoasociados y virus sendai, y mezclas de los mismos. En una realización específica, el poxvirus es una vacuna Ankara modificada.

En aún otra realización, en la presente memoria se proporciona el uso combinado del arnavirus deficiente en replicación que expresa un antígeno de HBV descrito en la presente memoria y uno o más vectores de virus defectuosos en replicación que expresan un antígeno de HBV. En una realización más específica, el vector de virus defectuoso en replicación se selecciona del grupo que comprende poxvirus, adenovirus, alfavirus, virus del herpes simple, paramixovirus, rabdovirus, poliovirus, virus adenoasociados y virus sendai, y mezclas de los mismos. En una realización específica, el poxvirus es una vacuna Ankara modificada.

En otra realización, el primer arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV como se describe en la presente memoria se administra antes o después del segundo arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV como se describe en la presente memoria. Por ejemplo, el primer arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV se administra alrededor de 30-60 minutos antes o después de la primera administración del segundo arnavirus infeccioso.

En otra realización, el primer arnavirus infeccioso que expresa un antígeno de vacuna se administra antes que el segundo arnavirus infeccioso que expresa un antígeno de vacuna. En ciertas realizaciones hay un periodo de aproximadamente 1 hora, 2 horas, 3 horas, 6 horas, 12 horas, 1 día, 2 días, 3 días, 5 días, 1 semana, 2 semanas, 1 mes, 2 meses, 3 meses, 4 meses, 5 meses, 6 meses, 7 meses, 8 meses, 9 meses, 10 meses, 11 meses, 1 año entre la administración del primer arnavirus infeccioso y el segundo arnavirus infeccioso.

En otra realización, se administran dos arnavirus infecciosos en un régimen de tratamiento en relaciones molares que oscilan entre aproximadamente 1:1 y 1:1000, que incluyen en particular: relación 1:1, relación 1:2, relación 1:5, relación 1:10, relación 1:20, relación 1:50, relación 1:100, relación 1:200, relación 1:300, relación 1:400, relación 1:500, relación 1:600, relación 1:700, relación 1:800, relación 1:900, relación 1:1000.

En otra realización, los sujetos a los que se les administran dos o más arnavirus infecciosos que expresan un antígeno del HBV descrito en la presente memoria tienen, son susceptibles o corren el riesgo de contraer una infección por HBV. En otra realización, los sujetos a los que se administran dos o más arnavirus infecciosos que expresan un antígeno del HBV descrito en la presente memoria están infectados, son susceptibles o corren el riesgo de contraer

una infección por el HBV.

En otra realización, los sujetos a los que se administran simultáneamente dos o más arenavirus infecciosos que expresan un antígeno del HBV descrito en la presente memoria tienen, son susceptibles o corren el riesgo de contraer una infección por HBV. En otra realización, los sujetos a los que se administran simultáneamente dos o más arenavirus infecciosos que expresan un antígeno del HBV descrito en la presente memoria están infectados, son susceptibles o corren el riesgo de contraer una infección por el HBV.

En otra realización, los sujetos a los que se administran secuencialmente dos o más arenavirus infecciosos que expresan un antígeno del HBV descrito en la presente memoria tienen, son susceptibles o corren el riesgo de contraer una infección por HBV. En otra realización, los sujetos a los que se administran secuencialmente dos o más arenavirus infecciosos que expresan un antígeno del HBV descrito en la presente memoria están infectados, son susceptibles o corren el riesgo de contraer una infección por HBV.

En otra realización, dichos dos o más arenavirus infecciosos que expresan un antígeno del HBV como se describe en la presente memoria se administran además en combinación con al menos otro medicamento para tratar y/o prevenir el HBV. Los medicamentos terapéuticos para tratar y/o prevenir el HBV incluyen, pero no se limitan a, entecavir (BARACLUDE®; Bristol-Myers Squibb), lamivudina (EPIVIR HBV®; GlaxoSmithKline), adefovir dipivoxil (HEPSERA®; Gilead Sciences), interferón alfa 2b (INTRON A®; Schering), interferón pegilado (PEGASYS®; Roche), telbivudina (TYZEKA®, Novartis) y tenofovir (VIREAD®, Gilead Sciences).

En otra realización, dichos dos o más arenavirus infecciosos que expresan un antígeno del HBV como se describe en la presente memoria se administran además en combinación con al menos otro inmunomodulador. En una realización más específica, dichos dos o más arenavirus infecciosos que expresan un antígeno del HBV como se describe en la presente memoria se administran además en combinación con al menos aproximadamente adyuvante específico de Th1. En una realización más específica, el adyuvante específico de Th-1 es Bacillus Calmette-Guerin (BCG).

En otra realización, el régimen de administración puede implicar la administración a un sujeto sintomático de un segundo arenavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV como se describe en la presente memoria. En aún otra realización, el régimen de administración puede implicar la administración a un sujeto con un sistema inmunitario comprometido, especialmente receptores de trasplantes, personas infectadas por el VIH, un sujeto femenino en embarazo, un sujeto que tiene cáncer, un segundo arenavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV como se describe en la presente memoria. En otra realización, se administran dos o más arenavirus infecciosos que expresan un antígeno del HBV como se describe en la presente memoria a un sujeto que es un niño de 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 o 17 años de edad que padecen, son susceptibles o corren el riesgo de contraer una infección por el HBV.

En otra realización, el régimen de administración puede implicar administrar a un sujeto que es un niño un primer arenavirus que expresa un antígeno del HBV y administrar al mismo sujeto que es un adolescente un segundo arenavirus que expresa un antígeno del HBV. En una realización específica, el régimen de administración puede implicar administrar a un sujeto que tiene 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, o 17 años de edad un primer arenavirus que expresa un antígeno del HBV como se describe en la presente memoria, y al mismo sujeto que tiene 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 años de edad un segundo arenavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV.

En otra realización, el régimen de administración puede implicar la administración a un sujeto preadolescente de un segundo arenavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV. En otra realización, el régimen de administración puede implicar la administración a un varón adolescente, de 12 a 18 años de edad, de un segundo arenavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV como se describe en la presente memoria. En otra realización, el régimen de administración puede implicar la administración a una mujer, de 12 a 18 años de edad, de un segundo arenavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV.

En otra realización, la administración de dos o más arenavirus infecciosos que expresan un antígeno del HBV reduce el riesgo de que un individuo desarrolle una infección por el HBV en al menos aproximadamente 10 %, al menos aproximadamente 20 %, al menos aproximadamente 25 %, al menos aproximadamente 30 %, al menos aproximadamente 40 %, al menos aproximadamente 50 %, al menos aproximadamente 60 %, al menos aproximadamente 70 %, al menos aproximadamente 80 %, al menos aproximadamente 90 % o más, en comparación con el riesgo de desarrollar una infección por HBV en la ausencia de tal tratamiento.

En otra realización, la administración de dos o más arenavirus infecciosos que expresan un antígeno del HBV, administrados por separado, reduce el riesgo de que un individuo desarrolle una infección por el HBV en al menos aproximadamente 10 %, al menos aproximadamente 20 %, al menos aproximadamente 25 %, al menos aproximadamente 30 %, al menos aproximadamente 40 %, al menos aproximadamente 50 %, al menos aproximadamente 60 %, al menos aproximadamente 70 %, al menos aproximadamente 80 %, al menos aproximadamente 90 %, o más, en comparación con el riesgo de desarrollar una infección por el HBV en ausencia de tal tratamiento.

En otra realización, la administración de dos o más arenavirus infecciosos que expresan un antígeno del HBV,

administrados secuencialmente, reduce el riesgo de que un individuo desarrolle una infección por el HBV en al menos aproximadamente 10 %, al menos aproximadamente 20 %, al menos aproximadamente 25 %, al menos aproximadamente 30 %, al menos aproximadamente 40 %, al menos aproximadamente 50 %, al menos aproximadamente 60 %, al menos aproximadamente 70 %, al menos aproximadamente 80 %, al menos aproximadamente 90 %, o más, en comparación con el riesgo de desarrollar una infección por el HBV en ausencia de tal tratamiento.

Sin estar limitado por la teoría, la administración de un primer arnavirus infeccioso y posteriormente de un segundo vector de arnavirus infeccioso da como resultado un efecto de principal-refuerzo.

En ciertas realizaciones, en la presente memoria se proporcionan métodos para tratar y/o prevenir una infección por HBV que comprenden la administración de dos o más constructos de vectores de arnavirus, cada uno de los cuales expresa el mismo antígeno del HBV o uno diferente de forma secuencial. El intervalo de tiempo entre cada administración puede ser de aproximadamente 1 semana, aproximadamente 2 semanas, aproximadamente 3 semanas, aproximadamente 4 semanas, aproximadamente 5 semanas, aproximadamente 6 semanas, aproximadamente 7 semanas, aproximadamente 8 semanas, aproximadamente 3 meses, aproximadamente 4 meses, aproximadamente 5 meses, aproximadamente 6 meses, aproximadamente 7 meses, aproximadamente 8 meses, aproximadamente 9 meses, aproximadamente 10 meses, aproximadamente 11 meses, aproximadamente 12 meses, aproximadamente 18 meses o aproximadamente 24 meses.

En ciertas realizaciones, el primer arnavirus infeccioso y el segundo arnavirus infeccioso son homólogos. En ciertas realizaciones, el primer arnavirus infeccioso y el segundo arnavirus infeccioso son heterólogos.

En ciertas realizaciones específicas, el primer arnavirus infeccioso es un arnavirus del Viejo Mundo, y el segundo arnavirus infeccioso es un arnavirus del Viejo Mundo. En ciertas realizaciones específicas, el primer arnavirus infeccioso es un arnavirus del Viejo Mundo, y el segundo arnavirus infeccioso es un arnavirus del Nuevo Mundo. En ciertas realizaciones específicas, el primer arnavirus infeccioso es un arnavirus del Nuevo Mundo, y el segundo arnavirus infeccioso es un arnavirus del Nuevo Mundo. En ciertas realizaciones específicas, el primer arnavirus infeccioso es un arnavirus del Nuevo Mundo, y el segundo arnavirus infeccioso es un arnavirus del Viejo Mundo.

En ciertas realizaciones específicas, el primer arnavirus infeccioso se deriva de LCMV y el segundo arnavirus infeccioso se deriva de LCMV. En ciertas realizaciones específicas, el primer arnavirus infeccioso se deriva del LCMV y el segundo arnavirus infeccioso se deriva del virus Junín. En ciertas realizaciones específicas, el primer arnavirus infeccioso se deriva del virus Junín y el segundo arnavirus infeccioso se deriva del virus Junín. En ciertas realizaciones específicas, el primer arnavirus infeccioso se deriva del virus Junín y el segundo arnavirus infeccioso se deriva del LCMV.

En ciertas realizaciones, en la presente memoria se proporciona un método para tratar y/o prevenir una infección por HBV en donde un primer arnavirus infeccioso se administra primero como "principal" y un segundo arnavirus infeccioso se administra como "refuerzo". Los vectores de arnavirus infecciosos primero y segundo pueden expresar los mismos o diferentes antígenos de HBV. En ciertas realizaciones específicas, la administración "principal" se realiza con un arnavirus infeccioso derivado del LCMV, y el "refuerzo" se realiza con un arnavirus infeccioso derivado del virus Junín. En ciertas realizaciones específicas, la administración "principal" se realiza con un arnavirus infeccioso derivado del virus Junín, y el "refuerzo" se realiza con un arnavirus infeccioso derivado del LCMV.

En ciertas realizaciones, la administración de un primer arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o un fragmento del mismo, seguido de la administración de un segundo arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o un fragmento del mismo da como resultado una mayor respuesta de células T CD8+ específicas de antígeno que la administración de un único arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o un fragmento del mismo. En ciertas realizaciones, el recuento de células T CD8+ específicas de antígeno aumenta en un 50 %, 100 %, 150 % o 200 % después de la segunda administración en comparación con la primera administración. En ciertas realizaciones, la administración de un tercer arnavirus infeccioso que expresa un antígeno de HBV da como resultado una mayor respuesta de células T CD8+ específicas de antígeno que la administración de dos arnavirus infecciosos consecutivos que expresan un antígeno de HBV. En ciertas realizaciones, el recuento de células T CD8+ específicas de antígeno aumenta aproximadamente un 50 %, aproximadamente un 100 %, aproximadamente un 150 %, aproximadamente un 200 % o aproximadamente un 250 % después de la tercera administración en comparación con la primera administración.

En ciertas realizaciones, en la presente memoria se proporcionan métodos para tratar y/o prevenir una infección que comprenden la administración de dos o más constructos de vector de arnavirus, en donde los dos o más constructos de vector de arnavirus son homólogos, y en donde el intervalo de tiempo entre cada administración es de aproximadamente 1 semana, aproximadamente 2 semanas, aproximadamente 3 semanas, aproximadamente 4 semanas, aproximadamente 5 semanas, aproximadamente 6 semanas, aproximadamente 7 semanas, aproximadamente 8 semanas, aproximadamente 3 meses, aproximadamente 4 meses, aproximadamente 5 meses, aproximadamente 6 meses, aproximadamente 7 meses, aproximadamente 8 meses, aproximadamente 9 meses, aproximadamente 10 meses, aproximadamente 11 meses, aproximadamente 12 meses, aproximadamente 18 meses o aproximadamente 24 meses.

En ciertas realizaciones, la administración de un primer arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o un fragmento del mismo y un segundo arnavirus infeccioso heterólogo que expresa un antígeno del HBV o un fragmento del mismo provoca una mayor respuesta de células T CD8+ que la administración de un primer arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o un fragmento del mismo y un segundo arnavirus infeccioso homólogo que expresa un antígeno del HBV o un fragmento del mismo.

En ciertas realizaciones específicas, el primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV es LCMV, y el segundo arnavirus infeccioso heterólogo que expresa una proteína pre-S2/S del HBV es el virus Junín. En ciertas realizaciones específicas, el primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV es el virus Junín, y el segundo arnavirus infeccioso heterólogo que expresa una proteína pre-S2/S del HBV es LCMV.

En ciertas realizaciones específicas, el primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína HBc del HBV es LCMV, y el segundo arnavirus infeccioso heterólogo que expresa una proteína HBc del HBV es el virus Junín. En ciertas realizaciones específicas, el primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína HBc del HBV es el virus Junín, y el segundo arnavirus infeccioso heterólogo que expresa una proteína HBc del HBV es el LCMV.

En ciertas realizaciones específicas, el primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína de fusión HBs y HBc del HBV es LCMV, y el segundo arnavirus infeccioso heterólogo que expresa una proteína de fusión HBs y HBc del HBV es el virus Junín. En ciertas realizaciones específicas, el primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína de fusión HBs y HBc del HBV es el virus Junín, y el segundo arnavirus infeccioso heterólogo que expresa una proteína de fusión HBs y HBc del HBV es el LCMV.

En ciertas realizaciones específicas, la administración de un primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV y un segundo arnavirus infeccioso heterólogo que expresa una proteína pre-S2/S del HBV provoca una mayor respuesta de células T CD8+ que la administración de un primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV y un segundo arnavirus infeccioso homólogo que expresa proteína pre-S2/S del HBV. En ciertas realizaciones específicas, la administración de un primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV y un segundo arnavirus infeccioso heterólogo que expresa una proteína pre-S2/S del HBV provoca una respuesta de células T CD8+ que es aproximadamente 20 %, aproximadamente 40 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 100 %, aproximadamente 120 %, aproximadamente 140 %, aproximadamente 160 %, aproximadamente 180 % o aproximadamente 200 % mayor que administrar un primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV y un segundo arnavirus infeccioso homólogo que expresa una proteína pre-S2/S del HBV.

En ciertas realizaciones específicas, la administración de un primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína HBc del HBV y un segundo arnavirus infeccioso heterólogo que expresa una proteína HBc del HBV provoca una mayor respuesta de células T CD8+ que la administración de un primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína HBc del HBV y un segundo arnavirus infeccioso homólogo que expresa una proteína HBc del HBV. En ciertas realizaciones específicas, la administración de un primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína HBc del HBV y un segundo arnavirus infeccioso heterólogo que expresa una proteína HBc del HBV provoca una respuesta de células T CD8+ que es de aproximadamente 20 %, aproximadamente 40 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 100 %, aproximadamente 120 %, aproximadamente 140 %, aproximadamente 160 %, aproximadamente 180 % o aproximadamente 200 % mayor que administrar un primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína HBc del HBV y un segundo arnavirus infeccioso homólogo que expresa una proteína HBV del HBV proteína.

En ciertas realizaciones específicas, la administración de un primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína de fusión HBs y HBc del HBV y un segundo arnavirus infeccioso heterólogo que expresa una proteína de fusión HBs y HBc del HBV provoca una mayor respuesta de células T CD8+ que la administración de un primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína de fusión HBs y HBc del HBV y un segundo arnavirus infeccioso homólogo que expresa la proteína de fusión HBs y HBc del HBV. En ciertas realizaciones específicas, la administración de un primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína de fusión HBs y HBc del HBV y un segundo arnavirus infeccioso heterólogo que expresa una proteína de fusión HBs y HBc del HBV provoca una respuesta de células T CD8+ que es aproximadamente 20 %, aproximadamente 40 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 100 %, aproximadamente 120 %, aproximadamente 140 %, aproximadamente 160 %, aproximadamente 180 % o aproximadamente 200 % mayor que administrar un primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína de fusión HBs y HBc del HBV y un segundo arnavirus infeccioso homólogo que expresa una proteína de fusión HBs y HBc del HBV.

En ciertas realizaciones, en la presente memoria se proporcionan métodos para tratar y/o prevenir una infección que comprenden la administración de dos o más constructos de vector de arnavirus, en donde los dos o más constructos de vector de arnavirus son heterólogos, y en donde el intervalo de tiempo entre cada administración es de aproximadamente 1 semana, aproximadamente 2 semanas, aproximadamente 3 semanas, aproximadamente 4 semanas, aproximadamente 5 semanas, aproximadamente 6 semanas, aproximadamente 7 semanas, aproximadamente 8 semanas, aproximadamente 3 meses, aproximadamente 4 meses, aproximadamente 5 meses, aproximadamente 6 meses, aproximadamente 7 meses, aproximadamente 8 meses, aproximadamente 9 meses, aproximadamente 10 meses, aproximadamente 11 meses, aproximadamente 12 meses, aproximadamente 18 meses

o aproximadamente 24 meses.

En aún otra realización, en la presente memoria se proporciona el uso combinado del arnavirus deficiente en replicación que expresa un antígeno del HBV descrito en la presente memoria y uno o más vectores de virus defectuosos en replicación. En una realización más específica, el vector de virus defectuoso en replicación se selecciona del grupo que comprende poxvirus, adenovirus, alfavirus, virus del herpes simple, paramixovirus, rabdovirus, poliovirus, virus adenoasociados y virus sendai, y mezclas de los mismos. En una realización específica, el poxvirus es una vacuna Ankara modificada.

En aún otra realización, en la presente memoria se proporciona el uso combinado del arnavirus deficiente en replicación que expresa un antígeno de HBV descrito en la presente memoria y uno o más vectores de virus defectuosos en replicación que expresan un antígeno de HBV. En una realización más específica, el vector de virus defectuoso en replicación se selecciona del grupo que comprende poxvirus, adenovirus, alfavirus, virus del herpes simple, paramixovirus, rabdovirus, poliovirus, virus adenoasociados y virus sendai, y mezclas de los mismos. En una realización específica, el poxvirus es una vacuna Ankara modificada.

En otra realización, el primer arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV como se describe en la presente memoria se administra antes o después del segundo arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV como se describe en la presente memoria. Por ejemplo, el primer arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV se administra alrededor de 30-60 minutos antes o después de la primera administración del segundo arnavirus infeccioso.

En otra realización, el primer arnavirus infeccioso que expresa un antígeno de vacuna se administra antes que el segundo arnavirus infeccioso que expresa un antígeno de vacuna. En ciertas realizaciones hay un periodo de aproximadamente 1 hora, 2 horas, 3 horas, 6 horas, 12 horas, 1 día, 2 días, 3 días, 5 días, 1 semana, 2 semanas, 1 mes, 2 meses, 3 meses, 4 meses, 5 meses, 6 meses, 7 meses, 8 meses, 9 meses, 10 meses, 11 meses, 1 año entre la administración del primer arnavirus infeccioso y el segundo arnavirus infeccioso.

En otra realización, se administran dos arnavirus infecciosos en un régimen de tratamiento en relaciones molares que oscilan entre aproximadamente 1:1 y 1:1000, que incluyen en particular: relación 1:1, relación 1:2, relación 1:5, relación 1:10, relación 1:20, relación 1:50, relación 1:100, relación 1:200, relación 1:300, relación 1:400, relación 1:500, relación 1:600, relación 1:700, relación 1:800, relación 1:900, relación 1:1000.

En otra realización, los sujetos a los que se administran dos o más arnavirus infecciosos que expresan un antígeno del HBV descrito en la presente memoria tienen, son susceptibles o corren el riesgo de contraer una infección por HBV. En otra realización, los sujetos a los que se administran dos o más arnavirus infecciosos que expresan un antígeno del HBV descrito en la presente memoria están infectados, son susceptibles o corren el riesgo de contraer una infección por el HBV.

Los sujetos que pueden ser tratados con los métodos proporcionados en la presente memoria son susceptibles o corren el riesgo de contraer una infección por HBV.

En otra realización, dichos dos o más arnavirus infecciosos que expresan un antígeno del HBV como se describe en la presente memoria expresan además al menos otro péptido, polipéptido o proteína inmunoestimuladora. En ciertas realizaciones, el péptido, polipéptido o proteína inmunoestimuladora es Calreticulina (CRT), o un fragmento de la misma; Ubiquitina o un fragmento de la misma; factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), o un fragmento del mismo; Cadena invariable (CD74) o un fragmento antigénico de la misma; Mycobacterium tuberculosis proteína de choque térmico 70 o un fragmento antigénico de la misma; proteína VP22 del virus del herpes simplex 1 o un fragmento antigénico de la misma; ligando de CD40 o un fragmento antigénico del mismo; o ligando de tirosina quinasa 3 relacionado con Fms (Flt3) o un fragmento antigénico del mismo.

Métodos heterólogos de principal-refuerzo con vectores de arnavirus infecciosos defectuosos en replicación en donde los dos vectores de arnavirus infecciosos defectuosos en replicación se derivan de diferentes arnavirus (p. ej., LCMV y virus Junín). Estos vectores de arnavirus infecciosos defectuosos en replicación pueden expresar un antígeno, tal como un antígeno de HBV.

Métodos heterólogos de principal-refuerzo con vectores de arnavirus infecciosos competentes para la replicación en donde los dos vectores de arnavirus infecciosos competentes para la replicación se derivan de diferentes arnavirus (p. ej., También se proporcionan LCMV y virus Junín). Estos vectores de arnavirus infecciosos competentes para la replicación pueden expresar un antígeno, tal como un antígeno de HBV.

## 6.8 (b) Composiciones

La invención además se refiere a vacunas, composiciones inmunogénicas y composiciones farmacéuticas que comprenden un arnavirus modificado genéticamente como se describe en la presente memoria. Dichas vacunas y composiciones farmacéuticas se pueden formular de acuerdo con procedimientos estándar en la técnica.

En una realización, en la presente memoria se proporcionan composiciones que comprenden dos o más arnavirus

infecciosos que expresan un antígeno del HBV como se describe en la presente memoria. Véase, p. ej., la Sección 6.2.

En realizaciones específicas, las composiciones descritas en la presente memoria son para uso en métodos discutidos previamente, en donde los métodos comprenden administrar a un sujeto un primer arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV como se describe en la presente memoria, p. ej., en el que el ORF que codifica la GP de la S genómica segmento se sustituye con una secuencia de nucleótidos que codifica el antígeno del HBV. El antígeno del HBV puede ser, pero no se limita a:

a) una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma;

b) una proteína HBc del HBV o un fragmento antigénico de la misma; y

c) una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigénicos de las mismas

Los métodos comprenden además administrar una segunda composición de arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV como se describe en la presente memoria, p. ej., en el que el ORF que codifica la GP del segmento genómico S se sustituye por una secuencia de nucleótidos que codifica el antígeno del HBV. El antígeno del HBV puede ser, pero no se limita a:

a) una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma;

b) una proteína HBc del HBV o un fragmento antigénico de la misma; y

c) una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigénicos de las mismas

En ciertas realizaciones, los arnavirus infecciosos primero y segundo son deficientes en replicación. En ciertas realizaciones, los arnavirus infecciosos primero y segundo son competentes para la replicación. En ciertas realizaciones, el arnavirus infeccioso primero o segundo es deficiente en replicación.

En realizaciones específicas, los métodos para tratar y/o prevenir una infección por HBV comprenden administrar un primer arnavirus infeccioso que expresa un primer antígeno de HBV, seleccionado entre: una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma; una proteína HBc del HBV o un fragmento antigénico de la misma; una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigénicos de las mismas, como se describe en la presente memoria y un segundo arnavirus infeccioso que expresa un segundo antígeno del HBV, seleccionado entre: una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma; una proteína HBc del HBV o un fragmento antigénico de la misma; una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigénicos de las mismas.

En ciertas realizaciones, en la presente memoria se proporcionan composiciones adecuadas para su uso en un método de tratamiento y/o prevención de una infección por HBV que comprende la administración de dos constructos de arnavirus que expresan un antígeno del HBV como se describe en la presente memoria. En una realización específica, los dos constructos de vector de arnavirus expresan un antígeno de HBV.

En ciertas realizaciones, en la presente memoria se proporcionan composiciones que comprenden dos o más constructos de vectores de arnavirus que expresan un antígeno del HBV como se describe en la presente memoria. En realizaciones específicas, en la presente memoria se proporcionan composiciones que comprenden tres o más constructos de vectores de arnavirus que expresan un antígeno del HBV como se describe en la presente memoria. En ciertas realizaciones, el arnavirus puede ser LCMV.

En realizaciones específicas, el antígeno es la proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento de la misma. (Véase, p. ej., la Sección 6.2(a)).

En ciertas realizaciones, el antígeno es la proteína HBc del HBV o un fragmento de la misma. (Véase, p. ej., la Sección 6.2(b)).

En ciertas realizaciones, el antígeno es la proteína HBs del HBV o un fragmento de la misma. (Véase, p. ej., la Sección 6.2(c)).

En ciertas realizaciones, el antígeno es una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigénicos de las mismas ((véase, p. ej., la Sección 6.2(d)).

En ciertas realizaciones, el antígeno es la proteína HBe del HBV o un fragmento de la misma. (Véase, p. ej., la Sección 6.2(e)).

En ciertas realizaciones, el vector generado para codificar uno o más antígenos de HBV como se describe en la presente memoria comprende uno o más ácidos nucleicos que codifican un antígeno de HBV y combinaciones de los mismos como se describe. En realizaciones específicas, los antígenos del HBV, como se describe en la presente memoria, están separados por diversos enlazadores, espaciadores y sitios de escisión como se describe en la presente memoria.



En otra realización, el vector generado para codificar uno o más antígenos de HBV como se describe en la presente memoria del primer arnavirus infeccioso puede basarse en el Clon 13 de LCMV o en la cepa MP de LCMV. (Véase, p. ej., la Sección 7.1).

5 En otra realización, el vector generado para codificar uno o más antígenos de HBV como se describe en la presente memoria del segundo arnavirus infeccioso puede basarse en el Clon 13 de LCMV o en la cepa MP de LCMV. (Véase, p. ej., la Sección 7.1).

10 En una realización específica, en la presente memoria se proporcionan composiciones para uso en un método para tratar y/o prevenir una infección por HBV en un sujeto que comprende administrar al sujeto una primera composición de arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma. y una segunda composición de arnavirus infeccioso que expresa una proteína HBc del HBV o un fragmento antigénico de la misma.

15 En una realización específica, en la presente memoria se proporcionan composiciones para uso en un método para tratar y/o prevenir una infección en un sujeto que comprende administrar secuencialmente al sujeto un primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma y un segundo arnavirus infeccioso que expresa una proteína HBs del HBV o un fragmento antigénico de la misma.

En una realización específica, en la presente memoria se proporcionan composiciones para uso en un método para tratar y/o prevenir una infección en un sujeto que comprende administrar simultáneamente al sujeto un primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína HBc del HBV o un fragmento antigénico de la misma y un segundo arnavirus infeccioso que expresa una proteína HBs del HBV o un fragmento antigénico de la misma.

20 En una realización específica, en la presente memoria se proporcionan composiciones para uso en un método para tratar y/o prevenir una infección en un sujeto que comprende administrar secuencialmente al sujeto un primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma y un segundo arnavirus infeccioso que expresa una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigénicos de las mismas.

25 En una realización específica, en la presente memoria se proporcionan composiciones para uso en un método para tratar y/o prevenir una infección en un sujeto que comprende administrar simultáneamente al sujeto un primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína HBc del HBV o un fragmento antigénico de la misma y un segundo arnavirus infeccioso que expresa una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigénicos de las mismas.

30 En una realización específica, en la presente memoria se proporcionan composiciones para uso en un método para tratar y/o prevenir una infección en un sujeto que comprende administrar secuencialmente al sujeto un primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína HBc del HBV o un fragmento antigénico de la misma y un segundo arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma.

35 En una realización específica, en la presente memoria se proporcionan composiciones para uso en un método para tratar y/o prevenir una infección en un sujeto que comprende administrar secuencialmente al sujeto un primer arnavirus infeccioso que expresa una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigénicos de las mismas y un segundo arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma.

40 En una realización específica, en la presente memoria se proporcionan composiciones para uso en un método para tratar y/o prevenir una infección en un sujeto que comprende administrar secuencialmente al sujeto un primer arnavirus infeccioso que expresa una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigénicos de las mismas y un segundo arnavirus infeccioso que expresa una proteína HBe del HBV o un fragmento antigénico de la misma.

45 En una realización específica, en la presente memoria se proporcionan composiciones para uso en un método para tratar y/o prevenir una infección en un sujeto que comprende administrar secuencialmente al sujeto un primer arnavirus infeccioso que expresa una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigénicos de las mismas y un segundo arnavirus infeccioso que expresa una proteína HBc del HBV o un fragmento antigénico de la misma.

50 En una realización específica, en la presente memoria se proporcionan composiciones para uso en un método para tratar y/o prevenir una infección en un sujeto que comprende administrar al sujeto un primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma y un segundo arnavirus infeccioso que expresa una proteína HBe del HBV o un fragmento antigénico de la misma.

En una realización específica, en la presente memoria se proporcionan composiciones o uso en un método para tratar y/o prevenir una infección en un sujeto que comprende administrar secuencialmente al sujeto un primer arnavirus infeccioso que expresa una proteína HBe del HBV o un fragmento antigénico de la misma y un segundo arnavirus infeccioso que expresa una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigénicos de las mismas.

55 En una realización específica, en la presente memoria se proporcionan composiciones para uso en un método para

tratar y/o prevenir una infección en un sujeto que comprende administrar secuencialmente al sujeto un primer arenavirus infeccioso que expresa una proteína HBs del HBV o un fragmento antigénico de la misma y un segundo arenavirus infeccioso que expresa una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigénicos de las mismas.

- 5 En una realización específica, en la presente memoria se proporcionan composiciones para uso en un método para tratar y/o prevenir una infección en un sujeto que comprende administrar secuencialmente al sujeto un primer arenavirus infeccioso que expresa una proteína HBe del HBV o un fragmento antigénico de la misma y un segundo arenavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma.

- 10 En una realización específica, en la presente memoria se proporcionan composiciones para uso en un método para tratar y/o prevenir una infección en un sujeto que comprende administrar secuencialmente al sujeto un primer arenavirus infeccioso que expresa una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigénicos de las mismas y un segundo arenavirus infeccioso que expresa una proteína HBs del HBV o un fragmento antigénico de la misma.

- 15 En una realización específica, en la presente memoria se proporcionan composiciones para uso en un método para tratar y/o prevenir una infección en un sujeto que comprende administrar secuencialmente al sujeto un primer arenavirus infeccioso que expresa una proteína HBs del HBV o un fragmento antigénico de la misma y un segundo arenavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma.

- 20 En una realización específica, en la presente memoria se proporcionan composiciones para uso en un método para tratar y/o prevenir una infección en un sujeto que comprende administrar simultáneamente al sujeto un primer arenavirus infeccioso que expresa una proteína HBc del HBV o un fragmento antigénico de la misma y un segundo arenavirus infeccioso que expresa una proteína HBe del HBV o un fragmento antigénico de la misma.

En una realización específica, en la presente memoria se proporcionan composiciones para uso en un método para tratar y/o prevenir una infección en un sujeto que comprende administrar simultáneamente al sujeto un primer arenavirus infeccioso que expresa una proteína HBs del HBV o un fragmento antigénico de la misma y un segundo arenavirus infeccioso que expresa una proteína HBc del HBV o un fragmento antigénico de la misma.

- 25 En una realización específica, en la presente memoria se proporcionan composiciones para cuatro usos en un método para tratar y/o prevenir una infección en un sujeto que comprende administrar simultáneamente al sujeto un primer arenavirus infeccioso que expresa una proteína HBe del HBV o un fragmento antigénico de la misma y un segundo arenavirus infeccioso que expresa una proteína HBc del HBV o un fragmento antigénico de la misma.

- 30 En otra realización, la primera composición de arenavirus infeccioso que expresa un antígeno de HBV es un antígeno de vacuna primario y el segundo arenavirus infeccioso que expresa otro antígeno de HBV es un antígeno de vacuna secundario.

- 35 En aún otra realización, en la presente memoria se proporciona el uso combinado de las composiciones de arenavirus deficiente en replicación que expresan un antígeno de HBV como se describe en la presente memoria y una o más composiciones de vectores de virus defectuosas en replicación. En una realización más específica, la composición de vector de virus defectuosa en replicación puede ser pero no se limita a: poxvirus, adenovirus, alfavirus, virus del herpes simple, paramixovirus, rabdovirus, poliovirus, virus adenoasociados y virus Sendai, y mezclas de los mismos. En una realización específica, el poxvirus es una vacuna Ankara modificada.

- 40 En otra realización, dos composiciones de arenavirus infecciosos tienen relaciones molares que oscilan entre aproximadamente 1:1 y 1:1000, que incluyen en particular: relación 1:1, relación 1:2, relación 1:5, relación 1:10, relación 1:20, relación 1:50, relación 1:100, relación 1:200, relación 1:300, relación 1:400, relación 1:500, relación 1:600, relación 1:700, relación 1:800, relación 1:900, relación 1:1000.

- 45 En otra realización, dos o más composiciones de arenavirus infecciosos que expresan un antígeno del HBV descrito en la presente memoria son adecuadas para la administración a sujetos que tienen, son susceptibles o corren el riesgo de contraer una infección por HBV. En otra realización, los sujetos a los que se administran dos o más composiciones de arenavirus infecciosos que expresan un antígeno del HBV descrito en la presente memoria o una composición de las mismas están infectados, son susceptibles o corren el riesgo de contraer una infección por el HBV.

- 50 En otra realización, dichas dos o más composiciones de arenavirus infecciosos comprenden además al menos otro medicamento para tratar y/o prevenir la infección por HBV. Los medicamentos terapéuticos incluyen, pero no se limitan a, entecavir (BARACLUDE®; Bristol-Myers Squibb), lamivudina (EPIVIR HBV®; GlaxoSmithKline), adefovir dipivoxil (HEPSERA®; Gilead Sciences), interferón alfa 2b (INTRON A®; Schering), interferón pegilado (PEGASYS®; Roche), telbivudina (TYZEKA®; Novartis) y tenofovir (VIREAD®; Gilead Sciences).

- 55 En otra realización, las composiciones son adecuadas para administrar a un sujeto sintomático una segunda composición de arenavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o un fragmento del mismo como se describe en la presente memoria. En aún otra realización, las composiciones son adecuadas para la administración a un sujeto con un sistema inmunitario comprometido, especialmente receptores de trasplantes, personas infectadas por el VIH, un sujeto femenino en embarazo o un sujeto que tiene cáncer, se describe una segunda composición de arenavirus

infeccioso que expresa un antígeno del HBV descrito en la presente memoria o un fragmento del mismo. En otra realización, dos o más composiciones de arnavirus infecciosos que expresan un antígeno del HBV como se describe en la presente memoria o un fragmento del mismo son adecuadas para administrar a un sujeto que es un niño de 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 o 17 años de edad que padecen, son susceptibles o corren el riesgo de contraer una infección por el HBV.

En otra realización, las composiciones son adecuadas para administrar a un sujeto que es un niño, un primer arnavirus que expresa un antígeno del HBV y administrar al mismo sujeto que es un adolescente un segundo arnavirus que expresa un antígeno del HBV. En una realización específica, el régimen de administración puede implicar administrar a un sujeto que es 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, o 17 años de edad un primer arnavirus que expresa un antígeno del HBV como se describe en la presente memoria, y al mismo sujeto que tiene 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 años de edad un segundo arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV.

En otra realización, las composiciones son adecuadas para administrar a un sujeto preadolescente un segundo arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV. En otra realización, el régimen de administración puede implicar la administración a un varón adolescente, de 12 a 18 años de edad, de un segundo arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV como se describe en la presente memoria. En otra realización, el régimen de administración puede implicar la administración a una mujer, de 12 a 18 años de edad, de un segundo arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV.

En otra realización, dos o más composiciones de arnavirus infecciosos que expresan un antígeno del HBV o un fragmento del mismo, como se describe en la presente memoria, reducen el riesgo de que un individuo desarrolle una infección por el HBV en al menos aproximadamente 10 %, al menos aproximadamente 20 %, al menos aproximadamente 25 %, al menos aproximadamente 30 %, al menos aproximadamente 40 %, al menos aproximadamente 50 %, al menos aproximadamente 60 %, al menos aproximadamente 70 %, al menos aproximadamente 80 %, al menos aproximadamente 90 %, o más, en comparación con el riesgo de desarrollar una infección por el HBV en ausencia de tal tratamiento.

En otra realización, dos o más composiciones de arnavirus infecciosos que expresan un antígeno del HBV o un fragmento del mismo, como se describe en la presente memoria, administradas por separado, reducen el riesgo de que un individuo desarrolle una infección por el HBV en al menos aproximadamente 10 %, al menos aproximadamente 20 %, al menos aproximadamente 25 %, al menos aproximadamente 30 %, al menos aproximadamente 40 %, al menos aproximadamente 50 %, al menos aproximadamente 60 %, al menos aproximadamente 70 %, al menos aproximadamente 80 %, al menos aproximadamente 90 %, o más, en comparación con el riesgo de desarrollar una infección por HBV en ausencia de tal tratamiento.

En otra realización, dos o más composiciones de arnavirus infecciosos que expresan un antígeno del HBV o un fragmento del mismo, como se describe en la presente memoria, administradas secuencialmente, reducen el riesgo de que un individuo desarrolle una infección por el HBV en al menos aproximadamente 10 %, al menos aproximadamente un 20 %, al menos aproximadamente 25 %, al menos aproximadamente 30 %, al menos aproximadamente 40 %, al menos aproximadamente 50 %, al menos aproximadamente 60 %, al menos aproximadamente 70 %, al menos aproximadamente 80 %, al menos aproximadamente 90 %, o más, en comparación con el riesgo de desarrollar una infección por HBV en ausencia de tal tratamiento.

En otra realización, proporcionada en la presente memoria, la invención proporciona una composición de vacuna que comprende una combinación sinérgica de dos o más arnavirus infecciosos deficientes en replicación que expresan un antígeno del HBV.

En otra realización, proporcionada en la presente memoria, la invención proporciona una composición de vacuna que comprende una combinación sinérgica de dos o más arnavirus infecciosos competentes para la replicación que expresan un antígeno del HBV.

## 6.9 Ensayos

**Ensayo para medir la infectividad del vector Arnavirus** Puede usarse cualquier ensayo conocido por el experto en la técnica para medir la infectividad de una preparación de vector de arnavirus. Por ejemplo, la determinación del título de virus/vector se puede realizar mediante un "ensayo de unidades formadoras de focos" (ensayo FFU). En resumen, las células complementarias, p. ej. las células HEK 293 que expresan la proteína GP de LCMV se cultivan en placa y se inoculan con diferentes diluciones de una muestra de virus/vector. Después de un período de incubación, para permitir que las células formen una monocapa y que el virus se adhiera a las células, la monocapa se cubre con metilcelulosa. Cuando las placas se incuban adicionalmente, las células infectadas originales liberan progenie viral. Debido a la superposición de metilcelulosa, la propagación de los nuevos virus se restringe a las células vecinas. En consecuencia, cada partícula infecciosa produce una zona circular de células infectadas llamada Foco. Dichos focos se pueden hacer visibles y, por lo tanto, contables usando anticuerpos contra LCMV-NP y una reacción de color basada en HRP. El título de un virus/vector se puede calcular en unidades formadoras de focos por mililitro (FFU/mL).

Para determinar el título infeccioso (FFU/mL) de los vectores portadores de transgenes, este ensayo se modifica

mediante el uso del anticuerpo específico del transgen respectivo en lugar del anticuerpo anti-LCMV-NP.

**ELISA en suero** La determinación de la respuesta inmunitaria humoral tras la vacunación de animales (p. ej., ratones, cobayas) se puede realizar mediante ELISA de suero específico de antígeno (ensayos inmunoabsorbentes ligados a enzimas). En resumen, las placas se recubren con antígeno (p. ej., proteína recombinante), se bloquean para evitar la unión inespecífica de anticuerpos y se incuban con diluciones en serie de sueros. Después de la incubación, los anticuerpos séricos unidos pueden detectarse, p.ej., usando un anticuerpo específico anti-especie (p. ej., ratón, cobaya) acoplado a enzima (detectando IgG total o subclases de IgG) y la subsiguiente reacción de color. Los títulos de anticuerpos se pueden determinar como, p. ej., el título medio geométrico de punto final.

También se puede realizar ELISA de inmunocaptura (IC-ELISA) (véase Shanmugham et al., 2010, Clin. Vaccine Immunol. 17(8):1252-1260), en donde los agentes de captura se entrecruzan con perlas.

**Ensayo de neutralización en células ARPE-19** La determinación de la actividad de neutralización de los anticuerpos inducidos en sueros se realiza con el siguiente ensayo celular utilizando células ARPE-19 de la ATCC y un virus marcado con GFP. Además, se utiliza suero suplementario como fuente de complemento exógeno. El ensayo se inicia con la siembra de  $6,5 \times 10^3$  células/pocillo (50 gl/pocillo) en una placa de 384 pocillos uno o dos días antes de usar para la neutralización. La neutralización se realiza en placas de cultivo de tejidos estériles de 96 pocillos sin células durante 1h a 37°C. Después de la etapa de incubación de neutralización, la mezcla se agrega a las células y se incuba durante 4 días adicionales para la detección de GFP con un lector de placas. Se utiliza un suero humano neutralizante positivo como control positivo del ensayo en cada placa para comprobar la fiabilidad de todos los resultados. Los títulos (EC50) se determinan utilizando un ajuste de curva logística de 4 parámetros. Como prueba adicional, los pocillos se verifican con un microscopio de fluorescencia.

**Ensayo de reducción de placa** En resumen, los ensayos de reducción (neutralización) de placas para el virus de la hepatitis B se realizan mediante el uso de un aislado de HBV marcado con proteína fluorescente verde, se utilizó suero de conejo al 5 % como fuente de complemento exógeno y las placas se enumeran mediante microscopía de fluorescencia. Los títulos de neutralización se definen como la dilución más alta de suero que da como resultado una reducción del 50 % en las placas, en comparación con las muestras de suero de control (preinmunes).

**Ensayo de neutralización en células de fibroblastos de pulmón de cobaya (GPL)** En resumen, se prepararon diluciones en serie de sueros de prueba y de control (antes de la vacunación) en medio completo GPL con suero de conejo suplementario (1%) como fuente de complemento exógeno. La serie de dilución abarcó desde 1:40 hasta 1:5120. Las diluciones de suero se incubaron con virus marcado con eGFP (100-200 ufp por pocillo) durante 30 min a 37 °C y luego se transfirieron a placas de 12 pocillos que contenían células GPL confluentes. Las muestras se procesaron por triplicado. Después de 2 horas de incubación a 37 °C, las células se lavaron con PBS, se volvieron a alimentar con medio completo GPL y se incubaron a 37 °C/5 % CO<sub>2</sub> durante 5 días. Las placas se visualizaron mediante microscopía de fluorescencia, se contaron y compararon con pocillos de control. Aquella dilución de suero que dio como resultado una reducción del 50% en el número de placas en comparación con los controles se denominó título neutralizante.

**qPCR** Los genomas de ARN de LCMV se aíslan utilizando el kit QIAamp Viral RNA mini (QIAGEN), de acuerdo con el protocolo proporcionado por el fabricante. Los equivalentes del genoma del ARN del LCMV se detectan mediante PCR cuantitativa realizada en un sistema de PCR en tiempo real StepOnePlus (Applied Biosystems) con SuperScript® III Platino® Kit qRT-PCR de una sola etapa (Invitrogen) y cebadores y sondas (FAM reporter y NFQ-MGB Quencher) específicos para parte de la región codificante de NP de LCMV. El perfil de temperatura de la reacción es: 30 min a 60°C, 2 min a 95°C, seguido de 45 ciclos de 15 s a 95°C, 30 s a 56°C. El ARN se cuantifica comparando los resultados de la muestra con una curva estándar preparada a partir de una serie de diluciones log<sub>10</sub> de un fragmento de ARN transcrito *in vitro* cuantificado espectrofotométricamente, correspondiente a un fragmento de la secuencia codificante de NP de LCMV que contiene los sitios de unión del cebador y la sonda.

**Transferencia Western** Las células infectadas cultivadas en frascos de cultivo de tejidos o en suspensión se lisan en los puntos de tiempo indicados después de la infección usando regulador RIPA (Thermo Scientific) o se usan directamente sin lisis celular. Las muestras se calientan hasta 99 °C durante 10 minutos con un agente reductor y el regulador de muestra NuPage LDS (NOVEX) y se enfrían a temperatura ambiente antes de cargarlas en geles SDS al 4-12 % para electroforesis. Las proteínas se transfieren a las membranas utilizando el dispositivo de transferencia de gel iBlot de Invitrogen y se visualizan mediante tinción de Ponceau. Finalmente, las preparaciones se prueban con anticuerpos primarios dirigidos contra las proteínas de interés y anticuerpos secundarios conjugados con fosfatasa alcalina, seguido de tinción con solución NBT/BCIP de 1 Etapa (INVITROGEN).

**Ensayo de tinción de multímeros de péptidos MHC para la detección de la proliferación de células T CD8+ específicas de antígeno** Puede usarse cualquier ensayo conocido por el experto en la técnica para ensayar respuestas de células T CD8+ específicas de antígeno. Por ejemplo, se puede usar el ensayo de tinción de tetrámero de péptido MHC ((véase, p. ej., Altman J.D. et al., Science. 1996; 274:94-96; y Murali-Krishna K. et al., Immunity. 1998; 8:177-187). En resumen, el ensayo comprende las siguientes etapas, se usa un ensayo de tetrámero para detectar la presencia de células T específicas de antígeno. Para que una célula T detecte el péptido para el que es específica, debe reconocer tanto el péptido como el tetrámero de las moléculas MHC hechas a la medida para una célula T

específica de antígeno (típicamente marcada con fluorescencia). A continuación, el tetrámero se detecta mediante citometría de flujo a través del marcador fluorescente.

**Ensayo ELISPOT para la detección de proliferación de células T CD4+ específicas de antígeno** Puede usarse cualquier ensayo conocido por el experto en la técnica para probar respuestas de células T CD4+ específicas de antígeno. Por ejemplo, se puede utilizar el ensayo ELISPOT (véase, p. ej., Czerkinsky CC et al., J Immunol Methods. 1983; 65:109-121; y Hutchings PR et al., J Immunol Methods. 1989; 120:1-8). En resumen, el ensayo consiste en las siguientes etapas: una placa de inmunospot se recubre con un anticuerpo anti-citoquina. Las células se incuban en la placa de inmunopunto. Las células secretan citoquinas y luego se lavan. A continuación, las placas se recubren con un segundo anticuerpo anticitoquina biotinilado y se visualizan con un sistema de avidina-HRP.

**Ensayo de citoquinas intracelulares para la detección de la funcionalidad de las respuestas de células T CD8+ y CD4+** Puede usarse cualquier ensayo conocido por el experto en la técnica para probar la funcionalidad de las respuestas de células T CD8+ y CD4+. Por ejemplo, se puede usar el ensayo de citoquinas intracelulares combinado con citometría de flujo (véase, p. ej., Suni MA et al., J Immunol Methods. 1998; 212:89-98; Nomura LE et al., Cytometry. 2000; 40:60-68; y Ghanekar S.A. et al., Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology. 2001; 8:628-63). En resumen, el ensayo comprende las siguientes etapas: activación de células a través de péptidos o proteínas específicos, se agrega una inhibición del transporte de proteínas (p. ej., brefeldina A) para retener las citoquinas dentro de la célula. Después del lavado, se pueden añadir a las células anticuerpos contra otros marcadores celulares. A continuación, las células se fijan y permeabilizan. Se añade el anticuerpo anti-citoquina y las células pueden analizarse mediante citometría de flujo.

**Ensayo para confirmar la deficiencia de replicación de vectores virales** Cualquier ensayo conocido por el experto en la técnica que determine la concentración de partículas virales infecciosas y competentes para la replicación también se puede usar para medir partículas virales deficientes en replicación en una muestra. Por ejemplo, para este fin se pueden usar ensayos FFU (como se describe en [00408]) con células que no se complementan.

Además, los ensayos basados en placa son el método estándar utilizado para determinar la concentración de virus en términos de unidades formadoras de placas (PFU) en una muestra de virus. Específicamente, una monocapa confluyente de células huésped que no se complementan se infecta con el virus en diluciones variables y se cubre con un medio semisólido, como agar, para evitar que la infección por el virus se propague indiscriminadamente. Una placa viral se forma cuando un virus infecta y se replica con éxito en una célula dentro de la monocapa celular fijada (véase, p. ej., Kaufmann, SH; Kabelitz, D. (2002). Methods in Microbiology Vol.32:Immunology of Infection. Academic Press. ISBN 0-12-521532-0). La formación de placa puede demorar de 3 a 14 días, según el virus que se esté analizando. Las placas generalmente se cuentan manualmente y los resultados, en combinación con el factor de dilución utilizado para preparar la placa, se utilizan para calcular el número de unidades formadoras de placa por unidad de volumen de muestra (PFU/mL). El resultado de PFU/mL representa el número de partículas infectivas competentes para la replicación dentro de la muestra.

**Medición de la carga viral en la sangre o el hígado** Cualquier ensayo conocido por el experto en la técnica que determine la carga viral puede usarse para detectar el número de partículas de HBV por volumen en la sangre o el hígado (véase, p. ej., Mendy et al., 2010, J. Viral Hepat. 17(2): 115-122). Los ejemplos no limitantes de dichos ensayos incluyen pruebas basadas en ácidos nucleicos tales como PCR, así como pruebas no basadas en ácidos nucleicos.

**Biopsia hepática** Cualquier procedimiento conocido por el experto en la técnica que realice una biopsia de hígado se puede usar para determinar el grado de daño hepático, por ejemplo, para evaluar a un paciente en busca de infección crónica por HBV o cáncer de hígado. Los ejemplos no limitativos de tipos de biopsias hepáticas incluyen biopsias percutáneas con aguja, biopsias laparoscópicas y biopsias transvenosas. En ciertas realizaciones, se usa una biopsia de hígado para determinar la presencia de hepatocitos en vidrio esmerilado cuando las células se examinan bajo un microscopio óptico. La observación de hepatocitos en vidrio esmerilado es indicativa de la presencia de HBsAg en las células hepáticas.

**Ensayo de expresión de antígeno viral** Puede usarse cualquier ensayo conocido por el experto en la técnica para medir la expresión de antígenos virales. Por ejemplo, se pueden realizar ensayos FFU (como se describe en [00408]). Para la detección, se utilizan preparados de anticuerpos monoclonales o policlonales contra los respectivos antígenos virales (FFU específicos de transgén).

Además, se puede realizar la transferencia Western (como se describe en [00415]).

**Inmunoensayo enzimático de micropartículas** El AXSYM® HbsAg (Abbott) es un inmunoensayo enzimático de micropartículas (MEIA) para detectar HBsAg en suero o plasma adulto, pediátrico y neonatal, incluso en sujetos femeninos en embarazo. Este ensayo se puede utilizar como ayuda en el diagnóstico de HBV agudo o crónico. Este ensayo también se puede utilizar para confirmar la presencia de infección por HBV.

Para realizar el ensayo, se coloca una muestra de sangre del paciente en pocillos de reacción que contienen anticuerpos detectores y micropartículas recubiertas con anticuerpos contra el HBV (p. ej., a los antígenos del HBV). Si la muestra de sangre contiene proteínas del HBV (p. ej., HBsAg), se unirán a las micropartículas en los pocillos de reacción. Esta reacción es detectada por otra sustancia que produce luz, que luego se mide para determinar la

presencia de HBV (p. ej., antígenos de HBV) en la sangre. Si la primera prueba es positiva, se vuelve a analizar la sangre del paciente para confirmar la presencia de HBV (p. ej., antígenos del HBV). Puede usarse cualquier inmunoensayo enzimático de micropartículas conocido por el experto en la técnica para medir la presencia de HBsAg u otros antígenos del HBV.

- 5 **Otros ensayos de HBV** Una muestra de la sangre del paciente se pone en contacto con anticuerpos contra el HBV o con antígenos del HBV. Los anticuerpos y/o antígenos incluyen HBsAg, anticuerpos contra HBeAg, anticuerpos contra HBsAg, HBeAg, anticuerpos IgM contra HBcAg y anticuerpos contra HBcAg. Si el paciente está infectado con el HBV, los antígenos y/o anticuerpos presentes en la sangre provocarán una reacción química cuando se realice la prueba. Este ensayo permite la detección del estadio del HBV, según qué antígenos y/o anticuerpos del HBV estén presentes en la sangre del paciente.

Puede usarse cualquier ensayo conocido por un experto en la técnica para evaluar los niveles de HBV, antígenos de HBV o anticuerpos de HBV. Para ejemplos no limitantes de tales ensayos, véase, p. ej., Mayer et al., 2012, BMC Clin. Pathol. 12:8, Van Helden et al., 2004, Clin. Lab. 50(1-2):63-73, and Villar et al., 2011, J. Med. Virol. 83(9):1522-1529.,

- 15 **Modelos animales** La seguridad, tolerancia y eficacia inmunogénica de las vacunas que comprenden un arnavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV descrito en la presente memoria o una composición del mismo puede probarse en modelos animales. En ciertas realizaciones, los modelos animales que se pueden usar para probar la seguridad, la tolerancia y la eficacia inmunogénica de las vacunas y las composiciones de las mismas usadas en la presente memoria incluyen ratones, cobayas, ratas, monos y chimpancés. En una realización preferida, los modelos animales que se pueden usar para probar la seguridad, la tolerancia y la eficacia inmunogénica de las vacunas y las composiciones de las mismas usadas aquí incluyen ratones.

- 20 En un ejemplo específico, se puede utilizar un modelo de ratón transgénico para evaluar el potencial antiviral de agentes farmacológicos, tales como inmunoterapias o vacunas, y para evaluar procesos fisiológicos, incluida la respuesta inmunitaria (véase, p. ej., Guidotti et al., 1995, J. Virol. 69(10):6158-69). Tales modelos de ratones transgénicos pueden expresar moléculas humanas, tales como moléculas HLA de clase I y II humanas, y/o el antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg) ((véase, p. ej., Bourguine et al., 2012, Virology 430(1):10-9).

- 25 En otro ejemplo específico, la marmota (*Marmota monax*) se puede utilizar como modelo animal para desarrollar y probar enfoques de tratamiento y prevención de infecciones hepadnavirales crónicas, tales como la hepatitis B crónica (véase, p. ej., Kosinska et al., Hepat. Res. Treat. 2010:817580). El modelo de la marmota es aplicable para la evaluación de la inmunogenicidad y otras respuestas inmunitarias de posibles inmunoterapias tales como las vacunas (véase, p. ej., Vaccine 27(25-26):3271-3275).

## 6.10 Secuencias

- 35 Las secuencias de la Tabla 3 son secuencias de aminoácidos y secuencias de nucleótidos ilustrativas que se pueden usar con los métodos y composiciones descritos en la presente memoria. En algunos casos, se usa una secuencia de ADN para describir la secuencia de ARN de un segmento genómico viral. La secuencia de ARN se puede deducir fácilmente a partir de la secuencia de ADN.

**Tabla 3.** Secuencias de aminoácidos ilustrativas.

Nº ID SEC:	Descripción	Secuencia
1	secuencia de nucleótidos del ORF pre-S2/S del HBV	ATGCAGTGGAATTCCACAACCTTCCACCAAACCTCT GCAAGATCCCAGAGTGAGAGGCCTGTATTTCCCT GCTGGTGGCTCCAGTTCAGGAACAGTCAACCCTG TTCTGACCACTGCCTCTCCCTTGTCATCAATCTTCT CCAGGATTGGGGACCCTGCTCTGAACATGGAGAA CATCACATCAGGATTCCTGGGACCCCTTCTTGTGT TGCAGGCAGGGTTTTTCTTGTGACAAGAATCCTC ACAATCCCTCAGAGTCTGGACTCTTGGTGGACTTC TCTCAATTTTCTGGGGGGAACCACAGTGTGTCTTG GCCAAAATTCTCAGTCCCCAACCTCCAATCACTCA CCAACCTCTTGTCTCCAACCTTGTCTGGTTACAG ATGGATGTGTCTGAGGAGATTCATCATCTTCTCT TCATCCTGCTGCTGTGCCTCATCTTCTTGTGTTG TTCTGGACTATCAAGGAATGTTGCCAGTTTGTCT CTGATTCCAGGATCCTCAACAACCAGCACTGGAC CATGCAGGACCTGCATGACCACTGCTCAAGGAAC CTCAATGTATCCCTCCTGTTGCTGCACCAAACCTT
		CAGATGGAAATTGCACCTGCATTCCCATCCCATCA TCCTGGGCTTTTGGAAAATTCCTTTGGGAGTGGGC CTCAGCCAGATTCTCCTGGCTCAGTTTGCTGGTGC CATTTGTTCAGTGGTTTGTTGGGCTTTCCCCCACT GTTTGGCTTTCAGTGATTTGGATGATGTGGTATTG GGGGCCAAGTCTGTACAGCATCTTGAGTCCCTTTT TGCCTCTGTTGCCAATTTTCTTTGTCTTTGGGTCT ACATTTAA

2	secuencia de nucleótidos del ORF HBc del HBV	<p>           ATGGACATTGACCCTTACAAAGAATTTGGAGCAA            CTGTGGAGTTGCTCTCCTTTTTGCCTTCTGACTTCT            TTCCTTCAGTGAGAGATCTTCTTGACACTGCCTCA            GCTCTGTACAGGGAAGCCTTGGAGTCTCCTGAGC            ATTGTTACCTCACCACACTGCACTCAGGCAAGC            AATTCTTTGCTGGGGGGAATCATGACTCTGGCA            ACCTGGGTGGGTGTCAATTTGGAAGATCCAGCCT            CAAGAGACCTTGTGGTCAGTTATGTCAACACAAA            CATGGGCCTGAAGTTCAGGCAACTCTTGTGGTTTC            ACATTTCTTGTCTCACTTTTGGGAAGAGAAACAGTC            ATTGAGTATTTGGTGTCTTTTGGAGTGTGGATCAG            GACTCCTCCAGCTTACAGACCACCAAATGCCCCA            ATCCTGTCAACACTTCCAGAGACCACTGTTGTGAG            AAGAAGAGGCAGGTCCCCCAGAAGAAGAACTCC            CTCACCAAGAAGAAGAAGGTCTCAATCTCCCAGA            AGGAGAAGATCTCAATCAAGGGAATCTCAATGTT            AG         </p>
3	secuencia de nucleótidos del ORF de la proteína de fusión HBs-HBc del HBV	<p>           ATGGGGCAGAATCTTTCCACCAGCAATCCTCTGGGATTCTT            TCCAGACCACAGTTGGATCCAGCCTTCAGAGCAAACACTG            CAAATCCAGATTGGGACTTCAATCCCAACAAGGACACCTGG            CCAGATGCCAACAAGGTGGGAGCTGGAGCATTTGGGCTGGG            TTTCACCCACCCCATGGAGGCCTTTTGGGGTGGAGCCCTC         </p>



		<p> AGGCTCAGGGCATTCTGCAAACCTTTGCCAGCAAATCCACCT  CCTGCCTCCACCAACAGGCAGTCAGGAAGGCAGCCCACCCC  TCTGTCTCCACCTTTGAGAAACACTCATCCTCAGGCCATGC  AGTGGAATTCCACAACCTTCCACCAAACCTCTGCAAGATCCC  AGAGTGAGAGGCCTGTATTTCCCTGCTGGTGGCTCCAGTTC  AGGAACAGTCAACCCTGTTCTGACCACTGCCTCTCCCTTGT  CATCAATCTTCTCCAGGATTGGGGACCCTGCTCTGAACATG  GAGAACATCACATCAGGATTCTGGGACCCCTTCTTGTGTT  GCAGGCAGGGTTTTTCTTGTGACAAGAATCCTCACAATCC  CTCAGAGTCTGGACTCTTGGTGGACTTCTCTCAATTTTCTG  GGGGGAACCACAGTGTGTCTTGGCCAAAATTCTCAGTCCCC  AACCTCCAATCACTCACCAACCTCTTGTCTCCAACCTTGTC  CTGGTTACAGATGGATGTGTCTGAGGAGATTCATCATCTTC  CTCTTCATCCTGCTGCTGTGCCTCATCTTCTTGTGGTTCT  TCTGGACTATCAAGGAATGTTGCCAGTTTGTCTCTGATTC  CAGGATCCTCAACAACCAGCACTGGACCATGCAGGACCTGC  ATGACCACTGCTCAAGGAACCTCAATGTATCCCTCCTGTTG  CTGCACCAAACCTTCAGATGGAAATTGCACCTGCATTCCCA  TCCCATCATCCTGGGCTTTTGGAAAATTCTTTGGGAGTGG  GCCTCAGCCAGATTCTCCTGGCTCAGTTTGCTGGTGCCATT  TGTTTCACTGGTTTGTGGGGCTTTCCCCACTGTTTGGCTTT  CAGTGATTTGGATGATGTGGTATTGGGGGCCAAGTCTGTAC  AGCATCTTGAGTCCCTTTTTGCCTCTGTTGCCAATTTTCTT  TTGTCTTTGGGTCTACATTATGGACATTGACCCTTACAAAG  AATTTGGAGCAACTGTGGAGTTGCTCTCCTTTTGCCTTCT  GACTTCTTTCTTCAGTGAGAGATCTTCTTGACACTGCCTC  AGCTCTGTACAGGGAAGCCTTGGAGTCTCCTGAGCATTGTT  CACCTCACCACACTGCACTCAGGCAAGCAATCTTTGCTGG  GGGGAACATGACTCTGGCAACCTGGGTGGGTGTCAATTT  GGAAGATCCAGCCTCAAGAGACCTTGTGGTCAGTTATGTCA  ACACAAACATGGGCCTGAAGTTCAGGCAACTCTTGTGGTTT </p>
--	--	--

		CACATTTCTTGTCTCACTTTTGGGAAGAGAAACAGTCATTGA GTATTTGGTGTCTTTTGGAGTGTGGATCAGGACTCCTCCAG CTTACAGACCACCAAATGCCCCAATCCTGTCAACACTTCCA GAGACCACTGTTGTCAGAAGAAGAGGCAGGTCCCCCAGAAG AAGAACTCCCTCACCAAGAAGAAGAAGGTCTCAATCTCCCA GAAGGAGAAGATCTCAATCAAGGGAATCTCAATGTTAG
4	secuencia de nucleótidos del segmento S de LCMV que expresa la proteína de fusión HBs-HBc del HBV en forma de ADNc (el segmento genómico es ARN, la secuencia en SEQ ID NO: 4 se muestra para ADN; sin embargo, el intercambio de todas las timidinas ("T") en SEQ ID NO:4 para uridinas ("U") proporciona la secuencia de ARN).	GCGCACCGGGGATCCTAGGCTTTTTGGATTGCGCT TTCCTCTAGATCAACTGGGTGTCAGGCCCTATCCT ACAGAAGGATGGGGCAGAATCTTTCCACCAGCAA TCCTCTGGGATTCTTTCCAGACCACCAGTTGGATC CAGCCTTCAGAGCAAACACTGCAAATCCAGATTG GGACTTCAATCCCAACAAGGACACCTGGCCAGAT GCCAACAAGGTGGGAGCTGGAGCATTTGGGCTGG GTTTCACCCCAACCCCATGGAGGCCTTTTGGGGTGG AGCCCTCAGGCTCAGGGCATTCTGCAAACCTTTGCC AGCAAATCCACCTCCTGCCTCCACCAACAGGCAG TCAGGAAGGCAGCCCACCCCTCTGTCTCCACCTTT GAGAAACACTCATCCTCAGGCCATGCAGTGGAAT TCCACAACCTTCCACCAAACCTCTGCAAGATCCCA GAGTGAGAGGCCTGTATTTCCCTGCTGGTGGCTCC AGTTCAGGAACAGTCAACCCTGTTCTGACCACTG CCTCTCCCTTGTCAATCAATCTTCTCCAGGATTGGG GACCCTGCTCTGAACATGGAGAACATCACATCAG GATTCCTGGGACCCCTTCTTGTGTTGCAGGCAGGG TTTTTCTTGTTGACAAGAATCCTCACAATCCCTCA GAGTCTGGACTCTTGGTGGACTTCTCTCAATTTTC TGGGGGGAACCACAGTGTGTCTTGGCCAAAATTC TCAGTCCCCAACCTCCAATCACTCACCAACCTCTT GTCCTCCAACCTTGTCTGGTTACAGATGGATGTGT CTGAGGAGATTCATCATCTTCTCTTCATCCTGCT

		<p> GCTGTGCCTCATCTTCTTGTTGGTTCTTCTGGACTA  TCAAGGAATGTTGCCAGTTTGTCTCTGATTCCAG  GATCCTCAACAACCAGCACTGGACCATGCAGGAC  CTGCATGACCACTGCTCAAGGAACCTCAATGTAT  CCCTCCTGTTGCTGCACCAAACCTTCAGATGGAAA  TTGCACCTGCATTCCCATCCCATCATCCTGGGCTT  TTGGAAAATTCTTTGGGAGTGGGCCTCAGCCAG  ATTCTCCTGGCTCAGTTTGCTGGTGCCATTTGTTT  AGTGGTTTGTTGGGCTTTCCCCCACTGTTTGGCTT  TCAGTGATTTGGATGATGTGGTATTGGGGGCCAA  GTCTGTACAGCATCTTGAGTCCCTTTTTGCCTCTG  TTGCCAATTTCTTTTGTCTTTGGGTCTACATTATG  GACATTGACCCTTACAAAGAATTTGGAGCAACTG  TGGAGTTGCTCTCCTTTTGCCTTCTGACTTCTTTC  CTTCAGTGAGAGATCTTCTTGACACTGCCTCAGCT  CTGTACAGGGAAGCCTTGGAGTCTCCTGAGCATT  GTTACCTCACCACACTGCACTCAGGCAAGCAAT  TCTTTGCTGGGGGGAACCTCATGACTCTGGCAACCT  GGGTGGGTGTCAATTTGGAAGATCCAGCCTCAAG  AGACCTTGTTGGTCAGTTATGTCAACACAAACATG  GGCCTGAAGTTCAGGCAACTCTTGTTGTTTACAT  TTCTTGTCTCACTTTTGGGAAGAGAAACAGTCATTG  AGTATTTGGTGTCTTTTGGAGTGTGGATCAGGACT  CCTCCAGCTTACAGACCACCAAATGCCCAATCCT  GTCAACACTTCCAGAGACCACTGTTGTCAGAAGA  AGAGGCAGGTCCCCCAGAAGAAGAACTCCCTCAC  CAAGAAGAAGAAGGTCTCAATCTCCCAGAAGGAG  AAGATCTCAATCAAGGGAATCTCAATGTTAGAGA  ACAGCGCCTCCCTGACTCTCCACCTCGAAAGAGG  TGGAGAGTCAGGGAGGCCCAGAGGGTCTTAGAGT  GTCACAACATTTGGGCCTCTAAAAATTAGGTCAT </p>
--	--	---

		<p> GTGGCAGAATGTTGTGAACAGTTTTTCAGATCTGG  GAGCCTTGCTTTGGAGGCGCTTTCAAAAATGATG  CAGTCCATGAGTGCACAGTGCGGGGTGATCTCTTT  CTTCTTTTTGTCCCTTACTATTCCAGTATGCATCTT  ACACAACCAGCCATATTTGTCCCACACTTTATCTT  CATACTCCCTCGAAGCTTCCCTGGTCATTTCAACA  TCGATAAGCTTAATGTCCTTCCTATTTTGTGAGTC  CAGAAGCTTTCTGATGTCATCGGAGCCTTGACAG  CTTAGAACCATCCCCTGCGGAAGAGCACCTATAA  CTGACGAGGTCAACCCGGGTTGCGCATTGAAGAG  GTCGGCAAGATCCATGCCGTGTGAGTACTTGGAA  TCTTGCTTGAATTGTTTTTGATCAACGGGTTCCCT  GTAAAAGTGTATGAACTGCCCCGTTCTGTGGTTGG  AAAATTGCTATTTCCACTGGATCATTAAATCTACC  CTCAATGTCAATCCATGTAGGAGCGTTGGGGTCA  ATTCCTCCCATGAGGTCTTTTAAAAGCATTGTCTG  GCTGTAGCTTAAGCCCACCTGAGGTGGACCTGCT  GCTCCAGGCGCTGGCCTGGGTGAGTTGACTGCAG  GTTTCTCGCTTGTGAGATCAATTGTTGTGTTTTCCC  ATGCTCTCCCCACAATCGATGTTCTACAAGCTATG  TATGGCCATCCTTCACCTGAAAGGCCAACTTTATA  GAGGATGTTTTCATAAGGGTTCCTGTCCCCAACTT  GGTCTGAAACAAACATGTTGAGTTTTCTCTTGGCC  CCGAGAAGTGCCTTCAAGAGATCCTCGCTGTTGCT  TGGCTTGATCAAAATTGACTCTAACATGTTACCCC  CATCCAACAGGGCTGCCCCGCTTCACGGCAGC  ACCAAGACTAAAGTTATAGCCAGAAATGTTGATG  CTGGACTGCTGTTTCAAGTATGACCCCCAGAACTG  GGTGCTTGTCTTTTCAAGATCATTAAAGA  TTTGGATACTTGACTGTGTAAAGCAAGCCAAGGT  CTGTGAGCGCTTGTACAACGTCATTGAGCGGAGT </p>
--	--	--

		<p>CTGTGACTGTTTGGCCATACAAGCCATAGTTAGAC  TTGGCATTGTGCCAAATTGATTGTTCAAAAGTGAT  GAGTCTTTCACATCCCAAACCTCTTACCACACCACT  TGCACCCTGCTGAGGCTTTCTCATCCCAAATATCT  GTAGGATCTGAGATCTTTGGTCTAGTTGCTGTGTT  GTTAAGTTCCCATATATACCCCTGAAGCCTGGGG  CCTTTCAGACCTCATGATCTTGGCCTTCAGCTTCT  CAAGGTCAGCCGCAAGAGACATCAGTTCTTCTGC  ACTGAGCCTCCCCACTTTCAAAACATTCTTCTTTG  ATGTTGACTTTAAATCCACAAGAGAATGTACAGT  CTGGTTGAGACTTCTGAGTCTCTGTAGGTCTTTGT  CATCTCTCTTTTCCTTCCTCATGATCCTCTGAACAT  TGCTGACCTCAGAGAAGTCCAACCCATTGAGAAG  GTTGGTTGCATCCTTAATGACAGCAGCCTTCACAT  CTGATGTGAAGCTCTGCAATTCTTCTCAATGCT  TGCGTCCATTGGAAGCTCTTAACTTCCTTAGACAA  GGACATCTTGTTGCTCAATGGTTTCTCAAGACAAA  TGCGCAATCAAATGCCTAGGATCCACTGTGCG</p>
5	<p>secuencia de nucleótidos del segmento S de LCMV que expresa el ORF de HBc, en forma de ADNc (el segmento genómico es ARN, la secuencia en SEQ ID NO: 5 se muestra para ADN; sin embargo, intercambiando todas las timidinas ("T") en SEQ ID NO: 5 para uridinas ("U") proporciona</p>	<p>GCGCACCGGGGATCCTAGGCTTTTTGGATTGCGCTTTCCTC  TAGATCAACTGGGTGTCAGGCCCTATCTACAGAAGGATGG  ACATTGACCCTTACAAAGAATTTGGAGCAACTGTGGAGTTG  CTCTCCTTTTTGCCTTCTGACTTCTTTCCTTCAGTGAGAGA  TCTTCTTGACACTGCCTCAGCTCTGTACAGGGAAGCCTTGG  AGTCTCCTGAGCATTGTTACCTCACCACACTGCACTCAGG  CAAGCAATTCTTTGCTGGGGGGAACATGACTCTGGCAAC  CTGGGTGGGTGTCAATTTGGAAGATCCAGCCTCAAGAGACC  TTGTGGTCAGTTATGTCAACACAAACATGGGCCTGAAGTTC  AGGCAACTCTTGTGGTTTCACATTTCTTGTCTCACTTTTGG  AAGAGAAACAGTCATTGAGTATTTGGTGTCTTTTGGAGTGT  GGATCAGGACTCCTCCAGCTTACAGACCACCAAATGCCCA  ATCCTGTCAACACTTCCAGAGACCACTGTTGTCAGAAGAAG</p>

	la secuencia de ARN).	AGGCAGGTCCCCCAGAAGAAGAACTCCCTCACCAAGAAGAA GAAGGTCTCAATCTCCCAGAAGGAGAAGATCTCAATCAAGG GAATCTCAATGTTAGAGAACAGCGCCTCCCTGACTCTCCAC CTCGAAAGAGGTGGAGAGTCAGGGAGGCCAGAGGGTCTTA GAGTGTACACAACATTTGGGCCTCTAAAAATTAGGTCAATGTG GCAGAATGTTGTGAACAGTTTTTCAGATCTGGGAGCCTTGCT TTGGAGGCGCTTTCAAAAATGATGCAGTCCATGAGTGCACA GTGCGGGGTGATCTCTTTCTTCTTTTTGTCCCTTACTATTC CAGTATGCATCTTACACAACCAGCCATATTTGTCCCACACT TTATCTTCATACTCCCTCGAAGCTTCCCTGGTCATTTCAAC ATCGATAAGCTTAATGTCTTCTCTATTTTGTGAGTCCAGAA GCTTTCTGATGTCATCGGAGCCTTGACAGCTTAGAACCATC CCCTGCGGAAGAGCACCTATAACTGACGAGGTCAACCCGGG TTGCGCATTTGAAGAGGTGCGCAAGATCCATGCCGTGTGAGT ACTTGAATCTTGCTTGAATTGTTTTTGATCAACGGGTTCC CTGTAAAAGTGTATGAACTGCCCCGTCTGTGGTTGGAAAAT TGCTATTTCCACTGGATCATTAATCTACCCTCAATGTCAA TCCATGTAGGAGCGTTGGGGTCAATTCCTCCCATGAGGTCT TTTAAAAGCATTGTCTGGCTGTAGCTTAAGCCACCTGAGG TGGACCTGCTGCTCCAGGCGCTGGCCTGGGTGAGTTGACTG CAGGTTTCTCGCTTGTGAGATCAATTGTTGTGTTTTCCCAT GCTCTCCCCACAATCGATGTTCTACAAGCTATGTATGGCCA TCCTTCACCTGAAAGGCAAACCTTTATAGAGGATGTTTTCAT AAGGGTTCCTGTCCCCAACTTGGTCTGAAACAAACATGTTG AGTTTTCTCTTGGCCCCGAGAACTGCCTTCAAGAGATCCTC GCTGTTGCTTGGCTTGATCAAAAATTGACTCTAACATGTTAC CCCCATCCAACAGGGCTGCCCCCTGCCTTCACGGCAGCACCA AGACTAAAGTTATAGCCAGAAATGTTGATGCTGGACTGCTG TTCAGTGATGACCCCCAGAACTGGGTGCTTGTCTTTCAGCC TTTCAAGATCATTAAGATTTGGATACTTGACTGTGTAAAGC AAGCCAAGGTCTGTGAGCGCTTGTACAACGTCATTGAGCGG
--	-----------------------	--

		AGTCTGTGACTGTTTGGCCATACAAGCCATAGTTAGACTTG GCATTGTGCCAAATTGATTGTTCAAAAGTGATGAGTCTTTC ACATCCCAAACCTCTTACCACACCACTTGCACCCTGCTGAGG CTTTCTCATCCCAACTATCTGTAGGATCTGAGATCTTTGGT CTAGTTGCTGTGTTGTTAAGTTCCCATATATAACCCCTGAA GCCTGGGGCCTTTCAGACCTCATGATCTTGGCCTTCAGCTT CTCAAGGTCAGCCGCAAGAGACATCAGTTCTTCTGCACTGA GCCTCCCCACTTTCAAAACATTCTTCTTTGATGTTGACTTT AAATCCACAAGAGAATGTACAGTCTGGTTGAGACTTCTGAG TCTCTGTAGGTCTTTGTCATCTCTCTTTTCCTTCCTCATGA TCCTCTGAACATTGCTGACCTCAGAGAAGTCCAACCCATTC AGAAGGTTGGTTGCATCCTTAATGACAGCAGCCTTCACATC TGATGTGAAGCTCTGCAATTCTCTTCTCAATGCTTGCGTCC ATTGGAAGCTCTTAACCTCCTTAGACAAGGACATCTTGTTG CTCAATGGTTTCTCAAGACAAATGCGCAATCAAATGCCTAG GATCCACTGTGCG
6	<p>secuencia de nucleótidos del segmento S de LCMV que expresa el ORF pre-S2/S, en forma de ADNc (el segmento genómico es ARN, la secuencia en SEQ ID NO:6 se muestra para ADN; sin embargo, el intercambio de todas las timidinas ("T") en SEQ ID NO:6 para uridinas ("U") proporciona la secuencia de ARN).</p>	GCGCACCGGGGATCCTAGGCTTTTTGGATTGCGCT TTCCTCTAGATCAACTGGGTGTCAGGCCCTATCCT ACAGAAGGATGCAGTGGAATTCACAAACCTTCCA CCAAACTCTGCAAGATCCCAGAGTGAGAGGCCTG TATTTCCCTGCTGGTGGCTCCAGTTCAGGAACAGT CAACCCTGTTCTGACCACTGCCTCTCCCTTGTCAT CAATCTTCTCCAGGATTGGGGACCCTGCTCTGAAC ATGGAGAACATCACATCAGGATTCCTGGGACCCC TTCTTGTTGTCAGGCAGGGTTTTCTTGTTGACA AGAATCCTCACAAATCCCTCAGAGTCTGGACTCTTG GTGGACTTCTCTCAATTTTCTGGGGGGAACACAG TGTGTCTTGGCCAAAATTCTCAGTCCCCAACCTCC AATCACTACCAACCTCTTGTCTCCAACCTGTGCC TGGTTACAGATGGATGTGTCTGAGGAGATTCATC ATCTTCTCTTCATCCTGCTGCTGTGCCTCATCTTC

	<p> TTGTTGGTTCTTCTGGACTATCAAGGAATGTTGCC  AGTTTGTCTCTGATTCCAGGATCCTCAACAACCA  GCACTGGACCATGCAGGACCTGCATGACCACTGC  TCAAGGAACCTCAATGTATCCCTCCTGTTGCTGCA  CCAAACCTTCAGATGGAAATTGCACCTGCATTCCC  ATCCCATCATCCTGGGCTTTTGGAAAATTCCTTTG  GGAGTGGGCCTCAGCCAGATTCTCCTGGCTCAGTT  TGCTGGTGCCATTTGTTTCAAGTGGTTTGTGGGCTT  TCCCCACTGTTTGGCTTTCAGTGATTGGATGAT  GTGGTATTGGGGGCCAAGTCTGTACAGCATCTTG  AGTCCCTTTTGCCTCTGTTGCCAATTTCTTTTGT  CTTTGGGTCTACATTTAAAGAACAGCGCCTCCCTG  ACTCTCCACCTCGAAAGAGGTGGAGAGTCAGGGA  GGCCCAGAGGGTCTTAGAGTGTCACAACATTTGG  GCCTCTAAAAATTAGGTCATGTGGCAGAATGTTG  TGAACAGTTTTTCAAGATCTGGGAGCCTTGCTTTGGA  GGCGCTTTCAAAAATGATGCAGTCCATGAGTGCA  CAGTGCGGGGTGATCTCTTTCTTCTTTTGTCCCTT  ACTATTCCAGTATGCATCTTACACAACCAGCCATA  TTTGTCCCACACTTTATCTTCATACTCCCTCGAAG  CTTCCCTGGTCATTTCAACATCGATAAGCTTAATG  TCCTTCCTATTTTGTGAGTCCAGAAGCTTTCTGAT  GTCATCGGAGCCTTGACAGCTTAGAACCATCCCCT  GCGGAAGAGCACCTATAACTGACGAGGTCAACCC  GGGTTGCGCATTGAAGAGGTGCGCAAGATCCATG  CCGTGTGAGTACTTGGGAATCTTGCTTGAATTGTTT  TTGATCAACGGGTTCCCTGTAAAAGTGTATGAACT  GCCCCGTTCTGTGGTTGGAAAATTGCTATTTCCACT  GGATCATTAATCTACCCTCAATGTCAATCCATGT  AGGAGCGTTGGGGTCAATTCCTCCCATGAGGTCTT  TTAAAAGCATTGTCTGGCTGTAGCTTAAGCCCACC </p>
--	--



		<p> TGAGGTGGACCTGCTGCTCCAGGCGCTGGCCTGG  GTGAGTTGACTGCAGGTTTCTCGCTTGTGAGATCA  ATTGTTGTGTTTTCCCATGCTCTCCCCACAATCGA  TGTTCTACAAGCTATGTATGGCCATCCTTCACCTG  AAAGGCAAACCTTATAGAGGATGTTTTCATAAGG  GTTCTGTCCCCAACTTGGTCTGAAACAAACATGT  TGAGTTTTCTCTTGGCCCCGAGAACTGCCTTCAAG  AGATCCTCGCTGTTGCTTGGCTTGATCAAAATTGA  CTCTAACATGTTACCCCCATCCAACAGGGCTGCCC  CTGCCTTCACGGCAGCACCAAGACTAAAGTTATA  GCCAGAAATGTTGATGCTGGACTGCTGTTCAAGTG  ATGACCCCCAGAACTGGGTGCTTGTCTTTCAGCCT  TTCAAGATCATTAAAGATTTGGATACTTGACTGTGT  AAAGCAAGCCAAGGTCTGTGAGCGCTTGTACAAC  GTCATTGAGCGGAGTCTGTGACTGTTTGGCCATAC  AAGCCATAGTTAGACTTGGCATTGTGCCAAATTG  ATTGTTCAAAAGTGATGAGTCTTTCACATCCCAAA  CTCTTACCACACCACTTGCACCCTGCTGAGGCTTT  CTCATCCCAACTATCTGTAGGATCTGAGATCTTTG  GTCTAGTTGCTGTGTTGTTAAGTTCCCCATATATA  CCCCTGAAGCCTGGGGCCTTTCAGACCTCATGATC  TTGGCCTTCAGCTTCTCAAGGTCAGCCGCAAGAG  ACATCAGTTCTTCTGCACTGAGCCTCCCCACTTTC  AAAACATTCTTCTTTGATGTTGACTTTAAATCCAC  AAGAGAATGTACAGTCTGGTTGAGACTTCTGAGT  CTCTGTAGGTCTTTGTCATCTCTTTTTCTTCCTC  ATGATCCTCTGAACATTGCTGACCTCAGAGAAGT  CCAACCCATTGAGAAGGTTGGTTGCATCCTTAATG  ACAGCAGCCTTCACATCTGATGTGAAGCTCTGCA  ATTCTCTTCTCAATGCTTGCGTCCATTGGAAGCTC  TTAACTTCCTTAGACAAGGACATCTTGTTGCTCAA </p>
		<p> TGGTTTCTCAAGACAAATGCGCAATCAAATGCCT  AGGATCCACTGTGCG </p>

7	<p>clon 13 segmento L del virus de la coriomeningitis linfocítica, secuencia completa (GenBank: DQ361066.1) (El segmento genómico es ARN, la secuencia en SEQ ID NO: 7 se muestra para ADN; sin embargo, el intercambio de todas las timidinas ("T") en SEQ ID NO: 7 para uridinas ("U") proporciona la secuencia de ARN).</p>	<p>GCGCACCGGGGATCCTAGGCGTTTAGTTGCGCTG  TTTGGTTGCACAACTTTCTTCGTGAGGCTGTCAGA  AGTGGACCTGGCTGATAGCGATGGGTCAAGGCAA  GTCCAGAGAGGAGAAAGGCACCAATAGTACAAA  CAGGGCCGAAATCCTACCAGATACCACCTATCTT  GGCCCTTTAAGCTGCAAATCTTGCTGGCAGAAATT  TGACAGCTTGGTAAGATGCCATGACCACTACCTTT  GCAGGCACTGTTTTAAACCTTCTGCTGTCAGTATCC  GACAGGTGTCCTCTTTGTAAATATCCATTACCAAC  CAGATTGAAGATATCAACAGCCCCAAGCTCTCCA  CCTCCCTACGAAGAGTAACACCGTCCGGCCCCGG  CCCCGACAAACAGCCCAGCACAAGGGAACCGCAC  GTCaCCCAACGCACACAGACACAGCACCCAACAC  AGAACACGCACACACACACACACACACACCCACA  CGCACGCGCCCCCACCACCGGGGGGCGCCCCCCC  CCGGGGGGCGGCCCCCCCCGGGAGCCCCGGGCGGAG  CCCCACGGAGATGCCCATCAGTCGATGTCTCGG  CCACCGACCCGCCcAGCCAATCGTCGCAGGACCTC  CCCTTGAGTCTAAACCTGCCCCCACTgTTTCATA  CATCAAAGTGCTCCTAGATTTGCTAAAACAAAGT  CTGCAATCCTTAAAGGCGAACCAGTCTGGCAAAA  GCGACAGTGGAATCAGCAGAATAGATCTGTCTAT  ACATAGTTCCTGGAGGATTACACTTATCTCTGAAC  CCAACAAATGTTCAACAGTTCTGAATCGATGCAG  GAAGAGGTTCCCAAGGACATCACTAATCTTTTCAT  AGCCCTCAAGTCCTGCTAGAAAGACTTTCATGTCC  TTGGTCTCCAGCTTCACAATGATATTTTGGACAAG  GTTTCTTCCTTCAAAAAGGGCACCCATCTTTACAG</p>
---	--	---

	<p> TCAGTGGCACAGGCTCCCACTCAGGTCCAACCTCTC  TCAAAGTCAATAGATCTAATCCCATCCAGTATTCT  TTTGGAGCCCAACAACCTCAAGCTCAAGAGAATCA  CCAAGTATCAAGGGATCTTCCATGTAATCCTCAA  ACTCTTCAGATCTGATATCAAAGACACCATCGTTC  ACCTTGAAGACAGAGTCTGTCCTCAGTAAGTGGA  GGCATTTCATCCAACATTCTTCTATCTATCTCACCC  TTAAAGAGGTGAGAGCATGATAAAAGTTCAGCCA  CACCTGGATTCTGTAATTGGCACCTAACCAAGAA  TATCAATGAAAATTTCCCTTAAACAGTCAGTATTAT  TCTGATTGTGCGTAAAGTCCACTGAAATTGAAAA  CTCCAATACCCCTTTTGTGTAGTTGAGCATGTAGT  CCCACAGATCCTTTAAGGATTTAAATGCCTTTGGG  TTTGTGAGGCCCTGCCTAATCAACATGGCAGCATT  ACACACAACATCTCCCATTCGGTAAGAGAACCAC  CCAAAACCAAACCTGCAAATCATTCCCTAAACATAG  GCCTCTCCACATTTTTGTTCACCACCTTTGAGACA  AATGATTGAAAGGGGCCCAGTGCCTCAGCACCAT  CTTCAGATGGCATCATTTCTTTATGAGGGAACCAT  GAAAAATTGCCTAATGTCCTGGTTGTTGCAACAA  ATTCTCGAACAAATGATTCAAAATACACCTGTTTT  AAGAAGTTCTTGCAGACATCCCTCGTGCTAACAA  CAAATTCATCAACCAGACTGGAGTCAGATCGCTG  ATGAGAATTGGCAAGGTCAGAAAACAGAACAGT  GTAATGTTTCATCCCTTTTCCACTTAACAACATGAG  AAATGAGTGACAAGGATTCTGAGTTAATATCAAT  TAAAACACAGAGGTCAAGGAATTTAATTCTGGGA  CTCCACCTCATGTTTTTTGAGCTCATGTCAGACAT  AAATGGAAGAAGCTGATCCTCAAAGATCTTGGGA  TATAGCCGCCTCACAGATTGAATCACTTGGTTCAA  ATCACTTTGTCCTCCAGTAGCCTTGAGCTCTCAG </p>
--	---

		<p> GCTTTCTTGCTACATAATCACATGGGTTTAAGTGC  TTAAGAGTTAGGTTCTCACTGTTATTCTTCCCTTTG  GTCGGTTCTGCTAGGACCCAAACACCCAACTCAA  AAGAGTTGCTCAATGAAATACAAATGTAGTCCCA  AAGAAGAGGCCTTAAAAGGCATATATGATCACGG  TGGGCTTCTGGATGAGACTGTTTGTCACAAATGTA  CAGCGTTATACCATCCCGATTGCAAACCTTTGTCA  CATGATCATCTGTGGTTAGATCCTCAAGCAGCTTT  TTGATATACAGATTTTCCCTATTTTTGTTTCTCACA  CACCTGCTTCCTAGAGTTTTGCAAAGGCCTATAAA  GCCAGATGAGATACAACTCTGGAAAGCTGACTTG  TTGATTGCTTCTGACAGCAGCTTCTGTGCACCCCT  TGTGAATTTACTACAAAGTTTGTCTGGAGTGTCT  TGATCAATGATGGGATTCTTTCCTCTTGGAAGTC  ATCACTGATGGATAAACCACCTTTTGTCTTAAAC  CATCCTTAATGGGAACATTTCAATCAAATTCAACC  AGTTAACATCTGCTAACTGATTCAAGATCTTCTTCA  AGACCGAGGAGGTCTCCCAATTGAAGAATGGCCT  CCtTTTTATCTCTGTAAATAGGTCTAAGAAAAATT  CTTCATTAAATTCACCATTTTTGAGCTTATGATGC  AGTTTCCTTACAAGCTTTCTTACAACCTTTGTTTCA  TTAGGACACAGTTCCTCAATGAGTCTTTGTATTCT  GTAACCTCTAGAACCATCCAGCCAATCTTTCACAT  CAGTGTTGGTATTCAAGTAGAAATGGATCCAAAGG  GAAATTGGCATACTTTAGGAGGTCCAGTGTCTCC  TTTGGATACTATTAAGTGGGAGACTGGGACGCC  ATTTGCGATGGCTTGATCTGCAATTGTATCTATTG  TTTCACAAAGTTGATGTGGCTCTTACACTTGACA  TTGTGTAGCGCTGCAGATACAACTTTGTGAGAA  GAGGGACTTCCTCCCCCATACATAGAATCTAGA  TTTAAATTCTGCAGCGAACCTCCCAGCCACACTTT </p>
--	--	--

	<p> TTGGGCTGATAAATTTGTTTAAACAAGCCGCTCAGA  TGAGATTGGAATTCCAACAGGACAAGGACTTCCT  CCGGATCACTTACAACCAGGTCACCTCAGCCTCCTA  TCAAATAAAGTGATCTGATCATCACTTGATGTGTA  AGCCTCTGGTCTTTTCGCCAAAGATAACACCAATG  CAGTAGTTGATGAACCTCTCGCTAAGCAAACCAT  AGAAGTCAGAAGCATTATGCAAGATTCCCTGCCC  CATATCAATAAGGCTGGATATATGGGATGGCACT  ATCCCCATTTCAAAATATTGTCTGAAAATTCTCTC  AGTAACAGTTGTTTCTGAACCCCTGAGAAGTTTTA  GCTTCGACTTGACATATGATTTTCATCATTGCATTG  ACAACAGGAAAGGGGACCTCGACAAGCTTATGCA  TGTGCCAAGTTAAACAAAGTGCTAACATGATCTTTC  CCGGAACGCACATACTGGTCATCACCTAGTTTGA  GATTTTGTAGAAACATTAAGAACAAAAATGGGCA  CATCATTGGTCCCCATTTGCTGTGATCCATACTAT  AGTTTAAAGAACCCTTCCCGCACATTGATAGTCATT  GACAAGATTGCATTTTCAAATTCCTTATCATTGTT  TAAACAGGAGCCTGAAAAGAACTTGAAAAAGA  CTCAAAATAATCTTCTATTAACCTTGTGAACATTT  TTGTCCTCAAATCTCCAATATAGAGTTCTCTATTT  CCCCAACCTGCTCTTTATAAGATAGTGCAAATTT  CAGCCTTCCAGAGTCAGGACCTACTGAGGTGTAT  GATGTTGGTGATTCTTCTGAGTAGAAGCACAGATT  TTTCAAAGCAGCACTCATACTTgTGTC AACGACA  GAGCTTTACTAAGGGACTCAGAATTACTTTCCCTC  TCACTGATTCTCACGTCTTCTTCCAGTTTGTCCCA  GTCAAATTTGAAATTCAAGCCTTGCCTTTGCATAT  GCCTGTATTTCCCTGAGTACGCATTTGCATTCATT  TGCAACAGAATCATCTTCATGCAAGAAAACCAAT  CATTCTCAGAAAAGAACTTTCTACAAAGGTTTTTT </p>
--	--

		<p> GCCATCTCATCGAGGCCACACTGATCTTTAATGAC  TGAGGTGAAATACAAAGGTGACAGCTCTGTGGAA  CCCTCAACAGCCTCACAGATAAATTTTCATGTCATC  ATTGGTTAGACATGATGGGTCAAAGTCTTCTACTA  AATGGAAAGATATTTCTGACAAGATAACTTTTCTT  AAGTGAGCCATCTTCCCTGTTAGAATAAGCTGTA  AATGATGTAGTCCTTTTGTATTTGTAAGTTTTTCTC  CATCTCCTTTGTCATTGGCCCTCCTACCTCTTCTGT  ACCGTGCTATTGTGGTGTGACCTTTTCTTCGAGA  CTTTTGAAGAAGCTTGTCTCTTCTTCTCCATCAAA  ACATATTTCTGCCAGGTTGTCTTCCGATCTCCCTG  TCTCTTCTCCCTTGGAACCGATGACCAATCTAGAG  ACTAACTTGGAACCTTTATATTCATAGTCTGAGTG  GCTCAACTTATACTTTTGTCTTCTTACGAACTCTC  CGTAATTTGACTCACAGCACTAACAAGCAATTTGT  TAAAGTCATATTCCAGAAGTCGTTCTCCATTTAGA  TGCTTATTAACCACCACACTTTTGTACTAGCAAG  ATCTAATGCTGTCGCACATCCAGAGTTAGTCATGG  GATCTAGGCTGTTTAGCTTCTTCTCTCCTTTGAAA  ATTAAAGTGCCGTTGTAAATGAAGACACCATTA  GGCTAAAGGCTTCCAGATTAACACCTGGAGTTGT  ATGCTGACAGTCAATTTCTTTACTAGTGAATCTCT  TCATTTGCTCATAGAACACACATTCTTCCTCAGGA  GTGATTGCTTCCTTGGGGTTGACAAAAAACC  AATGACTTTTGGGCTCAAAGAACTTTTCAAACAT  TTTATCTGATCTGTTAGCCTGTCAGGGGTCTCCTT  TGTGATCAAATGACACAGGTATGACACATTCAAC  ATAAATTTAAATTTTGCACCTCAACAACACCTTCTC  ACCAGTACCAAAAATAGTTTTTATTAGGAATCTA  AGCAGCTTATACACCACCTTCTCAGCAGGTGTGAT  CAGATCCTCCCTCAACTTATCCATTAATGATGTAG </p>
--	--	--

		<p> ATGAAAAATCTGACACTATTGCCATCACCAAATA  TCTGACACTCTGTACCTGCTTTTGATTCTCTTTGT  TGGGTTGGTGAGCATTAGCAACAATAGGGTCCTC  AGTGCAACCTCAATGTCGGTGAGACAGTCTTTCA  AATCAGGACATGATCTAATCCATGAAATCATGAT  GTCTATCATATTGTATAAGACCTCATCTGAAAAA  TTGGTAAAAAGAACCTTTTAGGATCTGCATAGAA  GGAAATTAAATGACCATCCGGGCCCTGTATGGAG  TAGCACCTGAAGATTCTCCAGTCTTCTGGTATAA  TAGGTGGTATTCTTCAGAGTCCAGTTTTATTACTT  GGCAAAACACTTCTTTGCATTCTACCACTTGATAT  CTCACAGACCCTATTTGATTTTGCCTTAGTCTAGC  AACTGAGCTAGTTTTCATACTGTTTGTTAAGGCCA  GACAAACAGATGATAATCTTCTCAGGCTCTGTAT  GTTCTTCAGCTGCTCTGTGCTGGGTGGAAATTGT  AATCTTCAAACCTTCGTATAATACATTATCGGGTGA  GCTCCAATTTTCATAAAGTTCTCAAATTCAGTGAA  TGGTATGTGGCATTCTTGCTCAAGGTGTTCAAGACA  GTCCGTAATGCTCGAAACTCAGTCCCACCACTAA  CAGGCATTTTTGAATTTTTGCAATGAACTCACTAA  TAGAtGCCCTAAACAATTCCTCAAAAGACACCTTT  CTAAACACCTTTGACTTTTTTCTATTCTCAAAAG  TCTAATGAACTCCTCTTTAGTGCTGTGAAAGCTTA  CCAGCCTATCATTCACACTACTATAGCAACAACCC  ACCCAGTGTTTATCATTTTTTAACCCTTTGAATTTC  GACTGTTTTATCAATGAGGAAAGACACAAAACAT  CCAGATTTAACAACGTCTCCTTCTAGTATTCAAC  AGTTTCAAACCTTGACTTTGTTTAACATAGAGAG  GAGCCTCTCATATTCAGTGCTAGTCTCACTTCCCC  TTTCGTGCCCATGGGTCTCTGCAGTTATGAATCTC  ATCAAAGGACAGGATTGACTGCCTCCCTGCTTA </p>
--	--	--

		<p>             ATGTTAAGATATCATCACTATCAGCAAGGTTTTCA              TAGAGCTCAGAGAATTCCTTGATCAAGCCTTCAG              GGTTTACTTTCTGAAAGTTTCTCTTTAATTTCCAC              TTTCTAAATCTCTTCTAAACCTGCTGAAAAGAGAG              TTTATTCCAAAAACCACATCATCACAGCTCATGTT              GGGGTTGATGCCTTCGTGGCACATCCTCATAATTT              CATCATTGTGAGTTGACCTCGCATCTTTCAGAATT              TTCATAGAGTCCATAACCGGAGCGCTTGTCGATAGT              AGTCTTCAGGGACTCACAGAGTCTAAAATATTCA              GACTCTTCAAAGACTTTCTCATTTTGGTTAGAATA              CTCCAAAAGTTTGAATAAAAGGTCTCTAAATTTG              AAGTTTGCCCACTCTGGCATAAAACTATTATCATA              ATCACAACGACCATCTACTATTGGAACATAATGTG              ACACCCGCAACAGCAAGGTCTTCCCTGATGCATG              CCAATTTGTTAGTGTCTCTATAAATTTCTTCTCA              AAAGTGGCTGGaGtGCTCCTAACAAAACACTCAAG              AAGAATGAGAGAATTGTCTATCAGCTTGTAACCA              TCAGGAATGATAAGTGGTAGTCCTGGGCATACAA              TTCCAGACTCCACCAAAATTGTTTCCACAGACTTA              TCGTCGTGGTTGTGTGTGCAGCCACTCTTGTCTGC              ACTGTCTATTTCAATGCAGCGTGACAGCAACTTGA              GTCCCTCAATCAGAACCATTCTGGGTTCCCTTTGT              CCCAGAAAGTTGAGTTTCTGCCTTGACAACCTCTC              ATCCTGTTCTATATAGTTTAAACATAACTCTCTCA              ATTCTGAGATGATTTTCATCCATTGCGCATCAAAAA              GCCTAGGATCCTCGGTGCG           </p>
8	secuencia de aminoácidos de un epítipo derivado de la proteína HBs del HBV	VWLSVIWM
9	secuencia de aminoácidos de un epítipo derivado de la proteína HBs del HBV	IPQSLDSWWTSL
10	secuencia de aminoácidos de un epítipo derivado de la proteína HBc del HBV	MGLKFRQL



11	<p>segmento S del virus de la coriomeningitis linfocítica, secuencia completa (El segmento genómico es ARN, la secuencia en SEQ ID NO: 11 se muestra para el ADN; sin embargo, el intercambio de todas las timidinas ("T") en SEQ ID NO: 11 por uridinas ("U") proporciona la secuencia de ARN.)</p>	<p>CGCACCGGGGATCCTAGGCTTTTTGGATTGCGCTTTCCTC  TAGATCAACTGGGTGTCAGGCCCTATCCTACAGAAGGATG  GGTCAGATTGTGACAATGTTTGAGGCTCTGCCTCACATCA  TCGATGAGGTGATCAACATTGTCATTATTGTGCTTATCGT  GATCACGGGTATCAAGGCTGTCTACAATTTTGCCACCTGT  GGGATATTTCGCATTGATCAGTTTCCTACTTCTGGCTGGCA  GGTCCTGTGGCATGTACGGTCTTAAGGGACCCGACATTTA  CAAAGGAGTTTACCAATTTAAGTCAGTGGAGTTTGATATG  TCACATCTGAACCTGACCATGCCCCAACGCATGTTTCAGCCA  ACAACTCCCACCATTACATCAGTATGGGGACTTCTGGACT  AGAATTGACCTTCACCAATGATTCCATCATCAGTCACAAC  TTTTGCAATCTGACCTCTGCCTTCAACAAAAGACCTTTG  ACCACACACTCATGAGTATAGTTTCGAGCCTACACCTCAG  TATCAGAGGGAACTCCAACATAAGGCAGTATCCTGCGAC  TTCAACAATGGCATAACCATCCAATACAACCTTGACATTCT  CAGATCGACAAAGTGCTCAGAGCCAGTGTAGAACCTTCAG  AGGTAGAGTCCTAGATATGTTTAGAACTGCCTTCGGGGGG  AAATACATGAGGAGTGGCTGGGGCTGGACAGGCTCAGATG  GCAAGACCACCTGGTGTAGCCAGACGAGTTACCAATACCT  GATTATACAAAATAGAACCTGGGAAAACCACTGCACATAT  GCAGGTCCTTTTGGGATGTCCAGGATTCTCCTTTCCCAAG  AGAAGACTAAGTTCTTCACTAGGAGACTAGCGGGCACATT  CACCTGGACTTTGTCAGACTCTTCAGGGGTGGAGAATCCA</p>
----	--	---

		<p>GGTGGTTATTGCCTGACCAAATGGATGATTCTTGCTGCAG  AGCTTAAGTGTTTCGGGAACACAGCAGTTGCGAAATGCAA  TGTAATCATGATGCCGAATTCTGTGACATGCTGCGACTA  ATTGACTACAACAAGGCTGCTTTGAGTAAGTTCAAAGAGG  ACGTAGAATCTGCCTTGCACTTATTCAAAACAACAGTGAA  TTCTTTGATTTTCAGATCAACTACTGATGAGGAACCACTTG  AGAGATCTGATGGGGGTGCCATATTGCAATTACTCAAAGT  TTTGGTACCTAGAACATGCAAAGACCGGCGAAACTAGTGT  CCCCAAGTGCTGGCTTGTCACCAATGGTTCTTACTTAAAT  GAGACCCACTTCAGTGATCAAATCGAACAGGAAGCCGATA  ACATGATTACAGAGATGTTGAGGAAGGATTACATAAAGAG  GCAGGGGAGTACCCCCCTAGCATTGATGGACCTTCTGATG  TTTTCCACATCTGCATATCTAGTCAGCATCTTCCTGCACC  TTGTCAAAATACCAACACACAGGCACATAAAAGGTGGCTC  ATGTCCAAAGCCACACCGATTAACCAACAAAGGAATTTGT  AGTTGTGGTGCAATTTAAGGTGCCTGGTGTA AAAACCGTCT  GGAAAAGACGCTGAAGAACAGCGCTCCCTGACTCTCCAC  CTCGAAAGAGGTGGAGAGTCAGGGAGGCCAGAGGGTCTT  AGAGTGTCACAACATTTGGGCCTCTAAAAATTAGGTCATG  TGGCAGAATGTTGTGAACAGTTTTTCAGATCTGGGAGCCTT  GCTTTGGAGGCGCTTTCAAAAATGATGCAGTCCATGAGTG  CACAGTGCGGGGTGATCTCTTTCTTCTTTTTGTCCCTTAC  TATTCCAGTATGCATCTTACACAACCAGCCATATTTGTCC  CACACTTTGTCTTCATACTCCCTCGAAGCTTCCCTGGTCA  TTTCAACATCGATAAGCTTAATGTCCTTCCTATTCTGTGA  GTCCAGAAGCTTTCTGATGTGTCATCGGAGCCTTGACAGCTT  AGAACCATCCCCTGCGGAAGAGCACCTATAACTGACGAGG  TCAACCCGGGTGCGCATTTGAAGAGGTCGGCAAGATCCAT  GCCGTGTGAGTACTTGGAATCTTGCTTGAATTGTTTTTGA  TCAACGGGTTCCCTGTAAAAGTGTATGAACTGCCCGTTCT  GTGGTTGGAAAATTGCTATTTCCACTGGATCATTAATCT</p>
--	--	---

		<p>             ACCCTCAATGTCAATCCATGTAGGAGCGTTGGGGTCAATT              CCTCCCATGAGGTCTTTTAAAAGCATTGTCTGGCTGTAGC              TTAAGCCCACCTGAGGTGGACCTGCTGCTCCAGGCGCTGG              CCTGGGTGAATTGACTGCAGGTTTCTCGCTTGTGAGATCA              ATTGTTGTGTTTTCCCATGCTCTCCCCACAATCGATGTTT              TACAAGCTATGTATGGCCATCCTTCACCTGAAAGGCAAAC              TTTATAGAGGATGTTTTTATAAGGGTTCTGTCCCCAACT              TGGTCTGAAACAAACATGTTGAGTTTTCTCTTGGCCCCGA              GAACTGCCTTCAAGAGGTCCTCGCTGTTGCTTGGCTTGAT              CAAAATTGACTCTAACATGTTACCCCCATCCAACAGGGCT              GCCCCTGCCCTCACGGCAGCACCAAGACTAAAGTTATAGC              CAGAAATGTTGATGCTGGACTGCTGTTCAGTGATGACCCC              CAGAACTGGGTGCTTGTCTTTCAGCCTTTCAGATCATT              AGATTTGGATACTTGACTGTGTAAAGCAAGCCAAGGTCTG              TGAGCGCTTGTACAACGTCATTGAGCGGAGTCTGTGACTG              TTTGGCCATACAAGCCATAGTTAGACTTGGCATTGTGCCA              AATTGATTGTTCAAAGTGATGAGTCTTTCACATCCCAA              CTCTTACCACACCACTTGCACCCTGCTGAGGCTTCTCAT              CCCAACTATCTGTAGGATCTGAGATCTTGGTCTAGTTGC              TGTGTTGTTAAGTTCCCCATATATACCCCTGAAGCCTGGG              GCCTTTCAGACCTCATGATCTTGGCCTTCAGCTTCTCAAG              GTCAGCCGCAAGAGACATCAGTTCTTCTGCACTGAGCCTC              CCCACTTTCAAACATTCTTCTTTGATGTTGACTTTAAAT              CCACAAGAGAATGTACAGTCTGGTTGAGACTTCTGAGTCT              CTGTAGGTCTTGTTCATCTCTCTTTTCCTTCCTCATGATC              CTCTGAACATTGCTGACCTCAGAGAAGTCCAACCCATTCA              GAAGGTTGGTTGCATCCTTAATGACAGCAGCCTTCACATC              TGATGTGAAGCTCTGCAATTCTCTTCTCAATGCTTGCCTC              CATTGGAAGCTCTTAACCTCCTTAGACAAGGACATCTTGT              TGCTCAATGGTTTCTCAAGACAAATGCGCAATCAAATGCC              TAGGATCCACTGTGCG           </p>
--	--	---

12	<p>clon 13 segmento S del virus de la coriomeningitis linfocítica, secuencia completa (GenBank: DQ361065.2) (El segmento genómico es ARN, la secuencia en SEQ ID NO: 12 se muestra para ADN; sin embargo, el intercambio de todas las timidinas ("T") en SEQ ID NO: 12 para uridinas ("U") proporciona la secuencia de ARN).</p>	<p>GCGCACCGGGGATCCTAGGCTTTTTGGATTGCGCTTTCCT  CTAGATCAACTGGGTGTCAGGCCCTATCCTACAGAAGGAT  GGGTCAGATTGTGACAATGTTTGAGGCTCTGCCTCACATC  ATCGATGAGGTGATCAACATTGTCATTATTGTGCTTATCG  TGATCACGGGTATCAAGGCTGTCTACAATTTTGCCACCTG  TGGGATATTGCGATTGATCAGTTTCCTACTTCTGGCTGGC  AGGTCCTGTGGCATGTACGGTCTTAAGGGACCCGACATTT  ACAAAGGAGTTTACCAATTTAAGTCAGTGGAGTTTGATAT  GTCACATCTGAACCTGACCATGCCCCAACGCATGTTTCAGCC  AACAACTCCCACCATTACATCAGTATGGGGACTTCTGGAC  TAGAATTGACCTTCACCAATGATTCCATCATCAGTCACAA  CTTTTGCAATCTGACCTCTGCCTTCAACAAAAAGACCTTT  GACCACACACTCATGAGTATAGTTTTGAGCCTACACCTCA  GTATCAGAGGGAACCTCCAATAAAGGCAGTATCCTGCGA  CTTCAACAATGGCATAACCATCCAATACAACCTTGACATTC  TCAGATGCACAAAGTGCTCAGAGCCAGTGTAACCTTCA  GAGGTAGAGTCCTAGATATGTTTAGAACTGCCTTCGGGGG  GAAATACATGAGGAGTGCTGGGGCTGGACAGGCTCAGAT  GGCAAGACCACCTGGTGTAGCCAGACGAGTTACCAATACC  TGATTATACAAAATAGAACCTGGGAAAACCACTGCACATA  TGCAGGTCCTTTTGGGATGTCCAGGATTCTCCTTTCCCAA  GAGAAGACTAAGTTCCTCACTAGGAGACTAGCGGGCACAT  TCACCTGGACTTTGTGAGACTCTTCAGGGGTGAGAATCC  AGGTGGTTATTGCCTGACCAAATGGATGATTCTTGCTGCA  GAGCTTAAGTGTTTCGGGAACACAGCAGTTGCGAAATGCA  ATGTAAATCATGATGAAGAATTCTGTGACATGCTGCGACT  AATTGACTACAACAAGGCTGCTTTGAGTAAGTTCAAAGAG  GACGTAGAATCTGCCTTGCACTTATTCAAAACAACAGTGA  ATTCTTTGATTTTCAGATCAACTACTGATGAGGAACCACTT  GAGAGATCTGATGGGGGTGCCATATTGCAATTACTCAAAG  TTTTGGTACCTAGAACATGCAAAGACCGGCGAAACTAGTG</p>
----	--	--

		<p> TCCCCAAGTGCTGGCTTGTCACCAATGGTTCTTACTTAAA  TGAGACCCACTTCAGTGACCAAATCGAACAGGAAGCCGAT  AACATGATTACAGAGATGTTGAGGAAGGATTACATAAAGA  GGCAGGGGAGTACCCCCCTAGCATTGATGGACCTTCTGAT  GTTTTCCACATCTGCATATCTAGTCAGCATCTTCCTGCAC  CTTGTCAAAATACCAACACACAGGCACATAAAAGGTGGCT  CATGTCCAAAGCCACACCGATTAACCAACAAAGGAATTTG  TAGTTGTGGTGCAATTTAAGGTGCCTGGTGTA AAAAACCGTC  TGGAAAAGACGCTGAAGAACAGCGCCTCCCTGACTCTCCA  CCTCGAAAGAGGTGGAGAGTCAGGGAGGCCCAGAGGGTCT  TAGAGTGT CACAACATTTGGGCCTCTAAAAATTAGGTCAT  GTGGCAGAATGTTGTGAACAGTTTTTCAGATCTGGGAGCCT  TGCTTTGGAGGCGCTTTCAAAAATGATGCAGTCCATGAGT  GCACAGTGCGGGGTGATCTCTTTCTTCTTTTTGTCCCTTA  CTATTCCAGTATGCATCTTACACAACCAGCCATATTTGTC  CCACACTTTGTCTTCATACTCCCTCGAAGCTTCCCTGGTC  ATTTCAACATCGATAAGCTTAATGTCTTCTTCTATTCTGTG  AGTCCAGAAGCTTCTGATGTCATCGGAGCCTTGACAGCT  TAGAACCATCCCTGCGGAAGAGCACCTATAACTGACGAG  GTCAACCCGGGTGCGCATTGAAGAGGTCGGCAAGATCCA  TGCCGTGTGAGTACTTGGAATCTTGCTTGAATTGTTTTTG  ATCAACGGGTTCCTGTAAAAGTGTATGAACTGCCC GTTC  TGTGGTTGAAAAATTGCTATTTCCACTGGATCATTAATC  TACCTCAATGTCAATCCATGTAGGAGCGTTGGGGTCAAT  TCCTCCCATGAGGTCTTTTAAAAGCATTGTCTGGCTGTAG  CTTAAGCCCACCTGAGGTGGACCTGCTGCTCCAGGCGCTG  GCCTGGGTGAATTGACTGCAGGTTTCTCGCTTGTGAGATC  AATTGTTGTGTTTTCCCATGCTCTCCCCACAATCGATGTT  CTACAAGCTATGTATGGCCATCCTTCACCTGAAAGGCAAA  CTTTATAGAGGATGTTTTCATAAGGGTTCCTGTCCCCAAC  TTGGTCTGAAACAAACATGTTGAGTTTTCTCTTGGCCCCG </p>
--	--	--

		AGAACTGCCTTCAAGAGGTCCTCGCTGTTGCTTGGCTTGA TCAAAATTGACTCTAACATGTTACCCCATCCAACAGGGC TGCCCTGCCTTACGGCAGCACCAAGACTAAAGTTATAG CCAGAAATGTTGATGCTGGACTGCTGTTCAGTGATGACCC CCAGAACTGGGTGCTTGTCTTTCAGCCTTCAAGATCATT AAGATTTGGATACTTGACTGTGTAAAGCAAGCCAAGGTCT GTGAGCGCTTGTACAACGTCATTGAGCGGAGTCTGTGACT GTTTGGCCATACAAGCCATAGTTAGACTTGGCATTGTGCC AAATTGATTGTTCAAAAGTGATGAGTCTTTCACATCCCAA ACTCTTACCACACCACTTGCACCCTGCTGAGGCTTCTCA TCCCAACTATCTGTAGGATCTGAGATCTTGGTCTAGTTG CTGTGTTGTTAAGTTCCCATATATACCCCTGAAGCCTGG GGCCTTTCAGACCTCATGATCTTGGCCTCAGCTTCTCAA GGTCAGCCGCAAGAGACATCAGTTCTTCTGCACTGAGCCT CCCCACTTTCAAAACATTCTTCTTTGATGTTGACTTTAAA TCCACAAGAGAATGTACAGTCTGGTTGAGACTTCTGAGTC TCTGTAGGTCTTTGTCATCTCTCTTTTCCTTCCTCATGAT CCTCTGAACATTGCTGACCTCAGAGAAGTCCAACCCATTC AGAAGGTTGGTTGCATCCTTAATGACAGCAGCCTTCACAT CTGATGTGAAGCTCTGCAATTCTTCTCAATGCTTGCGT CCATTGGAAGCTCTTAACCTCCTTAGACAAGGACATCTTG TTGCTCAATGGTTTCTCAAGACAAATGCGCAATCAAATGC CTAGGATCCACTGTGCG
13	coriomeningitis linfocítica cepa MP segmento L, secuencia completa (El segmento genómico es ARN, la secuencia en SEQ ID NO: 13 se muestra para ADN;	GCGCACCAGGGGATCCTAGGCATTTTTGTTGCGCATTTTGT TGTGTTATTTGTTGCACAGCCCTTCATCGTGGGACCTTCA CAAACAAACCAACCACCAGCCATGGGCCAAGGCAAGTCC AAAGAGGGAAGGGATGCCAGCAATACGAGCAGAGCTGAAA TTCTGCCAGACACCACCTATCTCGGACCTCTGAACTGCAA GTCATGCTGGCAGAGATTTGACAGTTTAGTCAGATGCCAT GACCACTATCTCTGCAGACACTGCCTGAACCTCCTGCTGT CAGTCTCCGACAGGTGCCCTCTCTGCAAACATCCATTGCC

sin embargo, el intercambio de todas las timidinas ("T") en SEQ ID NO: 13 por uridinas ("U") proporciona la secuencia de ARN).	AACCAAACTGAAAATATCCACGGCCCCAAGCTCTCCACCC CCTTACGAGGAGTGACGCCCCGAGCCCCAACACCGACACA AGGAGGCCACCAACACAACGCCCCAACACGGAACACACACA CACACACCCACACACACATCCACACACACGCGCCCCCACA ACGGGGGCGCCCCCGGGGTGGCCCCCGGGTGCTCGG GCGGAGCCCCACGGAGAGGCCAATTAGTCGATCTCCTCGA CCACCGACTTGGTCAGCCAGTCATCACAGGACTTGCCCTT AAGTCTGTACTTGCCCACTGTTTCATACATCACCCTG TTCTTTGACTTACTGAAACATAGCCTACAGTCTTTGAAAG TGAACCAGTCAGGCACAAGTGACAGCGGTACCAGTAGAAT GGATCTATCTATACACAACCTCTTGAGAATTGTGCTAATT TCCGACCCCTGTAGATGCTCACCAGTTCTGAATCGATGTA GAAGAAGGCTCCCAAGGACGTCATCAAAATTTCCATAACC CTCGAGCTCTGCCAAGAAAACCTCTCATATCCTTGGTCTCC AGTTTCACAACGATGTTCTGAACAAGGCTTCTTCCCTCAA AAAGAGCACCCATTCTCACAGTCAAGGGCACAGGCTCCCA TTCAGGCCCAATCCTCTCAAAATCAAGGGATCTGATCCCG TCCAGTATTTTCTTGAGCCTATCAGCTCAAGCTCAAGAG AGTCACCGAGTATCAGGGGGTCTCCATATAGTCTCTCAA CTCTTCAGACCTAATGTCAAAAACACCATCGTTCACCTTG AAGATAGAGTCTGATCTCAACAGGTGGAGGCATTTCGTCCA AGAACCTTCTGTCCACCTCACCTTTAAAGAGGTGAGAGCA TGATAGGAACTCAGCTACACCTGGACCTTGTAAGTGGCAC TTCATAAAAAGATCAATGAAAACCTCCTCAAACAATCAG TGTTATTCTGGTTGTGAGTGAAATCTACTGTAATTGAGAA CTCTAGCACTCCCTCTGTATTATTTATCATGTAATCCCAC AAGTTTCTCAAAGACTTGAATGCCTTTGGATTTGTCAAGC CTTGTTTGATTAGCATGGCAGCATTGCACACAATATCTCC CAATCGGTAAGAGAACCATCCAAATCCAAATTGCAAGTCA TTCTTAAACATGGGCCTCTCCATATTTTGTTCACACTT TTAAGATGAATGATTGGAAAGGCCCAATGCTTCAGCGCC
--	--

		<p> ATCTTCAGATGGCATCATGTCTTTATGAGGGAACCATGAA  AAACTTCCTAGAGTTCTGCTTGTTGCTACAAATTCCTCGTA  CAAATGACTCAAAATACACTTGTTTTAAAAAGTTTTTGCA  GACATCCCTTGTAACGACAAATTCATCAACAAGGCTT  GAGTCAGAGCGCTGATGGGAATTTACAAGATCAGAAAATA  GAACAGTGTAGTGTTTCGTCCCTCTTCCACTTAACTACATG  AGAAATGAGCGATAAAGATTCTGAATTGATATCGATCAAT  ACGCAAAGGTCAAGGAATTTGATTCTGGGACTCCATCTCA  TGTTTTTTGAGCTCATATCAGACATGAAGGGAAGCAGCTG  ATCTTCATAGATTTTAGGGTACAATCGCCTCACAGATTGG  ATTACATGGTTTAACTTATCTTGTCTCCAGTAGCCTTG  AACTCTCAGGCTTCCTTGCTACATAATCACATGGGTTCAA  GTGCTTGAGGCTTGAGCTTCCCTCATCTTCCCTTTTACA  GGTTCAGCTAAGACCCAAACACCCAACTCAAAGGAATTAC  TCAGTGAGATGCAAATATAGTCCCAAAGGAGGGGCCTCAA  GAGACTGATGTGGTCGCAGTGAGCTTCTGGATGACTTTGC  CTGTCACAAATGTACAACATTATGCCATCATGTCTGTGGA  TTGCTGTCACATGCGCATCCATAGCTAGATCCTCAAGCAC  TTTTCTAATGTATAGATTGTCCCTATTTTTATTTCTCACA  CATCTACTTCCCAAAGTTTTGCAAAGACCTATAAAGCCTG  ATGAGATGCAACTTTGAAAGGCTGACTTATTGATTGCTTC  TGACAGCAACTTCTGTGCACCTCTTGTGAACCTACTGCAG  AGCTTGTTCTGGAGTGTCTTGATTAATGATGGGATTCTTT  CCTCTTGAAAGTCATTACTGATGGATAAACCCTTTCTG  CCTCAAGACCATTCTTAATGGGAACAACCTCATTCAAATTC  AGCCAATTTATGTTTGCCAATTGACTTAGATCCTCTTCGA  GGCCAAGGATGTTTCCCAACTGAAGAATGGCTTCCTTTTT  ATCCCTATTGAAGAGGTCTAAGAAGAATTCTTCATTGAAC  TCACCATTCCTTGAGCTTATGATGTAGTCTCCTTACAAGCC  TTCTCATGACCTTCGTTTCACTAGGACACAATTCTTCAAT  AAGCCTTTGGATTCTGTAACCTCTAGAGCCATCCAACCAA </p>
--	--	---



		<p>TCCTTGACATCAGTATTAGTGTTAAGCAAAAATGGGTCCA  AGGGAAAGTTGGCATATTTTAAGAGGTCTAATGTTCTCTT  CTGGATGCAGTTTACCAATGAAACTGGAACACCATTTGCA  ACAGCTTGATCGGCAATTGTATCTATTGTTTCACAGAGTT  GGTGTGGCTCTTTACACTTAACGTTGTGTAATGCTGCTGA  CACAAATTTTGTATAAAGTGGGACCTCTTCCCCCACACA  TAAAATCTGGATTTAAATTCTGCAGCAAAATCGCCCCACCA  CACTTTTCGGACTGATGAACTTGTTAAGCAAGCCACTCAA  ATGAGAATGAAATTCAGCAATACAAGGACTTCCTCAGGG  TCACTATCAACCAGTTCCTCAATCTCCTATCAAATAAGG  TGATCTGATCATCACTTGATGTGTAAGATTCTGGTCTCTC  ACCAAAAATGACACCGATACAATAATTAATGAATCTCTCA  CTGATTAAGCCGTAAAAGTCAGAGGCATTATGTAAGATTCT  CCTGTCCCATGTCAATGAGACTGCTTATATGGGAAGGCAC  TATTCCTAATTCAAAATATTCTCGAAAGATTCTTTCAGTC  ACAGTTGTCTCTGAACCCCTAAGAAGTTTCAGCTTTGATT  TGATATATGATTTTCATCATTGCATTACAACAGGAAAAGG  GACCTCAACAAGTTTGTGCATGTGCCAAGTTAATAAGGTG  CTGATATGATCCTTTCCGGAACGCACATACTGGTCATCAC  CCAGTTTGAGATTTTGAAGGAGCATTAACCAACAAAATGG  GCACATCATTGGCCCCCATTTGCTATGATCCATACTGTAG  TTCAACAACCCCTCTCGCACATTGATGGTCATTGATAGAA  TTGCATTTTCAAATTCTTTGTCATTGTTTAAGCATGAACC  TGAGAAGAAGCTAGAAAAGACTCAAAATAATCCTCTATC  AATCTTGTAACATTTTGTCTCAAAATCCCCAATATAAA  GTTCTCTGTTTCTCCAACCTGCTCTTTGTATGATAACGC  AAACTTCAACCTTCCGGAATCAGGACCAACTGAAGTGTAT  GACGTTGGTGACTCCTCTGAGTAAAAACATAAATTCTTTA  AAGCAGCACTCATGCATTTTGTCAATGATAGAGCCTTACT  TAGAGACTCAGAATTACTTTCCCTTTCCTAATTCTAACA  TCTTCTTCTAGTTTGTCCCAGTCAAACCTGAAATTCAGAC</p>
--	--	---

	<p> CTTGTCTTTGCATGTGCCTGTATTTCCCTGAGTATGCATT  TGCATTCAATTTGCAGTAGAATCATTTTCATACACGAAAAC  CAATCACCCCTCTGAAAAAACTTCCTGCAGAGGTTTTTTG  CCATTTTCATCCAGACCACATTGTTCTTTGACAGCTGAAGT  GAAATACAATGGTGACAGTTCTGTAGAAGTTTCAATAGCC  TCACAGATAAAATTTTCATGTCATCATTGGTGAGACAAGATG  GGTCAAAATCTTCCACAAGATGAAAAGAAATTTCTGATAA  GATGACCTTCCTTAAATATGCCATTTTACCTGACAATATA  GTCTGAAGGTGATGCAATCCTTTTGTATTTTCAAACCCCA  CCTCATTTTCCCTTCATTGGTCTTCTTGCTTCTTTTCATA  CCGCTTTATTGTGGAGTTGACCTTATCTTCTAAATCCTTG  AAGAACTTGTCTCTTCTTCCCCATCAAAGCATATGTCTG  CTGAGTCACCTTCTAGTTTCCCAGCTTCTGTTTCTTTAGA  GCCGATAACCAATCTAGAGACCAACTTTGAAACCTTGTAC  TCGTAATCTGAGTGGTTCAATTTGTACTTCTGCTTTCTCA  TGAAGCTCTCTGTGATCTGACTCACAGCACTAACAAGCAA  TTTGTTAAAATCATACTCTAGGAGCCGTTCCCCATTTAAA  TGTTTGTTAACAACCACACTTTTGTTGCTGGCAAGGTCTA  ATGCTGTTGCACACCCAGAGTTAGTCATGGGATCCAAGCT  ATTGAGCCTCTTCTCCCCTTTGAAAATCAAAGTGCCATTG  TTGAATGAGGACACCATCATGCTAAAGGCCTCCAGATTGA  CACCTGGGGTTGTGCGCTGACAGTCAACTTCTTTCCCAGT  GAACTTCTTCATTTGGTCATAAAAAACACACTCTTCCTCA  GGGGTGATTGACTCTTTAGGGTTAACAAAGAAGCCAAACT  CACTTTTAGGCTCAAAGAATTTCTCAAAGCATTTAATTTG  ATCTGTCAGCCTATCAGGGGTTTCCTTTGTGATTAAATGA  CACAGGTATGACACATTCAACATGAACTTGAACTTTGCGC  TCAACAGTACCTTTTCACCAGTCCCCAAAACAGTTTTGAT  CAAAAATCTGAGCAATTTGTACACTACTTTCTCAGCAGGT  GTGATCAAATCCTCCTTCAACTTGTCCATCAATGATGTGG  ATGAGAAGTCTGAGACAATGGCCATCACTAAATACCTAAT </p>
--	--

		<p> GTTTTGAACCTGTTTTTGATTCCCTCTTTGTTGGGTGGTG  AGCATGAGTAATAATAGGGTTCTCAATGCAATCTCAACAT  CATCAATGCTGTCCTTCAAGTCAGGACATGATCTGATCCA  TGAGATCATGGTGTCAATCATGTTGTGCAACACTTCATCT  GAGAAGATTGGTAAAAAGAACCTTTTTGGGTCTGCATAAA  AAGAGATTAGATGGCCATTGGGACCTTGTATAGAATAACA  CCTTGAGGATTCTCCAGTCTTTTGATACAGCAGGTGATAT  TCCTCAGAGTCCAATTTTATCACTTGGCAAAATACCTCTT  TACATTCCACCACTTGATACCTTACAGAGCCCAATTGGTT  TTGTCTTAATCTAGCAACTGAACTTGTTTTCATACTGTTT  GTCAAAGCTAGACAGACAGATGACAATCTTTCAAACATAT  GCATGTTCCCTTAATTGTTCCGTATTAGGCTGGAAATCATA  ATCTTCAAACCTTTGTATAATACATTATAGGATGAGTTCCG  GACCTCATGAAATTCTCAAACCTCAATAAATGGTATGTGGC  ACTCATGCTCAAGATGTTTCAGACAGACCATAGTGCCCAAA  ACTAAGTCCCACCACTGACAAGCACCTTTGAACTTTTAAA  ATGAACTCATTTATGGATGTTCTAAACAAATCCTCAAGAG  ATACCTTTCTATACGCCTTTGACTTTCTCCTGTTCCCTTAG  AAGTCTGATGAACTCTTCCTTGGTGCTATGAAAGCTCACC  AACCTATCATTCACACTCCCATAGCAACAACCAACCCAGT  GCTTATCATTTTTTTGACCCTTTGAGTTTAGACTGTTTGAT  CAACGAAGAGAGACACAAGACATCCAAATTCAGTAACTGT  CTCCTTCTGGTGTTCAATAATTTTAACTTTTAACTTTGT  TCAACATAGAGAGGAGCCTCTCATACTCAGTGCTAGTCTC  ACTTCCTCTCTCATAACCATGGGTATCTGCTGTGATAAAT  CTCATCAAAGGACAGGATTCAACTGCCTCCTTGCTTAGTG  CTGAAATGTCATCACTGTCAGCAAGAGTCTCATAAAGCTC  AGAGAAATTCCTTAATTAAATTTCCGGGGTTGATTTTCTGA  AAACTCCTCTTGAGCTTCCCAGTTTCCAAGTCTCTTCTAA  ACCTGCTGTAAAGGGAGTTTATGCCAAGAACCACATCATC  GCAGTTCATGTTTGGGTGACACCATCATGGCACATTTTC </p>
--	--	--

		<p>ATAATTTTCATCATTGTGAAATGATCTTGCATCTTTCAAGA  TTTTTCATAGAGTCTATACCGGAACGCTTATCAACAGTGGT  CTTGAGAGATTTCGCAAAGTCTGAAGTACTCAGATTCTCTCA  AAGACTTTTCTCATCTTGGCTAGAATACTCTAAAAGTTTAA  ACAGAAGGTCTCTGAACTTGAAATTACCCACTCTGGCAT  AAAGCTGTTATCATAATCACACCGACCATCCACTATTGGG  ACCAATGTGATACCCGCAATGGCAAGGTCTTCTTTGATAC  AGGCTAGTTTATTGGTGTCTCTATAAATTTCTTCTCAAA  ACTAGCTGGTGTGCTTCTAACGAAGCACTCAAGAAGAATG  AGGGAATTGTCAATCAGTTTATAACCATCAGGAATGATCA  AAGGCAGTCCCGGGCACACAATCCCAGACTCTATTAGAAT  TGCCTCAACAGATTTATCATCATGGTTGTGTATGCAGCCG  CTCTTGTCTCAGCACTGTCTATCTCTATAACAACGCGACAAAA  GTTTGAGTCCCTCTATCAATACCATTCTGGGTTCTCTTTG  CCCTAAAAAGTTGAGCTTCTGCCTTGACAACCTCTCATCT  TGTTCTATGTGGTTTAAAGCACAACTCTCTCAACTCCGAAA  TAGCCTCATCCATTGCGCATCAAAAAGCCTAGGATCCTCG  GTGCG</p>
14	<p>coriomeningitis linfocítica cepa MP  segmento S, secuencia completa (El  segmento genómico es ARN, la  secuencia en SEQ ID NO: 14 se muestra  para ADN; sin embargo, el intercambio de  todas las timidinas ("T") en SEQ ID NO: 14  por uridinas ("U ") proporciona la  secuencia de ARN.)</p>	<p>CGCACCGGGGATCCTAGGCTTTTTGGATTGCGCTTTCCTC  AGCTCCGTCTTGTGGGAGAATGGGTCAAATTGTGACGATG  TTTGAGGCTCTGCCTCACATCATTGATGAGGTCATTAACA  TTGTCATTATCGTGCTTATTATCATCACGAGCATCAAAGC  TGTGTACAATTTCCGCCACCTGCGGGATACTTGCAATTGATC  AGCTTTCTTTTTCTGGCTGGCAGGTCCTGTGGAATGTATG  GTCTTGATGGGCCTGACATTTACAAAGGGGTTTACCGATT  CAAGTCAGTGGAGTTTGACATGTCTTACCTTAACCTGACG  ATGCCCAATGCATGTTTCGGCAAACAACCTCCCATCATTATA  TAAGTATGGGGACTTCTGGATTGGAGTTAACCTTCACAAA  TGACTCCATCATCACCCACAACCTTTTGTAATCTGACTTCC  GCCCTCAACAAGAGGACTTTTGACCACACACTTATGAGTA  TAGTCTCAAGTCTGCACCTCAGCATTAGAGGGGTCCCCAG</p>

		<p> CTACAAAGCAGTGTCTGTGATTTTAACAATGGCATCACT  ATTCAATACAACCTGTCATTTTCTAATGCACAGAGCGCTC  TGAGTCAATGTAAGACCTTCAGGGGGAGAGTCCTGGATAT  G TTCAGAACTGCTTTTGGAGGAAAGTACATGAGGAGTGGC  TGGGGCTGGACAGGTTTCAGATGGCAAGACTACTTGGTGCA  GCCAGACAACTACCAATATCTGATTATACAAAACAGGAC  TTGGGAAAACCACTGCAGGTACGCAGGCCCTTTCGGAATG  TCTAGAATTCTCTTCGCTCAAGAAAAGACAAGTTTCTAA  CTAGAAGGCTTGCAGGCACATTCACTTGGACTTTATCAGA  CTCATCAGGAGTGGAGAATCCAGGTGGTTACTGCTTGACC  AAGTGGATGATCCTCGCTGCAGAGCTCAAGTGTTTTGGGA  ACACAGCTGTTGCAAAGTGCAATGTAAATCATGATGAAGA  GTTCTGTGATATGCTACGACTGATTGATTACAACAAGGCT  GCTTTGAGTAAATTCAAAGAAGATGTAGAATCCGCTCTAC  ATCTGTTCAAGACAACAGTGAATTCTTTGATTTCTGATCA  GCTTTTGATGAGAAATCACCTAAGAGACTTGATGGGAGTG  CCATACTGCAATTACTCGAAATTCTGGTATCTAGAGCATG  CAAAGACTGGTGAGACTAGTGTCCCCAAGTGCTGGCTTGT  CAGCAATGGTTCTTATTTGAATGAAACCCATTTTCAGCGAC  CAAATTGAGCAGGAAGCAGATAATATGATCACAGAAATGC  TGAGAAAGGACTACATAAAAAGGCAAGGGAGTACCCCTCT  AGCCTTGATGGATCTATTGATGTTTTCTACATCAGCATAT  TTGATCAGCATCTTTCTGCATCTTGTGAGGATACCAACAC  ACAGACACATAAAGGGCGGCTCATGCCCCAAACCATCG  GTTAACCAGCAAGGGAATCTGTAGTTGTGGTGCATTTAAA  GTACCAGGTGTGGAAACCACCTGGAAAAGACGCTGAACAG  CAGCGCCTCCCTGACTCACCACCTCGAAAAGAGGTGGTGAG  TCAGGGAGGCCAGAGGGTCTTAGAGTGTTACGACATTTG  GACCTCTGAAGATTAGGTCATGTGGTAGGATATTGTGGAC  AGTTTTCAGGTCGGGGAGCCTTGCCCTGGAGGCGCTTTCA  AAGATGATACAGTCCATGAGTGCACAGTGTGGGGTGACCT </p>
--	--	---

		<p> CTTTCTTTTTCTTGTCCTCACTATTCCAGTGTGCATCTT  GCATAGCCAGCCATATTTGTCCCAGACTTTGTCCTCATAT  TCTCTTGAAGCTTCTTTAGTCATCTCAACATCGATGAGCT  TAATGTCTCTTCTGTTTTGTGAATCTAGGAGTTTCCTGAT  GTCATCAGATCCCTGACAACCTTAGGACCATTCCCTGTGGA  AGAGCACCTATTACTGAAGATGTCAGCCCAGGTTGTGCAT  TGAAGAGGTCAGCAAGGTCCATGCCATGTGAGTATTTGGA  GTCTTGCTTGAATTGTTTTGATCAGTGGGTTCTCTATAG  AAATGTATGTACTGCCCATTCTGTGGCTGAAATATTGCTA  TTTCTACCGGGTCATTAAATCTGCCCTCAATGTCAATCCA  TG TAGGAGCGTTAGGGTCAATACCTCCCATGAGGTCCTTC  AGCAACATTGTTTGGCTGTAGCTTAAGCCCACCTGAGGTG  GGCCCGCTGCCCCAGGCGCTGGTTTGGGTGAGTTGGCCAT  AGGCCTCTCATTTGTCAGATCAATTGTTGTGTTCTCCCAT  GCTCTCCCTACAACCTGATGTTCTACAAGCTATGTATGGCC  ACCCCTCCCTGAAAGACAGACTTTGTAGAGGATGTTCTC  GTAAGGATTCTGTCTCCAACCTGATCAGAAACAAACATG  TTGAGTTTCTTCTTGCCCCAAGAACTGCTTTCAGGAGAT  CCTCACTGTTGCTTGGCTTAATTAAGATGGATTCCAACAT  GTTACCCCATCTAACAAGGCTGCCCCTGCTTTCACAGCA  GCACCGAGACTGAAATTGTAGCCAGATATGTTGATGCTAG  ACTGCTGCTCAGTGATGACTCCCAAGACTGGGTGCTTGTC  TTTCAGCCTTTCAAGGTCACCTAGGTTCTGGGTACTTGACT  GTGTAAAGCAGCCCAAGGTCTGTGAGTGCTTGCACAACGT  CATTGAGTGAGGTTTGTGATTGTTTGGCCATACAAGCCAT  TGTTAAGCTTGGCATTGTGCCGAATTGATTGTTTCAGAAGT  GATGAGTCCTTCACATCCCAGACCTCACCACACCATTTG  CACTCTGCTGAGGTCTCCTCATTCGAACCATTTGCAGAAT  CTGAGATCTTTGGTCAAGCTGTTGTGCTGTTAAGTTCCCC  ATGTAGACTCCAGAAGTTAGAGGCCTTTCAGACCTCATGA  TTTTAGCCTTCAGTTTTTCAAGGTCAGCTGCAAGGGACAT </p>
--	--	---

		<p> CAGTTCTTCTGCACTAAGCCTCCCTACTTTTAGAACATTC  TTTTTTGATGTTGACTTTAGGTCCACAAGGGAATACACAG  TTTGGTTGAGGCTTCTGAGTCTCTGTAAATCTTTGTATC  CCTCTTCTCTTTCCTCATGATCCTCTGAACATTGCTCACC  TCAGAGAAGTCTAATCCATTGAGAAGGCTGGTGGCATCCT  TGATCACAGCAGCTTTCACATCTGATGTGAAGCCTTGAAG  CTCTCTCCTCAATGCCTGGGTCCATTGAAAGCTTTTAACT  TCTTTGGACAGAGACATTTTGTCACTCAGTGGATTTCCAA  GTCAAATGCGCAATCAAAATGCCTAGGATCCACTGTGCG </p>
15	secuencia de aminoácidos de la proteína NP de la cepa MP de LCMV	<p> MSLSKEVKSFQWTQALRRELQGFTSDVKA AVIKDATSLN  GLDFSEVSNVQRIMRKEKRDDKDLQRLRSLNQT VYSLVDL  KSTSKKNVLKVGRLSAEELMSLAADLEKLKAKIMR SERPL  TSGVYMGNLTAQQLDQRSQILQMVGMR RPQQSANGVVRVW  DVKDSSLLNNQFGTMPSLTMACMAKQSQTSLNDVVQALTD  LGLLYTVKYPNLSDLERLKD KHPVLGVITEQQSSINISGY  NFSLGA AVKAGAALLDGGNMLESILIKPSNSEDLLKAVLG  AKKKLNMFVSDQVGDRNPYENILYKVCLSGEGWPYIACRT  SVVGRAWENTTIDL TNERPMANSPKPAPGAAGPPQVGLSY  SQTMLLKDLMGGIDPNAPT WIDIEGRFNDPVEIAIFQPQN  GQYIHFYREPTDQKQFKQDSKYSHGMDLADLFNAQPGLTS  SVIGALPQGMVLSCQGSDDIRKLLDSQNR RDIKLIDVEMT  KEASREYEDKVWDKYGWLCKMHTGIVRDKKKKEVTPH CAL  MDCIIFESASKARLPDLKTVHNILPHDLIFRGP NVVTL </p>
16	secuencia de aminoácidos de la proteína GP de la cepa MP de LCMV	<p> MGQIVTMFEALPHIIDEVINIVIIIVLIIITSIKAVYNFAT  CGILALISFLFLAGRSCGM YGLDGPDIYKGVYRFKSVEFD  MSYLNLTMPNACSANN SHHYISMGTSGLELTF TNDSSIITH  NFCNLTSALNKRTFDHTLMSIVSSLHLSIRGVPSYKAVSC  DFNNGITIQYNLSFSNAQSALSQCKTFRGRVLD MFRTAFG  GKYMRSGWGTGSDGKTTWCSQTNYQYLIIQNRTWENHCR  YAGPFGMSRILFAQEKT RFLTRRLAGTFTWTLS DSSGVEN  PGGYCLTKWMILAAELKCFGNTAVAKCNVNHDEEFCDMLR </p>

		<p>LIDYNKAALSKFKEDVESALHLFKTTVNSLISDQLLMRNH          LRDLMGVPYCNYSKFWYLEHAKTGETSVPKCWLVSNGSYL          NETHFSDQIEQEADNMITEMLRKDYIKRQGSTPLALMDLL          MFSTSAYLISIFLHLVRIPTHRHIKGGSCPKPHRLTSKGI          CSCGAFKVPGVETTWKRR</p>
17	secuencia de aminoácidos de la proteína L de la cepa MP de LCMV	<p>MDEAISELRELCLNHIEQDERLSRQKLNFLGQREPRMVL          EGLKLLSRCIEIDSADKSGCIHNHDDKSVEAILIESGIVC          PGLPLIIPDGYKLIDNSLILLECFVRSTPASFEKKFIEDT          NKLACIKEDLAIAGITLVPIVDGRCDYDNSFMPEWVNFKF          RDLLFKLLEYSSQDEKVFEESEYFRLCESLKTTVDKRSGI          DSMKILKDARSFHNDIIMKMCHDGVNPNMNCDDVVLGINS          LYSRFRRDLETGKLKRSFQKINPGNLIKEFSELYETLADS          DDISALSKEAVESCPLMRFITADTHGYERGSETSTEYERL          LSMLNKVSKLLNTRRRQLLNLDVLCSSLIKQSKLKGS          KNDKHVWGCCYGSVNDRLVSFHOSTKEEFIRLLNRNRKSKA          YRKVSLEDLFRTSINEFILKVQRCLSVVGLSFGHYGLSEH          LEHECHIPFIEFENFMRSCTHPIMYYTKFEDYDFQPNTEQ          LRNMHSLKRLSSVCLALTNSMKTSSVARLRQNQLGSVRYQ          VVECKEVFCQVIKLDSEEHLLYQKTGESSRCYSIQGPNG          HLISFYADPKRFFLPIFSDEVLHNMIDTMISWIRSCPDLK          DSIDDVEIALRTLLLLMLTNPTKRNQKQVQNIRYLVMAIV          SDFSSTSLMDKLKEDLITPAEKVVYKLLRFLIKTVFGTGE          KVLLSAKFKFMLNVSYLCHLITKETPDRLTDQIKCFEKFF          EPKSEFGFFVNPKESTPEEECVFYDQMKKFTGKEVDCQR          TTPGVNLEAFSMMVSSFNNGTLIFKGEKRLNSLDPMTNSG          CATALDLASNKSVVNVKHLNGERLLEYDFNKLVSASVQI          TESFMRKQKYKLNHSDYEEKVSKLVSRVLVIGSKETEAGKL          EGDSADICFDGEEETSFFKNLEDKVNSTIKRYERSKKTNE          GENEVGFENTKGLHHLQTILSGKMAYLRKVILSEISFHLV          EDFDPSCLTNDDMKFICEAIETSTELSPLYFTSAVKEQCG          LDEMAKNLCRKFFSEGDWFSCKMILLQMNANAYSGKYRH</p>



		<p> MQRQGLNFKFDWDKLEEDVRISERESNSESLSKALSLTKC  MSAALKNLCFYSEESPTSYTSVGPDSGRLKFALSYKEQVG  GNRELYIGDLRTKMFTRLIEDYFESFSSFFSGSCLNNDKE  FENAILSMTINVREGLLNYSMDHSKWGPMMCPFLFLMLLQ  NLKLGDDQYVRSGKDHI STLLTWHMHKLVEVPFPVNNAMM  KSYIKSKLKLRLRGSETTVTERIFREYFELGIVPSHISLI  DMGQGILHNASDFYGLISERFINYCIGVIFGERPESYTSS  DDQITLFDRLSELVSDPEEVLVLLEFHSLSGLLNKFI  SPKSVVGRFAAEFKSRFYVWGEEVPLLTKFVSAALHNKVC  KEPHQLCETIDTIADQAVANGVPVSLVNCIQKRTLDLLKY  ANFPLDPFLNNTNTDVKDWLDGSRGYRIQRLIEELCPSET  KVMRRLVRRLLHHKLKNGEFNEEFFLDLFNRDKKEAILQLG  NILGLEEDLSQLANINWLNELFPLRMVLRQKVVPSPVM  TFQEERIPSLIKTLQNKLCSEKTRGAQKLLSEAINKSAFQ  SCISSGFIGLCKTLGSRVNRKNRDNLYIRKVLEDLAMDA  HVTAIHRHDGIMLYICDRQSHPEAHCDHISLLRPLLWDYI  CISLSNSFELGVWVLAEPVKGKNEGSSSLKHLNPCDYVAR  KPESRRLLEDKISLNHVIQSVRRLYPKIYEDQLLPFMSDM  SSKNMRWSPRIKFLDLCVLIDINSESLSLISHVVKWRDE  HYTVLFSDLVNSHQSDSSSLVDEFVSTRDVCKNFLKQVY  FESFVREFVATSRTLGSFSWFPKDMMPSEDGAEALGPFQ  SFILKVVNKNMERPMFRNDLQFGFGWFSYRLGDIVCNAAM  LIKQGLTNPKAFKSLRNLWDYMINNTEGVLEFSITVDFTH  NQNTDCLRKFSLIFLVKCQLQGPVGAFLSCSHLFKGEV  DRRFLDECLHLLRSDSIFKVNDGVFDIRSEEFEDYMEDPL  ILGDSLELELIGSRKILDGIRSLDFERIGPEWEPVPLTVR  MGALFEGRSLVQNIVVKLETKDMRVFLAELEGYGNFDDVL  GSLLLHRFRTGEHLQGEISTILQELCIDRSILLVPLSLV  PDWFTFKDCRLCFSSKNTVMYETVVGKYRLKGKSCDDWL  TKSVVEEID </p>
18	secuencia de aminoácidos de	MGQGKSKEGRDASNTSRAEILPDTTYLGPLNCKSCWQRFD
	la proteína Z de la cepa MP de LCMV	SLVRCHDHYLCRHCLNLLSVSDRCPLCKHPLPTKLKIST APSSPPPYEE

19	Virus Junín Candid# 1 segmento L	<p> GCGCACCGGGGATCCTAGGCGTAACTTCATCATTTAAATCT  CAGATTCTGCTCTGAGTGTGACTTACTGCGAAGAGGCAGAC  AAATGGGCAACTGCAACGGGGCATCCAAGTCTAACCAGCCA  GACTCCTCAAGAGCCACACAGCCAGCCGCGAGAATTTAGGAG  GGTAGCTCACAGCAGTCTATATGGTAGATATAACTGTAAGT  GCTGCTGGTTTGCTGATACCAATTTGATAACCTGTAATGAT  CACTACCTTTGTTTAAGGTGCCATCAGGGTATGTTAAGGAA  TTCAGATCTCTGCAATATCTGCTGGAAGCCCCCT  GCCCACCACAATCACAGTACCGGTGGAGCCAACAGCACCAC  CACCATAGGCAGACTGCACAGGGTCAGACCCGACCCCCCGG  GGGGCCCCCATGGGGACCCCCCGTGGGGGAACCCGGGGGT  GATGCGCCATTAGTCAATGTCTTTGATCTCGACTTTGTGCT  TCAGTGGCCTGCATGTCACCCCTTTCAATCTGAACTGCCCT  TGGGGATCTGATATCAGCAGGTCATTTAAAGATCT  GCTGAATGCCACCTTGAAATTTGAGAATTCGAACAGTCAC  CAAATTTATCAAGTGAACGGATCAACTGCTCTTTGTGTA  GATCATAAACGAGGACAAAGTCCTCTTGCTGAAATAATATT  GTTTGTGATGTTGTTTTTAGATAAGGCCATAGTTGGCTT  AATAAGGTTTCCACACTATCAATGTCCTCTAGTGCTCCAAT  TGCCTTGACTATGACATCCCCAGACAACCTCAACTCTATA  TGTTGACAACCTTTCATTACCTCTGTAAAAGATACCCCTCTT  TCAAGACAAGAGGTTCTCCTGGGTTATCTGGCCCAATGA  GGTCATATGCATACTTGTTACTTAGTTTCAGAATAAAAAGTCA  CCAAAGTTGAACTTAACATGGCTCAGAATATTGTCATCA  TTTGTCGCAGCGTAGCCTGCATCAATAAACAAGCCAGCTAG  GTCAAAGCTCTCATGGCCTGTGAACAATGGTAGGCTAGC  GATAACCAGTGCACCATCCAACAATGAGTGGCTTCCCTCAG  ACCCAGAAACACATTGACTCATTGCATCCACATTCAGCT  CTAATTCAGGGGTACCGACATCATCCACTCCTAGTGAAGT </p>
----	----------------------------------	---

	<p> ACAATGGTGTAACGTACACCATCTTTCTTCTAAGTTTA  AATTTTGTGCGAACTCGTGTGTGTTCTACTTGAATGATCAA  TTTTAGTTTCACAGCTTCTTGGCAAGCAACATTGCGCAA  CACAGTGTGCAGGTCCATCATGTCTTCCTGAGGCAACAAGG  AGATGTTGTCAACAGAGACACCCCTCAAGGAAAACCTTGA  TATTATCAAAGCTAGAACTACATAACCCATTGCAATGTCT  TCAACAAACATTGCTCTTGATACTTTATTATTCTAACT  GACAAGGTAAAATCTGTGAGTTCAGCTAGATCTACTTGACT  GTCATCTTCTAGATCTAGAACTTCATTGAACCAAAAGAA  GGATTTGAGACACGATGTTGACATGACTAGTGGGTTTATCA  TCGAAGATAAGACAACTTGCACCATGAAGTTCCTGCAA  CTTGCTGTGGGCTGATGCCAACTTCCCAATTTGTATACTCT  GACTGTCTAACATGGGCTGAAGCGCAATCACTCTGTTTC  ACAATATAAACATTATTATCTCTTACTTTCAATAAGTGACT  TATAATCCCTAAGTTTTTCATTCATCATGTCTAGAGCCAC  ACAGACATCTAGAACTTGAGTCTTCCACTATCCAAAGATC  TGTTCACTTGAAGATCATTCATAAAGGGTGCCAAATGTT  CTTCAAATAGTTTGGGGTAATTTCTTCGTATAGAATGCAAT  ACATGGTTCATGCCTAATTGGTCTTCTATCTGTCTGACT  GCTTTGGGTTTAACAGCCCAGAAGAAATTCTTATTACATAA  GACCAGAGGGGCTGTGGACTCTTAATAGCAGAAAACAC  CCACTCCCCTAACTCACAGGCATTTGTCAGCACCAAAGAGA  AGTAATCCCACAAAATTGGTTTAGAAAATTGGTTAACTT  CTTTAAGTGATTTTTGACAGTAAATAACTTTAGGCTTTCTC  TCACAAATCCACAAAGACATGGCATTATTCGAGTAAAT  ATGTCCTTTATATACAGAAATCCGCCTTTACCATCCCTAAC  ACACTTACTCCCCATACTCTTACAAAACCCAATGAAGCC  TGAGGCAACAGAAGACTGAAATGCAGATTTGTTGATTGACT  CTGCCAAGATCTTCTTCACGCCTTTTGTGAAATTTCTTG  ACAGCCTGGACTGTATTGTCCTTATCAATGTTGGCATCTCT  TCTTTCTCTAACACTCTTCGACTTGTCATGAGTTTGGTC </p>
--	---

	<p> CTCAAGACCAACCTCAAGTCCCCAAAGCTCGCTAAATTGAC  CCATCTGTAGTCTAGAGTTTGTCTGATTTTCATCTTCACT  ACACCCGGCATATTGCAGGAATCCGGATAAAGCCTCATCCC  CTCCCCTGCTTATCAAGTTGATAAGGTTTTCTCAAAGA  TTTTGCCTCTCTTAATGTCATTGAACACTTTCCTCGCGCAG  TTCCTTATAAACATTGTCTCCTTATCATCAGAAAAATA  GCTTCAATTTTCTCTGTAGACGGTACCCTCTAGACCCATC  AACCCAGTCTTTGACATCTTGTCTTCAATAGCTCCAAA  CGGAGTCTCTCTGTATCCAGAGTATCTAATCAATTGGTTGA  CTCTAATGGAAATCTTTGACACTATATGAGTGCTAACCC  CATTAGCAATACATTGATCACAAATTGTGTCTATGGTCTCT  GACAGTTGTGTTGGAGTTTTACACTTAACGTTGTGTAGA  GCAGCAGACACAACTTGGTGAGTAAAGGAGTCTCTTACC  CATGACAAAAAATCTTGACTTAACTCAGCAACAAAAGTTC  CTATCACACTCTTTGGGCTGATAAACTTGTTTAATTTAGAA  GATAAGAATTCATGGAAGCACACCATTTCCAGCAGTT  CTGTCCCTGTCTTGAACTTTTCATCACTAAGGCAAGGAATT  TTTATAAGGCTAACCTGGTCATCGCTGGAGGTATAAGTG  ACAGGTATCACATCATAACAATAAGTCAAGTGCATAACACAG  AAATTGTTTCAAGTAATTAGCCCATATAAATCTGATGTGTT  GTGCAAGATTCCCTGGCCCATGTCCAAGACAGACATTATAT  GGCTGGGGACCTGGTCCCTTGACTGCAGATACTGGTGAA  AAAACCTTTCACCAACACTAGTACAGTCACAACCCATTAAA  CCTAAAGATCTCTTCAATTTCCCTACACAGTAGGCTTCT  GCAACATTAATTGGAACCTCAACGACCTTATGAAGATGCCA  TTTGAGAATGTTTCACTTGGTTCAAGATTCACCTTTGT  TCTATCTCTGGGATTCTTCAATTCTAATGTGTACAAAAAG  AAAGGAAAAGTGCTGGGCTCATAGTTGGTCCCCATTTGG  AGTGGTCATATGAACAGGACAAGTCACCATTGTTAACAGCC  ATTTTCATATCACAGATTGCACGTTCAATTCTTTTCT  GAATTCAAGCATGTGTATTTTCAATTGAACTACCCACAGCTTC </p>
--	---

		<p> TGAGAAGTCTTCAACTAACCTGGTCATCAGCTTAGTGTT  GAGGTCTCCACATACAGTTCTCTATTTGAGCCAACCTGCT  CCTTATAACTTAGTCCAAATTTCAAGTTCCTGTATTTG  AGCTGATGCTTGTGAACTCTGTAGGAGAGTCGTCTGAATAG  AAACATAAATTCCGTAGGGCTGCATTTGTAAAATAACTT  TTGTCTAGCTTATCAGCAATGGCTTCAGAATTGCTTTCCCT  GGTACTAAGCCGAACCTCATCCTTTAGTCTCAGAACTTC  ACTGGAAAAGCCCAATCTAGATCTACTTCTATGCTCATAAC  TACCCAATTTCTGATCATAATGTCCTTGAATTAAGAT  ACTTGAAGCATTCAAAGAATTCATCTTCTTGGTAGGCTATT  GTTGTCAAATTTTTTAATAACAAACCCAAAGGGCAGATG  TCCTGCGGTGCTTCAAGAAAATAAGTCAATTTAAATGGAGA  TAGATAAACAGCATCACATAACTCTTTATACACATCAGA  CCTGAGCACATCTGGATCAAAATCCTTCACCTCATGCATTG  ACACCTCTGCTTTAATCTCTCTCAACACTCCAAAAGGGG  CCCACAATGACTCAAGAGACTCTCGCTCATCAACAGATGGA  TTTTTTGATTTCAACTTGGTGATCTCAACTTTTGTCCCC  TCACTATTAGCCATCTTGGCTAGTGTCATTTGTACGTCATT  TCTAATACCCTCAAAGGCCCTTACTTGATCCTCTGTAA  ACTCTCATACATCACTGATAATTCTTCTTGATTGGTTCTGG  TTCTTGAACCGGTGCTCACAAGACCTGTTAGATTTTTTA  ATATTAAGTAGTCCATGGAATCAGGATCAAGATTATACCTG  CCTTTTGTTTTAAACCTCTCAGCCATAGTAGAAACGCAT  GTTGAAACAAGTTTCTCCTTATCATAAACAGAAAGAATATT  TCCAAGTTCGTCGAGCTTGGGGATTACCACACTTTTATT  GCTTGACAGATCCAGAGCTGTGCTAGTGATGTTAGGCCTGT  AGGGATTGCTTTTCAGTTCACCTGTAACTTTAAGTCTTC  CTCTATTGAAGAGAGAAATGCAGAAGGACAAAATCTCTTTA  CACACTCCTGGAATTTGAGTATCTGAGGAAGTCTTAGCC  TCTTTGGAAAAGAATCTGTCCAATCCTCTTATCATGGTGTC  CTCTTGTTCCAGTGTTAGACTCCCACTTAGAGGGGGGTT </p>
--	--	---

		<p> TACAACAACACAATCAAACCTTGACTTTGGGCTCAATAAACT  TCTCAAAACACTTTTATTTGATCTGTCAGGCGATCAGGTG  TCTCTTTGGTTACCAAGTGACACAGATAACTAACATTTAAT  AGATATTTAAACCTTCTTGCAAAGTAAAGATCTGCATCT  TCCCCTTCACCCAAAATTGTCTGGAAAAGTTCCACAGCCAT  CCTCTGAATCAGCACCTCTGATCCAGACATGCAGTCGAC  CCTTAACCTTTGACATCAAATCCACATGATGGATTTGATTTG  CATATGCCATCAAGAAATATCTTAGACCTTGTA AAAATG  TCTGGTTCCTTTTGG AAGGGGAACAGAGTACAGCTAACACT  AACAACTTAAATATTGGCCTTGTCATTGTCATGAGTTGCG  TGGCTAAAATCCAACCAGCTGGTCATTTCTCACACATTTCT  AATTAACACATCTCCGAAAATATAGGCAGGAAAAATCT  CTTTGGATCACAGTAAAAAGAGCCTTGTTCTTCCAATACCC  CATTGATGGATAGATAGATAGAATAGCACCTTGACTTCT  CACCTGTTTTTTGGTAAAACAAGAGACCAAATGTATTCTTT  GTCAGATGAAATCTTTGTACATAAACTCTCTTAGTCTA  ACATTCCCAAAATATCTAGAATACTCTCTTTCATTGATTAA  CAATCGGGAGGAAAATGATGTCTTCATCGAGTTGACCAA  TGCAAGGGGAAATGGAGGACAAAATCCTAAATAATTTCTTCT  GCTCACCTTCCACTAAGCTGCTGAATGGCTGATGTCTAC  AGATTTTCTCAAATTCCTTGTTAATAGTATATCTCATCACT  GGTCTGTCAGAAACAAGTGCCTGAGCTAAAATCATCAAG  CTATCCATATCAGGGTGTTTTATTAGTTTTTCCAGCTGTGA  CCAGAGATCTTGATGAGAGTTCTTCAATGTTCTGGAACA  CGCTTGAACCCACTTGGGGCTGGTCATCAATTTCTTCCTTA  TTAGTTTAATCGCCTCCAGAATATCTAGAAGTCTGTCTAT  TGACTAACATTAACATTTGTCCAACAACATTTCCCGCATTT  CTTAACCTTACAATTGCATCATCATGCGTTTTGAAAAGA  TCACAAAGTAAATTGAGTAAAACTAAGTCCAGAAACAGTAA  AGTGTTTCTCCTGGTGTTGAAAACCTTTAGACCTTTCAC  TTTGTTACACACGGAAAGGGCTTGAAGATAACACCTCTCTA </p>
--	--	--

		<p> CAGCATCAATAGATATAGAATTCTCATCTGACTGGCTTT  CCATGTTGACTTCATCTATTGGATGCAATGCGATAGAGTAG  ACTACATCCATCAACTTGTTTGCACAAAAAGGGCAGCTG  GGCACATCACTGTCTTTGTGGCTTCCTAATAAGATCAAGTC  ATTTATAAGCTTAGACTTTTGTGAAAATTTGAATTTCCC  CAACTGCTTGTCAAAAATCTCCTTCTTAAACCAAAACCTTA  ACTTTATGAGTTCTTCTCTTATGACAGATTCTCTAATGT  CTCCTCTAACCCCAACAAAGAGGGATTCAATTAACCTCTCA  TCATAACCCAAAGAATTCTTTTTCAAGCATTGATGTTT  TCTAATCCCAAGCTCTGGTTTTTTGTGTTGGACAAACTATG  GATCAATCGCTGGTATTCTTGTTCTTCAATATTAATCTC  TTGCATAAATTTTGATTTCTTTAGGATGTCGATCAGCAACC  ACCGAACTCTTTCAACAACCCAATCAGCAAGGAATCTAT  TGCTGTAGCTAGATCTGCCATCAACCACAGGAACCAACGTA  ATCCCTGCCCTTAGTAGGTCGGACTTTAGGTTTAAGAGC  TTTGACATGTCACTCTTCCATTTTCTCTCAAACCTCATCAGG  ATTGACCCTAACAAAGGTTTCCAATAGGATGAGTGTTTT  CCCTGTGAGTTTGAAGCCATCCGGAATGACTTTTGGAAGGG  TGGGACATAGTATGCCATAGTCAGACAGGATCACATCAA  CAAACCTCTGATCTGAATTGATCTGACAGGCGTGTGCCCTCA  CAGGACTCAAGCTCTACTAACTTGACAGAAGTTTGAAC  CCTTCCAACAACAGAGAGCTGGGGTGATGTTGAGATAAAAA  GATGTCCCTTTGGTATGCTAGCTCCTGTCTTTCTGGAAA  ATGCTTTCTAATAAGGCTTTTTATTTCAATTTACTGATTCCT  CCATGCTCAAGTGCCGCTAGGATCCTCGGTGCG </p>
20	Virus Junín Candid# 1 Segmento S	<p> GCGCACCGGGGATCCTAGGCGATTTTGGTTACGCTATAATT  GTAACGTGTTTTCTGTTTGGACAACATCAAAAACATCCATTG  CACAATGGGGCAGTTCATTAGCTTCATGCAAGAAATACCAA  CCTTTTTGCAGGAGGCTCTGAACATTGCTCTTGTTGC  AGTCAGTCTCATTGCCATCATTAAGGGTATAGTGAACCTGT  ACAAAAGTGTTTTATTCCAATTCTTTGTATTCTAGCGC </p>

	<p>             TTGCAGGAAGATCCTGCACAGAAGAAGCTTTCAAAATCGGA              CTGCACACTGAGTTCCAGACTGTGTCCTTCTCAATGGTG              GGTCTCTTTTCCAACAATCCACATGACCTACCTTTGTTGTG              TACCTTAAACAAGAGCCATCTTTACATTAAGGGGGGCAA              TGCTTCATTTTCAGATCAGCTTTGATGATATTGCAGTATTGT              TGCCACAGTATGATGTTATAATACAACATCCAGCAGATA              TGAGCTGGTGTTCAAAAGTGATGATCAAATTTGGTTGTCT              CAGTGGTTCATGAATGCTGTGGGACATGATTGGCATCTA              GACCCACCATTTCTGTGTAGGAACCGTGCAAAGACAGAAGG              CTTCATCTTTCAAGTCAACACCTCCAAGACTGGTGTCAA              TGGAATTATGCTAAGAAGTTTAAGACTGGCATGCATCATT              TATATAGAGAATATCCTGACCCTTGCTTGAATGGCAAAC              TGTGCTTAATGAAGGCACAACCTACCAGTTGGCCTCTCCAA              TGTCCACTCGACCACGTTAACACATTACACTTCCTTACA              AGAGGTAAAAACATTCAACTTCCAAGGAGGTCCTTGAAAGC              ATTCTTCTCCTGGTCTTTGACAGACTCATCCGGCAAGGA              TACCCCTGGAGGCTATTGTCTAGAAGAGTGATGCTCGTAG              CAGCCAAAATGAAGTGTTTTGGCAATACTGCTGTAGCAA              AATGCAATTTGAATCATGACTCTGAATTCTGTGACATGTTG              AGGCTCTTTGATTACAACAAAAATGCTATCAAAACCCTA              AATGATGAACTAAGAAACAAGTAAATCTGATGGGGCAGAC              AATCAATGCCCTGATATCTGACAATTTATTGATGAAAAA              CAAAATTAGGGAAGTATGAGTGTCCCTTACTGCAATTACA              CAAAATTTTGGTATGTCAACCACACACTTTCAGGACAAC              ACTCATTACCAAGGTGCTGGTTAATAAAAAACAACAGCTAT              TTGAACATCTCTGACTTCCGTAATGACTGGATATTAGAA              AGTGACTTCTTAATTTCTGAAATGCTAAGCAAAGAGTATTC              GGACAGGCAGGGTAAACTCCTTTGACTTTAGTTGACAT              CTGTATTTGGAGCACAGTATTCTTCACAGCGTCACTCTTCC              TTCACTTGGTGGGTATACCCTCCCACAGACACATCAGGG              GCGAAGCATGCCCTTTGCCACACAGGTTGAACAGCTTGGGT           </p>
--	---



		GGTTGCAGATGTGGTAAGTACCCCAATCTAAAGAAACCA ACAGTTTGGCGTAGAGGACACTAAGACCTCCTGAGGGTCCC CACCAGCCCCGGGCACTGCCCGGGCTGGTGTGGCCCCCAGT CCGCGGCCTGGCCGCGGACTGGGGAGGCACTGCTTACAGTG CATAGGCTGCCTTCGGGAGGAACAGCAAGCTCGGTGGTAAT AGAGGTGTAGGTTCTCCTCATAGAGCTTCCCATCTAGCAC TGACTGAAACATTATGCAGTCTAGCAGAGCACAGTGTGGTT CACTGGAGGCCAACTTGAAGGGAGTATCCTTTTCCCTCTTT TTCTTATTGACAACCACTCCATTGTGATATTTG CATAAGTGACCATATTTCTCCCAGACCTGTTGATCAAACCTG CCTGGCTTGTTTCAGATGTGAGCTTAACATCAACCAGTTT AAGATCTCTTCTTCCATGGAGGTCAAACAACCTTCTGATGT CATCGGATCCTTGAGTAGTCACAACCATGTCTGGAGGCA GCAAGCCGATCACGTAACCTAAGAACTCCTGGCATTGCATCT TCTATGTCCTTCATTAAGATGCCGTGAGAGTGTCTGCTA CCATTTTAAACCCTTTCTCATCATGTGGTTTTCTGAAGCA GTGAATGTACTGCTTACCTGCAGGTTGGAATAATGCCAT CTCAACAGGGTCAGTGGCTGGTCCTTCAATGTCGAGCCAAA GGGTGTTGGTGGGGTCGAGTTTCCCCACTGCCTCTCTGA TGACAGCTTCTTGTATCTCTGTCAAGTTAGCCAATCTCAAA TTCTGACCGTTTTTTTCCGGCTGTCTAGGACCAGCAACT GGTTTCCTTGTCAGATCAATACTTGTGTTGTCCCATGACCT GCCTGTGATTTGTGATCTAGAACCAATATAAGGCCAACC ATCGCCAGAAAGACAAAGTTTGTACAAAAGTTTTTCATAAG GATTTCTATTGCCTGGTTTCTCATCAATAAACATGCCTT CTCTTCGTTTAACTGAATGGTTGATTTTATGAGGGAAGAG AAGTTTTCTGGGGTGA CTCTGATTGTTTCCAACATGTTT CCACCATCAAGAATAGATGCTCCAGCCTTTACTGCAGCTGA AAGACTGAAGTTGTAACCAGAAATATTGATGGAGCTTTC ATCTTTAGTCACAATCTGAAGGCAGTCATGTTCCCTGAGTCA GTCTGTCAAGGTCACCTTAAGTTTGGATACTTCACAGTGT
--	--	--

		<p>             ATAGAAGCCCAAGTGAGGTTAAAGCTTGTATGACACTGTTC              ATTGTCTCACCTCCTTGAACAGTCATGCATGCAATTGTC              AATGCAGGAACAGAGCCAAACTGATTGTTTAGCTTTGAAGG              GTCTTTAACATCCCATATCCTCACCACACCATTTCCTCCC              AGTCCCTTGCTGTTGAAATCCCAGTGTTCTCAATATCTCTG              ATCTTTTAGCAAGTTGTGACTGGGACAAGTTACCCATGT              AAACCCCTGAGAGCCTGTCTCTGCTCTTCTTATCTTGTTT              TTTAATTTCTCAAGGTCAGACGCCAACTCCATCAGTTCA              TCCCTCCCCAGATCTCCACCTTGAAAAGTGTGTTTCGTTG              AACACTCCTCATGGACATGAGTCTGTCAACCTCTTTATT              CAGGTCCCTCAACTTGTTGAGGTCTTCTTCCCCCTTTTAG              TCTTTCTGAGTGCCCGCTGCACCTGTGCCACTTGGTTGA              AGTCGATGCTGTCAGCAATTAGCTTGGCGTCTTCAAAACA              TCTGACTTGACAGTCTGAGTGAATTGGCTCAAACCTCTC              CTTAAGGACTGAGTCCATCTAAAGCTTGGAACTCCTTGGA              GTGTGCCATGCCAGAAGTTCTGGTGATTTTGATCTAGAA              TAGAGTTGCTCAGTGAAAGTGTTAGACACTATGCCTAGGAT              CCACTGTGCG           </p>
21	<p>             secuencia de aminoácidos de la proteína              NP de la cepa Clon 13 de LCMV              (GenBank No. de Acceso ABC96002.1;              GI:86440166)           </p>	<p>             MSLSKEVKSFQWTQALRRELQSFTSDVKA AVIKDATNLLNG              LDFSEVSNVQRIMRKEKRDDKDLQRLRSLNQTVHSLVDLKS              TSKKNVLKVGRLSAEELMSLAADLEKLKAKIMRSERPQASG              VYMGNLTTQQLDQRSQILQIVGMRKPQQGASGVVRVWDVKD              SSLNMQFGTMPSLTMACMAKQSQTPLNDVVQALTDLGLLY              TVKYPNLNDLERLKDHPVLGVITEQQSSINISGYNFSLGA              AVKAGAALLDGGNMLESILIKPSNSEDLLKAVLGAKRKLNM              FVSDQVGDRNPYENILYKVCLSGEGWPYIACRTSIVGRAWE              NTTIDLTSEKPAVNSPRPAPGAAGPPQVGLSYSQTMLLKDL              MGGIDPNAPTWIDIEGRFNDPVEIAIFQPQNGQFIHFYREP              VDQKQFKQDSKYSHGMDLADLFNAQPGLTSSVIGALPQGMV              LSCQGSDDIRKLLDSQNRKDIKLIDVEMTREASREYEDKVV              DKYGWLCKMHTGIVRDKKKKEITPHCALMDCIIFESASKAR           </p>
		<p>LPDLKTVHNILPHDLIFRGPNVVTL</p>

22	secuencia de aminoácidos de la proteína GP de la cepa Clon 13 de LCMV (GenBank No. de Acceso ABC96001.2; GI:116563462)	<p>MGQIVTMFEALPHIIDEVINIVIIVLIVITGIKAVYNFATC  GIFALISFLLLAGRSCGMYGLKGPDIYKGVYQFKSVEFDMS  HLNLTMPNACSANNSHHYISMGTSGLELTFSTNDSIIISHNFC  NLTSAFNKKTFDHTLMSIVSSLHLSIRGNSNYKAVSCDFNN  GITIQYNLTFSDAQSAQSQCRTFRGRVLDMFRTAFGGKYMR  SGWGWGSDGKTTWCSQTSYQYLI IQNRTWENHCTYAGPFG  MSRILLSQEKTKFLTRRLAGTFTTWLSDSSGVENPGGYCLT  KWMILAAELKCFGNTAVAKCNVNHDEEFCMDRLRIDYNKAA  LSKFKEDEVESALHLFKTTVNSLISDQLLMRNHLRDLMGVPY  CNYSKFWYLEHAKTGETSVPKCWLVTNGSYLNETHFSDQIE  QEADNMITEMLRKDYIKRQGSTPLALMDLLMFST SAYLVSI  FLHLVKIPTHRIKGGSCPKPHRLTNKGICSCGAFKVPGVK  TVWKRR</p>
23	secuencia de aminoácidos de la proteína L de la cepa Clon 13 de LCMV (GenBank No. de Acceso ABC96004.1; GI:86440169)	<p>MDEIISELRELCLNYIEQDERLSRQKLNFLGQREPRMVLIE  GLKLLSRCIEIDSADKSGCTHNDKSVETILVESGIVCPG  LPLIIPDGYKLIDNSLILLECFVRSTPASFEKKFIEDTNKL  ACIREDLAVAGVTLVPIVDGRCDYDNSFMPEWANFKFRDLL  FKLLEYSNQNEKVFESEYFRLCESLKTIDKRS GMDSMKI  LKDARSTHNDEIMRMCHEGINPNMSCDDVVFGINSLSRFR  RDLESGKLKRNFQKVNPEGLIKEFSELYENLADSDDILTLS  REAVESCPLMRFITAEETHGHERGSETSTEYERLLSMLNKVK  SLKLLNTRRRQLLNLDVLCCLSLIKQSKFKGLKNDKHWVGC  CYSSVNDRLVSFSTKEEFIRLLNRKKS KSVFRKVSFEELF  RASISEFIAKIQKCLLVVGLSFEHYGLSEHLEQECHIPFTE  FENFMKIGAHPIIMYYTKFEDYNFQPS TEQLKNIQSLRRLSS  VCLALTNSMKTSSVARLRQNQIGSVRYQVVECKEVFCQVIK  LDSEEHLLYQKTGESSRCYSIQGPDGHLISFYADPKRFFL  PIFSDEVLYNMIDIMISWIRSCPDLDCLTDIEVALRTLLL  LMLTNPTKRQKQVQSVRYLVMAIVSDFSSTSLMDKLRDL  ITPAEKVVYKLLRFLIKTIFGTGEKVLLSAKFKMLNVSYL</p>

		<p>             CHLITKETPDRRLTDQIKCFEKFFEPKSQFGFFVNPKEAITP              EEECVFYEQMKRFTSKEIDCQHHTPGVNLEAFSLMVSSFNN              GTLIFKGEKKLNSLDPMTNSGCATALDLASNKSVVVKHLN              GERLLEYDFNKLLVSAVSQITESFVRKQKYKLSHSDYEEKV              SKLVSRLVIGSKGEETGRSEDNLAEICFDGEEETSFFKSLE              EKVNTTIARYRRGRANDKGDGEKLTNTKGLHHLQLILT GK              MAHLRKVILSEISFHLVEDFDPSCLTNDDMKFICEAVEGST              ELSPLYFTSVIKDQCGLDEMAKNLCRKFFSENDWFSCMKMI              LLQMNANAYSGKYRHMQRQGLNFKFDWDKLEEDVRISERES              NSESLSKALSLTQCMSAALKNLCFYSEESPTSYSVGPDSG              RLKFALSYKEQVGGNRELYIGDLRTKMFTRLIEDYFESFSS              FFSGSCLNNDKEFENAILSMTINVREGFLNYSMDHSKWGPM              MCPFLFLMFLQNLKLGDDQYVRSGKDHVSTLLTWHMHKLVE              VPFPPVNAMMKSYVKSCLKLLRGSETTVTERIFRQYFEMGI              VPSHISSLIDMGQGILHNASDFYGLLSERFINYCIGVIFGE              RPEAYTSSDDQITLFDRLSDLVVSDPEEVLVLLEFQSHLS              GLLNKFISPKSVAGRFAAEFKSRFYVWGEEVPLLTKFVSAA              LHNVKCKEPHQLCETIDTIADQAIANGVPVSLVNSIQRRTL              DLLKYANFPLDPFLLNTNTDVKDWLDGSRGYRIQRLIEELC              PNETKVVRKLVKRLHHKLKNGEFNEEFFDLDFNRDKKEAIL              QLGDLLGLEEDLNQLADVNWNLNEMFPLRMVLRQKVYPS              VMTFQEERIPSLIKTLQNKLCSEKFTRGAQKLLSEAINKSAF              QSCISSGFIGLCKTLGSRVNRKNRENLYIKKLEDLTTDD              HVTRVCNRDGITLYICDKQSHPEAHRDHICLLRPLLWDYIC              ISLSNSFELGVWVLAEPKTKGNSENLTCLKHLNPCDYVARK              PESSRLEDKVNLNQVIQSVRRLYPKIFEDQLLPFMSDMSS              KNMRWSPRIKFLDLCVLIDINSESLSLISHVVKWKRDEHYT              VLFSDLANSHQRSDSLDEFVSTRDVCKNFLKQVYFESF              VREFVATRTLGNFSWFPHKEMMPSEDGAEALGPFQSFVSK              VVNKNVERPMFRNDLQFGFGWFSYRMGDVVCNAAMLIRQGL              TNPKAFKSLKDLWDYMLNYTKGVLEFSISVDFTHNQNTDC           </p>
--	--	---

		<p>LRKFSLIFLVRCQLQNPQVAELLSCSHLFKGEIDRRMLDEC</p> <p>LHLLRTDSVFKVNDGVFDIRSEEFEDYMEDPLILGDSLELE</p> <p>LLGSKRILDGIRSIDFERVGPWEFVPLTVKMGALFEGRN</p> <p>VQNIIVKLETKDMKVFLAGLEGYEKISDVLGNLFLHRFRTG</p> <p>EHLGSEISVILQELCIDRSILLIPLSLLPDWFQAFKDCRLC</p> <p>FSKSRSTLMYETVGGFRFLKGRSCDDWLGGSAEDID</p>
24	secuencia de aminoácidos de la proteína Z de la cepa Clon 13 de LCMV (GenBank No. de Acceso ABC96003.1; GI:86440168)	<p>MGQGKSREEKGTNSTNRAEILPDTTYLGPLSCKSCWQKFDS</p> <p>LVRCHDHYLCRHCLNLLLSVSDRCPLCKYPLPTRLKISTAP</p> <p>SSPPPYEE</p>
25	secuencia de aminoácidos de la proteína GP de la cepa WE de LCMV	<p>MGQIVTMFEALPHIIDEVINIVIIIVLIIITSIKAVYNFATC</p> <p>GILALVSFLFLAGRSCGMYGLNGPDIYKGVYQFKSVEFDMS</p> <p>HLNLTMPNACSANNSHHYISMGSGLLELTFTNDSILNHNFC</p> <p>NLTSAFNKKTFDHTLMSIVSSLHLSIRGNSNHKAVSCDFNN</p> <p>GITIQYNLSFSDPQSAISQCRTFRGRVLDMFRTAFGGKYMR</p> <p>SGWGWAGSDGKTTWCSQTSYQYLI IQNRTWENHCRYAGPFG</p> <p>MSRILFAQEKTFLTRRLAGTFTWTLSDSGIVENPGGYCLT</p> <p>KWMI LAAELKCFGNTAVAKCNVNHDEEFCDMLRLIDYNKAA</p> <p>LSKFKQDVESALHVFKTTVNSLISDQLLMRNHLRDLMGVPY</p> <p>CNYSKFWYLEHAKTGETSVPKCWLVTNGSYLNETHFSDQIE</p> <p>QEADNMITEMLRKDYIKRQGSTPLALMDLLMFSTSAYLISI</p> <p>FLHLVKIPTHRIKGGSCPKPHRLTNKGICSCGAFKVPGVK</p> <p>TIWKRR</p>
26	secuencia de nucleótidos del antígeno HBe del HBV (No. de Acceso de GenBank E15688.1; GI: 5710371)	<p>ATGGACATTGACACGTATAAAGAATTTGGAGCTACTGTGGA</p> <p>GTTACTCTCGTTTTTGCCTTCTGACTTCTTTCCTTCCGTCA</p> <p>GAGATCTCCTAGACACCGCCTCAGCTCTGTATCGAGAAGCC</p> <p>TTAGAGTCTCCTGAGCATTGCTCACCTACCATACTGCACT</p>

		CAGGCAAGCCATTCTCTGCTGGGGGGAATTGATGACTCTAG CTACCTGGGTGGGTAATAATTTGGAAGATCCAGCATCCAGG GATCTAGTAGTCAATTATGTTAATACTAACATGGGTTTAA GATCAGGCAACTATTGTGGTTTCATATATCTTGCCTTACTT TTGGAAGAGAGACTGTACTTGAATATTTGGTCTCTTTCGGA GTGTGGATTTCGCACTCCTCCAGCCTATAGACCACCAAATGC CCCTATCTTATCAACACTTCCGGAACTACTGTTGTTTAA
--	--	---

## 7. EJEMPLOS

### 7.1 Diseño del Genoma Vectorial de Arenavirus / Construcción de vectores

- 5 Basado en enfoques establecidos (Publicación de solicitud de patente U.S. No. US 2010/0297172 A1; y Flatz L. et al., Nat Med. 2010 marzo; 16(3): 339-345), se diseñan vectores vacunales basados en LCMV y Virus Junín (JUNV) que expresan los respectivos antígenos HBV o ciertos dominios de los mismos (FIG. 1).

### 7.2 Vacunas contra el virus de la hepatitis B

- 10 Las vacunas candidatas contra el virus de la hepatitis B (HBV) comprenden vectores basados en rLCMV y rJUNV (cepa de vacuna Junín Candid#1) que expresan pre-S2/S (rLCMV/pre-S2/S, rJUNV/Pre-S2/S), HBc (rLCMV/HBc, rJUNV/HBc), una proteína de fusión que consiste en los ORF de HBs y HBc de longitud completa (rLCMV/HBsHBc) y HBe (rLCMV/HBe, rJUNV/HBe). Los vectores serán deficientes en replicación (r2LCMV, también denominado rLCMV, r2JUNV, también denominado rJUNV) y constructos trisegmentados competentes para la replicación (r3LCMV, r3JUNV; véase, p. ej., Emonet et al., 2009, PNAS, 106(9):3473-3478), en donde los transgenes están dispuestos de la forma denominada "artificial" (r3LCMV<sup>art</sup>, r3JUNV<sup>art</sup>). Se inmunizan ratones (p. ej., ratones C57BL/6) con uno de estos constructos, o con combinaciones de los mismos en una vacunación de iniciador-potenciador homólogo o heterólogo. La administración se realiza por vía intraperitoneal, intramuscular o intravenosa. La dosis estará en el rango de 10<sup>4</sup> a 10<sup>7</sup> unidades formadoras de focos (FFU). En puntos de tiempo que oscilan entre 7 a 100 días después de la inmunización, se miden las células T CD8<sup>+</sup> específicas del HBV en la sangre y/o el bazo. Las células T pueden medirse, por ejemplo, utilizando tetrámeros de MHC de clase I en combinación con anticuerpos anti-CD8 para identificar la magnitud de la respuesta de las células T CD8<sup>+</sup> a los epítopos derivados del HBV.

- 25 En un enfoque complementario, se utilizan péptidos sintéticos para estimular selectivamente células T CD8<sup>+</sup> derivadas de sangre y/o bazo directamente ex vivo por medio de ensayos de citoquinas intracelulares. Los ensayos de citoquinas intracelulares miden la frecuencia de interferón (IFN)- $\gamma$ , factor de necrosis tumoral (TNF)- $\alpha$  y/o células T CD8<sup>+</sup> productoras de interleucina (IL)-2. La expresión superficial de CD107a sirve como marcador de desgranulación citolítica en citometría de flujo (FACS). Se analizan las especificidades de los péptidos, que incluyen: epítipo derivado de HBs VWLSVIWM (SEQ ID NO: 8), epítipo derivado de HBs IPQSLDSWWTSL (SEQ ID NO: 9) y epítipo derivado de HBc MGLKFRQL (SEQ ID NO: 10).

### 7.3 Inmunogenicidad de vectores basados en arenavirus deficientes en replicación que expresan antígenos del HBV

- 30 S Se inmunizaron ratones C57BL/6 (5 ratones por grupo) una vez con 10<sup>5</sup> FFU de r3LCMV/HBs-HBc (grupo 1), r3LCMV/HBc (grupo 2), r3LCMV/Pre-S2 (grupo 3), o con 10<sup>5</sup> FFU de rLCMV/HBs-HBc (grupo 4), por vía intravenosa. Los ratones de control se dejaron sin vacunación. 10 días después de la inmunización, se midieron las células T CD8<sup>+</sup> en la sangre usando multímeros MHC de clase I. Se usaron dextrámeros H-2K<sup>b</sup> en complejo con el epítipo VWLSVIWM derivado de HBs y dextrámeros H-2K<sup>b</sup> en complejo con el epítipo MGLKFRQL derivado de HBc en combinación con anticuerpos anti-CD8 $\alpha$  para identificar células T CD8<sup>+</sup> específicas del virus de la hepatitis B. Las células enumeradas se expresaron de dos maneras diferentes, ya sea como un porcentaje del grupo total de células T CD8<sup>+</sup>B220- en sangre periférica (FIG. 4A) o como un porcentaje de linfocitos circulantes en sangre (FIG. 4B).

- 40 Los resultados, como se muestra en la Figura 3, indican que la vacunación con rLCMV/HBs-HBc, rLCMV/HBc y rLCMV/Pre-S2 induce respuestas sustanciales de células T CD8<sup>+</sup> específicas de antígeno contra los antígenos expresados por los respectivos vectores. Las respuestas de células T CD8<sup>+</sup> anti-HBs y anti-HBc inducidas por la vacunación con rLCMV/HBs-HBc mostraron una clara dependencia de la dosis. Las frecuencias superiores de células T CD8<sup>+</sup> anti-HBc tras la inmunización con rLCMV/HBs-HBc en comparación con la inmunización con rLCMV/HBc indican que la fusión con HBs da como resultado una inmunogenicidad aumentada de HBc.

Las frecuencias de células T CD8+ anti-HBs fueron algo superiores después de la inmunización con rLCMV/Pre-S2 que después de la inmunización con rLCMV/HBs-HBc, lo que plantea la posibilidad de que las respuestas de células T CD8+ anti-HBc compitieran con las respuestas anti-HBs por la disponibilidad del antígeno.

#### **7.4 Inmunogenicidad de vectores basados en arenavirus con capacidad de replicación atenuada que expresan antígenos del HBV**

Se inmunizaron ratones C57BL/6 (5 ratones por grupo) una vez con  $10^5$  FFU de r3LCMV/HBs-HBc (grupo 1), r3LCMV/HBc (grupo 2), r3LCMV/Pre-S2 (grupo 3), o con  $10^5$  FFU de rLCMV/HBs-HBc (grupo 4), por vía intravenosa. Los ratones de control se dejaron sin vacunación. 8 días después de la inmunización, se midieron en la sangre células T CD8+ específicas del epítipo HBs y HBc usando multímeros MHC de clase I. Se usaron dextrámeros H-2K<sup>b</sup> en complejo con el epítipo VWLSVIWM derivado de HBs y dextrámeros H-2K<sup>b</sup> en complejo con el epítipo MGLKFRQL derivado de HBc en combinación con anticuerpos anti-CD8 $\alpha$  para identificar células T CD8+ específicas del virus de la hepatitis B. Las células enumeradas se expresaron de dos maneras diferentes, ya sea como un porcentaje del grupo total de células T CD8+B220- en sangre periférica (FIG. 4A) o como un porcentaje de linfocitos circulantes en sangre (FIG. 4B).

Los resultados, como se muestra en la Figura 4, indican que todos los constructos basados en r3LCMV, así como el vector de referencia rLCMV/HBs-HBc deficiente en replicación, fueron inmunogénicos, provocando células T CD8+ específicas de epítipo contra sus antígenos vectorizados, respectivamente. Además, cuando se enumeran las células T CD8+ específicas del epítipo como porcentaje de los linfocitos circulantes, se muestra que el r3LCMV/HBs-HBc replicante es más inmunogénico que su contraparte deficiente en replicación rLCMV/HBs-HBc.

#### **Listado de secuencias**

<110> HOOKIPA BIOTECH AG  
 <120> VACUNAS CONTRA EL VIRUS DE LA HEPATITIS B  
 <130> 104748PC  
 <140> TBA  
 <141> 2016-11-03  
 <150> 62/250,639 <151> 2015-11-04  
 <160> 26  
 <170> PatentIn version 3.5  
 <210> 1  
 <211> 846  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia Artificial  
 <220>  
 <223> ORF de pre-S2/S del HBV  
 <400> 1

	atgcagtgga attccacaac cttccaccaa actctgcaag atcccagagt gagaggcctg	60
	tatttccctg ctggtggctc cagttcagga acagtcaacc ctgttctgac cactgcctct	120
	cccttgatcat caatcttctc caggattggg gaccctgctc tgaacatgga gaacatcaca	180
	tcaggattcc tgggaccctt tcttggttg caggcagggt ttttcttgtt gacaagaatc	240
	ctcacaatcc ctcagagtct ggactcttgg tggacttctc tcaattttct ggggggaacc	300
	acagtgtgtc ttggccaaaa ttctcagtcc ccaacctcca atcactcacc aacctcttgt	360
	cctccaactt gtcctgggta cagatggatg tgtctgagga gattcatcat cttcctcttc	420
	atcctgctgc tgtgcctcat cttcttgttg gttcttctgg actatcaagg aatgttgcca	480
	gtttgtcctc tgattccagg atcctcaaca accagcactg gaccatgcag gacctgcatg	540
	accactgctc aaggaacctc aatgtatccc tcctgttgct gcaccaaacc ttcagatgga	600
	aattgcacct gcattcccat cccatcatcc tgggcttttg gaaaattcct ttgggagtgg	660
	gcctcagcca gattctcctg gctcagtttg ctggtgccat ttgttcagtg gtttgttggg	720
	ctttcccca ctgtttggct ttcagtgatt tggatgatgt ggtattgggg gccaatgtctg	780
	tacagcatct tgagtcctt tttgcctctg ttgccaattt tcttttgtct ttgggtctac	840
	atttaa	846
	<210> 2	
	<211> 552	
5	<212> ADN	
	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
10	<223> ORF de HBc de HBV	
	<400> 2	
	atggacattg acccttaca agaatttgga gcaactgtgg agttgctctc ctttttgctt	60
	tctgacttct ttccttcagt gagagatctt cttgacactg cctcagctct gtacaggga	120
	gccttgaggt ctcctgagca ttgttcacct caccacactg cactcaggca agcaattctt	180
	tgctgggggg aactcatgac tctggcaacc tgggtgggtg tcaatttgga agatccagcc	240
	tcaagagacc ttgtgggtcag ttatgtcaac acaaacatgg gcctgaagtt caggcaactc	300
	ttgtgggttc acatttcttg tctcactttt ggaagagaaa cagtcattga gtatttggtg	360
	tcttttgagag tgtggatcag gactcctcca gcttacagac caccaaatgc cccaatcctg	420
	tcaacacttc cagagaccac tgtgtgcaga agaagaggca ggtccccag aagaagaact	480
	ccctcaccaa gaagaagaag gtctcaatct cccagaagga gaagatctca atcaaggga	540
	tctcaatggt ag	552
	<210> 3	
15	<211> 1719	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
20	<223> ORF de la proteína de fusión HBs-HBc del HBV	
	<400> 3	



# ES 2 934 698 T3

```

atggggcaga atctttccac cagcaatcct ctgggattct ttccagacca ccagttggat      60
ccagccttca gagcaaacac tgcaaatcca gattgggact tcaatcccaa caaggacacc      120
tggccagatg ccaacaaggt gggagctgga gcatttgggc tgggtttcac cccaccccat      180
ggaggccttt tggggtggag cctcaggct cagggcattc tgcaaaacttt gccagcaaat      240
ccacctcctg cctccaccaa caggcagtca ggaaggcagc ccaccctct gtctccacct      300
ttgagaaaca ctcatcctca ggccatgcag tggaattcca caaccttcca ccaaactctg      360
caagatccca gagtgagagg cctgtatttc cctgctggtg gctccagttc aggaacagtc      420
aaccctgttc tgaccactgc ctctcccttg tcatcaatct tctccaggat tggggaccct      480
gctctgaaca tggagaacat cacatcagga ttctctggac cccttcttgt gttgcaggca      540
gggtttttct tgttgacaag aatcctcaca atccctcaga gtctggactc ttggtggact      600
tctctcaatt ttctgggggg aaccacagtg tgtcttggcc aaaattctca gtccccaacc      660
tccaatcact caccaacctc ttgtcctcca acttgtcctg gttacagatg gatgtgtctg      720
aggagattca tcatcttcct ctctcatcctg ctgctgtgcc tcatcttctt gttggttctt      780
ctggactatc aaggaatgtt gccagtttgt cctctgattc caggatcctc aacaaccagc      840
actggaccat gcaggacctg catgaccact gctcaaggaa cctcaatgta tccctcctgt      900
tgctgcacca aaccttcaga tggaaattgc acctgcattc ccatcccatc atcctgggct      960
tttgaaaaat tcctttggga gtgggcctca gccagattct cctggctcag tttgctggtg     1020
ccatttgttc agtggtttgt tgggctttcc cccactgttt ggctttcagt gatttggatg     1080
atgtggtatt gggggccaag tctgtacagc atcttgagtc cctttttgcc tctgttgcca     1140
atcttctttt gtctttgggt ctacattatg gacattgacc cttacaaaga atttgagca      1200
actgtggagt tgctctcctt tttgccttct gacttctttc cttcagttag agatcttctt     1260
gacactgcct cagctctgta cagggaagcc ttggagtctc ctgagcattg ttcacctcac     1320
cacactgcac tcaggcaagc aattctttgc tggggggaac tcatgactct ggcaacctgg     1380
gtgggtgtca atttggaaga tccagcctca agagaccttg tggtcagtta tgtcaacaca     1440
aacatgggcc tgaagttcag gcaactcttg tggtttcaca tttcttgtct cacttttgga     1500
agagaaacag tcattgagta tttggtgtct tttggagtgt ggatcaggac tcctccagct     1560
tacagaccac caaatgcccc aatcctgtca acacttcag agaccactgt tgtcagaaga     1620
agaggcaggt ccccccagaag aagaactccc tcaccaagaa gaagaaggtc tcaatctccc     1680
agaaggagaa gatctcaatc aagggaatct caatgttag                                1719

```

<210> 4

5 <211> 3599

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

10 <223> ADNc del segmento S de LCMV que expresa la proteína de fusión HBs-HBc del HBV

<400> 4

# ES 2 934 698 T3

gcgcaccggg gatcctaggc tttttggatt gcgctttcct ctagatcaac tgggtgtcag	60
gccctatcct acagaaggat ggggcagaat ctttccacca gcaatcctct gggattcttt	120
ccagaccacc agttggatcc agccttcaga gcaaactctg caaatccaga ttgggacttc	180
aatcccaaca aggacacctg gccagatgcc aacaagggtg gagctggagc atttgggctg	240
ggtttcaccc caccctatgg aggccttttg ggggtggagcc ctcaggctca gggcattctg	300
caaactttgc cagcaaatcc acctcctgcc tccaccaaca ggcagtcagg aaggcagccc	360
acctctctgt ctccaccttt gagaaact catcctcagg ccatgcagtg gaattccaca	420
accttcacc aaactctgca agatcccaga gtgagaggcc tgtatttccc tgctgggtggc	480
tccagttcag gaacagtcaa ccctgttctg accactgcct ctcccttgtc atcaatcttc	540
tccaggattg gggaccctgc tctgaacatg gagaacatca catcaggatt cctgggaccc	600
cttcttgtgt tgcaggcagg gtttttcttg ttgacaagaa tcctcacaat ccctcagagt	660
ctggactcct ggtggacttc totcaatfff ctggggggaa ccacagtgtg tcttggccaa	720

# ES 2 934 698 T3

aattctcagt	ccccaacctc	caatcactca	ccaacctctt	gtcctccaac	ttgtcctggt	780
tacagatgga	tgtgtctgag	gagattcatc	atcttctctt	tcatcctgct	gctgtgcctc	840
atcttcttgt	tggttcttct	ggactatcaa	ggaatgttgc	cagtttgtcc	tctgattcca	900
ggatcctcaa	caaccagcac	tggaccatgc	aggacctgca	tgaccactgc	tcaaggaacc	960
tcaatgtatc	cctcctgttg	ctgcacaaa	ccttcagatg	gaaattgcac	ctgcattccc	1020
atcccatcat	cctgggcctt	tggaaaattc	ctttgggagt	gggcctcagc	cagattctcc	1080
tggctcagtt	tgtgtgtgcc	atctgttcag	tggtttgttg	ggctttcccc	cactgtttgg	1140
ctttcagtga	tttgatgat	gtggatttgg	gggccaaagt	tgtacagcat	cttgagtccc	1200
tttttgctc	tgttgccaat	tttcttttgt	ctttgggtct	acattatgga	cattgacctt	1260
tacaaagaat	ttggagcaac	tgtggagtgt	ctctcctttt	tgccttctga	cttctttcct	1320
tcagtgaag	atcttcttga	cactgcctca	gctctgtaca	gggaagcctt	ggagtctcct	1380
gagcattgtt	cacctcacca	cactgcactc	aggcaagcaa	ttctttgctg	gggggaactc	1440
atgactctgg	caacctgggt	gggtgtcaat	ttggaagatc	cagcctcaag	agaccttgtg	1500
gtcagttatg	tcaacacaaa	catgggcctg	aagttcaggc	aactcttgtg	gtttcacatt	1560
tcttgtctca	cttttgaag	agaaacagtc	attgagtatt	tgggtgtctt	tggagtgtgg	1620
atcaggactc	ctccagctta	cagaccacca	aatgccccaa	tcctgtcaac	acttccagag	1680
accactgttg	tcagaagaag	aggcaggctc	cccagaagaa	gaactccctc	accaagaaga	1740
agaaggtctc	aatctcccag	aaggagaaga	tctcaatcaa	gggaatctca	atgttagaga	1800
acagcgcctc	cctgactctc	cacctcgaaa	gaggtggaga	gtcagggagg	cccagagggt	1860
cttagagtgt	cacaacattt	gggcctctaa	aaattaggtc	atgtggcaga	atgttgtgaa	1920
cagttttcag	atctgggagc	cttgcttttg	aggcgctttc	aaaaatgatg	cagtccatga	1980
gtgcacagtg	cggggtgatc	tctttcttct	ttttgtccct	tactattcca	gtatgcatct	2040
tacacaacca	gccatatttg	tcccacactt	tatcttcata	ctccctcgaa	gcttccctgg	2100
tcatttcaac	atcgataagc	ttaatgtcct	tcctattttg	tgagtccaga	agctttctga	2160
tgtcatcgga	gccttgacag	cttagaacca	tcccctgcgg	aagagcacct	ataactgacg	2220
aggccaaccc	gggttgcgca	ttgaagaggt	cggcaagatc	catgccgtgt	gagtacttgg	2280
aatcttgctt	gaattgtttt	tgatcaacgg	gttccctgta	aaagtgtatg	aactgcccg	2340
tctgtggttg	gaaaattgct	atttccactg	gatcattaaa	tctaccctca	atgtcaatcc	2400
atgtaggagc	gttgggttca	attcctccca	tgaggctctt	taaaagcatt	gtctggctgt	2460
agcttaagcc	cacctgaggt	ggacctgctg	ctccaggcgc	tggcctgggt	gagttgactg	2520
caggtttctc	gcttgtgaga	tcaattgttg	tgttttccca	tgtctcccc	acaatcgatg	2580
ttctacaagc	tatgtatggc	catccttcac	ctgaaaggca	aactttatag	aggatgtttt	2640

cataagggtt	cctgtcccca	acttggctctg	aaacaaacat	gttgagtttt	ctcttgccc	2700
cgagaactgc	cttcaagaga	tcctcgctgt	tgcttggtt	gatcaaaatt	gactctaaca	2760
tgttaccccc	atccaacagg	gctgcccctg	ccttcacggc	agcaccaaga	ctaaagttaa	2820
agccagaaat	gttgatgctg	gactgctgtt	cagtgatgac	ccccagaact	gggtgcttgt	2880
ctttcagcct	ttcaagatca	ttaagatttg	gatacttgac	tgtgtaaagc	aagccaaggt	2940
ctgtgagcgc	ttgtacaacg	tcattgagcg	gagtctgtga	ctgtttggcc	atacaagcca	3000
tagttagact	tggcattgtg	ccaaattgat	tggtcaaaag	tgatgagtct	ttcacatccc	3060
aaactcttac	cacaccactt	gcaccctgct	gaggctttct	catcccaact	atctgtagga	3120
tctgagatct	ttggtctagt	tgctgtgttg	ttaagttccc	catatatacc	cctgaagcct	3180
ggggcctttc	agacctcatg	atcttggcct	tcagcttctc	aaggtcagcc	gcaagagaca	3240
tcagttcttc	tgcaactgagc	ctccccactt	tcaaaacatt	cttctttgat	gttgacttta	3300
aatccacaag	agaatgtaca	gtctggttga	gacttctgag	tctctgtagg	tctttgtcat	3360
ctctcttttc	cttcctcatg	atcctctgaa	cattgctgac	ctcagagaag	tccaacccat	3420
tcagaagggt	ggttgcatcc	ttaatgacag	cagccttcac	atctgatgtg	aagctctgca	3480
attctcttct	caatgcttgc	gtccattgga	agctcttaac	ttccttagac	aaggacatct	3540
tggtgctcaa	tggtttctca	agacaaatgc	gcaatcaa	gcctaggatc	cactgtgcg	3599

&lt;210&gt; 5

&lt;211&gt; 2432

5 &lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Secuencia Artificial

&lt;220&gt;

10 &lt;223&gt; ADNc del segmento S de LCMV que expresa el ORF de HBc

&lt;400&gt; 5

gcgcaccggg	gatcctaggc	tttttggtt	gcgctttcct	ctagatcaac	tgggtgtcag	60
gccctatcct	acagaaggat	ggacattgac	ccttacaaag	aatttgagc	aactgtggag	120
ttgctctcct	ttttgccttc	tgacttcttt	ccttcagtga	gagatcttct	tgacactgcc	180
tcagctctgt	acagggaagc	cttggtgtct	cctgagcatt	gttcacctca	ccacactgca	240
ctcaggcaag	caattctttg	ctggggggaa	ctcatgactc	tggcaacctg	ggtgggtgtc	300
aatttggaag	atccagcctc	aagagacctt	gtggtcagtt	atgtcaacac	aaacatgggc	360
ctgaagtcca	ggcaactctt	gtgggtttcac	atttcttgtc	tcacttttgg	aagagaaaca	420
gtcattgagt	atttgggtgtc	ttttggagtg	tggatcagga	ctcctccagc	ttacagacca	480
ccaaatgcc	caatcctgtc	aacacttcca	gagaccactg	ttgtcagaag	aagaggcagg	540
tccccagaa	gaagaactcc	ctcaccaaga	agaagaaggt	ctcaatctcc	cagaaggaga	600

# ES 2 934 698 T3

```

agatctcaat caaggggaatc tcaatgttag agaacagcgc ctccctgact ctccacctcg      660
aaagaggtgg agagtcaggg aggccagag ggtcttagag tgtcacaaca tttgggcctc      720
taaaaattag gtcattgtgc agaattgtgt gaacagtttt cagatctggg agccttgctt      780
tggagggcgt ttcaaaaatg atgcagtcca tgagtgcaca gtgcgggggtg atctctttct      840
tctttttgtc ccttactatt ccagtatgca tcttacacaa ccagccatat ttgtcccaca      900
ctttatcttc atactccctc gaagcttccc tggctatctc aacatcgata agcttaatgt      960
ccttcctatt ttgtgagtcc agaagcttcc tgatgtcatc ggagccttga cagcttagaa     1020
ccatccctcg cggaagagca cctataactg acgaggtcaa cccggggtgc gcattgaaga     1080
ggtcggcaag atccatgccg tgtgagtact tggaatcttg cttgaattgt ttttgatcaa     1140
cgggttccct gtaaaagtgt atgaactgcc cgttctgtgg ttggaaaatt gctatttcca     1200
ctggatcatt aaatctaccc tcaatgtcaa tccatgtagg agcgttgggg tcaattcctc     1260
ccatgaggtc ttttaaaagc attgtctggc tgtagcttaa gccacactga ggtggacctg     1320
ctgctccagg cgctggcctg ggtgagttga ctgcaggttt ctgcttgtg agatcaattg     1380
ttgtgttttc ccatgctctc cccacaatcg atgttctaca agctatgtat ggccatcctt     1440
cacctgaaag gcaaacttta tagaggatgt tttcataagg gttcctgtcc ccaacttggg     1500
ctgaaacaaa catgttgagt tttctcttgg ccccgagaac tgccttcaag agatcctcgc     1560
tggtgcttgg cttgatcaaa attgactcta acatgttacc cccatccaac agggctgccc     1620
ctgccttcac ggcagcacca agactaaagt tatagccaga aatgttgatg ctggactgct     1680
gttcagtgat gacccccaga actgggtgct tgtctttcag cctttcaaga tcattaagat     1740
ttggatactt gactgtgtaa agcaagccaa ggtctgtgag cgcttgtaca acgtcattga     1800
gcgaggtctg tgactgtttg gccatacaag ccatagttag acttggcatt gtgccaaatt     1860
gattgttcaa aagtgatgag tctttcacat cccaaactct taccacacca cttgcaccct     1920
gctgaggctt tctcatccca actatctgta ggatctgaga tctttgggtc agttgctgtg     1980
ttgttaagtt ccccatatat acccctgaag cctggggcct ttcagacctc atgatcttgg     2040
ccttcagctt ctcaagggtc gccgcaagag acatcagttc ttctgcaactg agcctcccca     2100
ctttcaaaac attcttcttt gatgttgact ttaaattccac aagagaatgt acagtctggg     2160
tgagacttct gactctctgt aggtctttgt catctctctt ttccttcctc atgatcctct     2220
gaacattgct gacctcagag aagtccaacc cattcagaag gttggttgca tccttaatga     2280
cagcagcctt cacatctgat gtgaagctct gcaattctct tctcaatgct tgcgtccatt     2340
ggaagctctt aacttcctta gacaaggaca tcttgttgct caatggtttc tcaagacaaa     2400
tgcgcaatca aatgcctagg atccactgtg cg                                     2432

```

<210> 6

<211> 2726

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> ADNc del segmento S de LCMV que expresa el ORF pre-S2/S

<400> 6

# ES 2 934 698 T3

gcgcaccggg gatcctaggc tttttggatt gcgctttcct ctagatcaac tgggtgtcag	60
gccctatcct acagaaggat gcagtggaat tccacaacct tccaccaaac tctgcaagat	120
cccagagtga gaggcctgta tttccctgct ggtggctcca gttcaggaac agtcaaccct	180
gttctgacca ctgcctctcc cttgtcatca atcttctcca ggattgggga ccctgctctg	240
aacatggaga acatcacatc aggattcctg ggaccacctc ttgtgttgca ggcagggttt	300
ttcttgttga caagaatcct cacaatccct cagagtctgg actcttgggtg gacttctctc	360
aattttctgg ggggaaccac agtgtgtctt ggccaaaatt ctcagtcccc aacctccaat	420
cactcaccaa cctcttgtcc tccaacttgt cctggttaca gatggatgtg tctgaggaga	480
ttcatcatct tcctcttcat cctgctgctg tgcctcatct tcttgttgggt tcttctggac	540
tatcaaggaa tgttgccagt ttgtcctctg attccaggat cctcaacaac cagcactgga	600
ccatgcagga cctgcatgac cactgctcaa ggaacctcaa tgtatccctc ctgttgctgc	660
accaaaccct cagatggaaa ttgcacctgc attcccatcc catcatcctg ggcttttggg	720
aaattccttt gggagtgggc ctcagccaga ttctcctggc tcagtttgct ggtgccattt	780
gttcagtgggt ttgttgggct tcccccaact gtttggcttt cagtgatttg gatgatgtgg	840
tatttggggc caagtctgta cagcatcttg agtccctttt tgcctctgtt gccaattttc	900
ttttgtcttt gggctctacat ttaaagaaca gcgcctocct gactctccac ctcgaaagag	960
gtggagagtc agggaggccc agagggtctt agagtgtcac aacatttggg cctctaaaaa	1020
ttaggtcatg tggcagaatg ttgtgaacag ttttcagatc tgggagcctt gctttggagg	1080
cgctttcaaa aatgatgcag tccatgagtg cacagtgcgg ggtgatctct ttcttctttt	1140
tgtcccttac tattccagta tgcattctac acaaccagcc atatttgtcc cacactttat	1200
cttcatactc cctcgaagct tccttggtca tttcaacatc gataagctta atgtccttcc	1260
tattttgtga gtccagaagc tttctgatgt catcggagcc ttgacagctt agaaccatcc	1320
cctgcggaag agcacctata actgacgagg tcaaccgggg ttgcgcattg aagaggtcgg	1380
caagatccat gccgtgtgag tacttggaat cttgcttgaa ttgtttttga tcaacggggt	1440
ccctgtaaaa gtgtatgaac tgcccgttct gtggttgga aattgctatt tccactggat	1500
cattaaatct accctcaatg tcaatccatg taggagcgtt ggggtcaatt cctcccatga	1560
ggtcttttaa aagcattgtc tggctgtagc ttaagccac ctgagggtgga cctgctgctc	1620

# ES 2 934 698 T3

```

caggcgctgg cctgggtgag ttgactgcag gtttctcgct tgtgagatca attgttgtgt 1680
tttcccatgc tctccccaca atcgatgttc tacaagctat gtatggccat ccttcacctg 1740
aaaggcaaac tttatagagg atgttttcat aagggttcct gtccccaact tggctgaaa 1800
caaacatgtt gagttttctc ttggccccga gaactgcctt caagagatcc tcgctgttgc 1860
ttggcttgat caaaattgac tctaacatgt taccctcatc caacagggct gccctgcct 1920
tcacggcagc accaagacta aagttatagc cagaaatgtt gatgctggac tgctgttcag 1980
tgatgacccc cagaactggg tgcttgtctt tcagcctttc aagatcatta agatttggat 2040
acttgactgt gtaaagcaag ccaaggtctg tgagcgcttg tacaacgtca ttgagcggag 2100
tctgtgactg tttggccata caagccatag ttagacttgg cattgtgcca aattgattgt 2160
tcaaaagtga tgagtctttc acatcccaa ctcttaccac accacttgca ccctgctgag 2220
gctttctcat cccaactatc tgtaggatct gagatctttg gtctagttgc tgtgtgttta 2280
agttcccat atataccct gaagcctggg gcctttcaga cctcatgatc ttggccttca 2340
gcttctcaag gtcagccgca agagacatca gttctctgc actgagcctc cccactttca 2400
aaacattctt ctttgatgtt gactttaaat ccacaagaga atgtacagtc tggttgagac 2460
ttctgagtct ctgtaggtct ttgtcatctc tcttttctt cctcatgatc ctctgaacat 2520
tgctgacctc agagaagtcc aaccattca gaaggttggg tgcacctta atgacagcag 2580
ccttcacatc tgatgtgaag ctctgcaatt ctcttctca tgcttgcgtc cattggaagc 2640
tcttaacttc cttagacaag gacatcttgt tgctcaatgg tttctcaaga caaatgcgca 2700
atcaaatgcc taggatccac tgtgcg 2726

```

<210> 7

<211> 7229

5 <212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

10 <223> virus de la coriomeningitis linfocítica clon 13 segmento L  
(GenBank: DQ361066.1)

<400> 7

```

gcgcaccggg gatcctaggc gtttagttgc gctgtttggg tgcacaactt tcttcgtgag 60
gctgtcagaa gtggacctgg ctgatagcga tgggtcaagg caagtccaga gaggagaaa 120
gcaccaatag tacaacagg gccgaaatcc taccagatac cacctatctt ggccctttaa 180
gctgcaaata ttgctggcag aaatttgaca gcttggttaag atgccatgac cactaccttt 240
gcaggcactg tttaaacctt ctgctgtcag tatccgacag gtgtcctctt tgtaaataac 300
cattaccaac cagattgaag atatcaacag cccaagctc tccacctccc tacgaagagt 360
aacaccgtcc ggccccggcc ccgacaaaca gcccagcaca agggaaccgc acgtcaccca 420

```

acgcacacag acacagcacc caacacagaa cacgcacaca cacacacaca cacacccaca	480
cgcacgcgcc cccaccaccg gggggcgccc ccccccgggg ggcggccccc cgaggagccc	540
ggcgagagccc caggagatg cccatcagtc gatgtcctcg gccaccgacc cgcccagcca	600
atcgtcgcag gacctccctc tgagtctaaa cctgcccccc actgtttcat acatcaaagt	660
gctcctagat ttgctaaaac aaagtctgca atccttaaaag gcgaaccagt ctggcaaaag	720
cgacagtggg atcagcagaa tagatctgtc tatacatagt tcctggagga ttacacttat	780
ctctgaaccc aacaaatgtt caccagtctc gaatcgatgc aggaagaggt tcccaaggac	840
atcactaatc ttttcatagc cctcaagtcc tgctagaaag actttcatgt ccttgggtctc	900
cagcttcaca atgatatttt ggacaagggt tcttccttca aaaagggcac ccatctttac	960
agtcagtggc acaggctccc actcaggtcc aactctctca aagtcaatag atctaataccc	1020
atccagtatt cttttggagc ccaacaactc aagctcaaga gaatcaccaa gtatcaaggg	1080
atcttccatg taatcctcaa actcttcaga tctgatatac aagacaccat cgttcacctt	1140
gaagacagag tctgtcctca gtaagtggag gcattcatcc aacattcttc tatctatctc	1200
acccttaaag aggtgagagc atgataaaaag ttcagccaca cctggattct gtaattggca	1260
cctaaccaag aatatcaatg aaaatttctc taaacagtca gtattattct gattgtgcgt	1320
aaagtccact gaaattgaaa actccaatac cccttttgtg tagttgagca tgtagtccca	1380
cagatccctt aaggatttaa atgcctttgg gtttgtcagg ccctgcctaa tcaacatggc	1440
agcattacac acaacatctc ccattcggta agagaaccac ccaaaaccaa actgcaaatac	1500
attcctaaac ataggcctct ccacattttt gttcaccacc tttgagacaa atgattgaaa	1560
ggggcccagc gcctcagcac catcttcaga tggcatcatt tctttatgag ggaaccatga	1620
aaaattgcct aatgtcctgg ttgttgcaac aaattctcga acaaagtatt caaaatacac	1680
ctgttttaag aagttcttgc agacatccct cgtgctaaca acaaattcat caaccagact	1740
ggagtcagat cgctgatgag aattggcaag gtcagaaaac agaacagtgt aatgttcatac	1800
ccttttccac ttaacaacat gagaaatgag tgacaaggat tctgagttaa tatcaattaa	1860
aacacagagg tcaaggaatt taattctggg actccacctc atgttttttg agctcatgtc	1920
agacataaat ggaagaagct gatcctcaaa gatccttgga tatagccgcc tcacagattg	1980
aatcacttgg ttcaaattca ctttgtcctc cagtagcctt gagctctcag gctttcttgc	2040
tacataatca catgggttta agtgcttaag agttaggttc tcaactgttat tcttcccttt	2100
ggtcggttct gctaggaccc aaacacccaa ctcaaaagag ttgctcaatg aaatacaaat	2160
gtagtcccaa agaagaggcc ttaaaaggca tatatgatca cggtgggctt ctggatgaga	2220
ctgtttgtca caaatgtaca gcgttatacc atcccagttg caaactcttg tcacatgatc	2280
atctgtgggt agatcctcaa gcagcttttt gatatacaga ttttccctat ttttgtttct	2340



# ES 2 934 698 T3

cacacacctg cttcctagag ttttgcaaag gcctataaag ccagatgaga tacaactctg	2400
gaaagctgac ttgttgattg cttctgacag cagcttctgt gcaccccttg tgaatttact	2460
acaaagtttg ttctggagtg tcttgatcaa tgatgggatt ctttcctcct ggaaagtcac	2520
cactgatgga taaaccacct tttgtcttaa aaccatcctt aatgggaaca tttcattcaa	2580
attcaaccag ttaacatctg ctaactgatt cagatcttct tcaagaccga ggaggtctcc	2640
caattgaaga atggcctcct ttttatctct gttaaataagg tctaagaaaa attcttcatt	2700
aaattcacca tttttgagct tatgatgcag tttccttaca agctttctta caacctttgt	2760
ttcattagga cacagttcct caatgagtct ttgtattctg taacctctag aaccatccag	2820
ccaatctttc acatcagtgt tggatattcag tagaaatgga tccaaaggga aattggcata	2880
ctttagaggg tccagtgttc tcctttggat actattaact agggagactg ggacgccatt	2940
tgcgatggct tgatctgcaa ttgtatctat tgtttcacia agttgatgtg gctctttaca	3000
cttgacattg tgtagcgtg cagatacaaa ctttgtgaga agagggactt cctccccca	3060
tacatagaat ctagatttaa attctgcagc gaacctccca gccacacttt ttgggtgat	3120
aaatttgttt aacaagccgc tcagatgaga ttggaattcc aacaggacaa ggacttcctc	3180
cggatcactt acaaccaggt cactcagcct cctatcaaat aaagtgatct gatcatcact	3240
tgatgtgtaa gcctctggtc tttcgccaaa gataacacca atgcagtagt tgatgaacct	3300
ctcgctaagc aaaccataga agtcagaagc attatgcaag attccctgcc ccatatcaat	3360
aaggctggat atatgggatg gcactatccc catttcaaaa tattgtctga aaattctctc	3420
agtaacagtt gtttctgaac ccctgagaag ttttagcttc gacttgacat atgatttcat	3480
cattgcattc acaacaggaa aggggacctc gacaagctta tgcatgtgcc aagttaacaa	3540
agtgtcaaca tgatctttcc cggaacgcac atactggtca tcacctagtt tgagattttg	3600
tagaaacatt aagaacaaaa atgggcacat cattggtccc catttgctgt gatccatact	3660
atagttaaag aaccttccc gcacattgat agtcattgac aagattgcat tttcaaattc	3720
cttatcattg tttaaacagg agcctgaaaa gaaacttgaa aaagactcaa aataatcttc	3780
tattaacctt gtgaacattt ttgtcctcaa atctccaata tagagttctc tatttcccc	3840
aacctgctct ttataagata gtgcaaattt cagccttcca gagtcaggac ctactgaggt	3900
gtatgatgtt ggtgattctt ctgagtagaa gcacagattt ttcaaagcag cactcataca	3960
ttgtgtcaac gacagagctt tactaaggga ctcagaatta ctttcctct cactgattct	4020
cacgtcttct tccagtttgt ccagtcaaa tttgaaattc aagccttgcc tttgcatatg	4080
cctgtatttc cctgagtacg catttgcatc catttgcaac agaatactct tcatgcaaga	4140
aaaccaatca ttctcagaaa agaactttct acaaaggttt tttgccatct catcgaggcc	4200

# ES 2 934 698 T3

acactgatct ttaatgactg aggtgaaata caaaggtgac agctctgtgg aacctcaac	4260
agcctcacag ataaatttca tgtcatcatt ggtagacat gatgggtcaa agtcttctac	4320
taaatggaaa gatatttctg acaagataac ttttcttaag tgagccatct tccctgtag	4380
aataagctgt aaatgatgta gtccttttgt atttgtaagt ttttctccat ctctttgtc	4440
attggccctc ctacctcttc tgtaccgtgc tattgtggtg ttgacctttt ctctgagact	4500
tttgaagaag cttgtctctt ctctccatc aaaacatatt tctgccaggt tgtcttccga	4560
tctccctgtc tcttctccct tgggaaccgat gaccaatcta gagactaaat tggaaacttt	4620
atattcatag tctgagtggc tcaacttata cttttgtttt cttacgaaac tctccgtaat	4680
ttgactcaca gcactaaca gcaatttgtt aaagtcatat tccagaagtc gttctccatt	4740
tagatgctta ttaaccacca cacttttgtt actagcaaga tctaagtctg tcgcacatcc	4800
agagttagtc atgggatcta ggctgttag cttcttctct cctttgaaa ttaaagtgcc	4860
gttgttaaat gaagacacca ttaggctaaa ggcttccaga ttaacacctg gagttgtatg	4920
ctgacagtca atttctttac tagtgaatct cttcatttgc tcatagaaca cacattcttc	4980
ctcaggagtg attgcttctt tggggttgac aaaaaacca aattgacttt tgggctcaaa	5040
gaacttttca aaacatttta tctgatctgt tagcctgtca ggggtctcct ttgtgatcaa	5100
atgacacagg tatgacacat tcaacataaa tttaaatttt gcaactcaaca acaccttctc	5160
accagtacca aaaatagttt ttattaggaa tctaagcagc ttatacacca ccttctcagc	5220
aggtgtgatc agatcctccc tcaacttctc cattaatgat gtagatgaaa aatctgacac	5280
tattgccatc accaaatctc tgacactctg tacctgcttt tgatttctct ttgttgggtt	5340
ggtgagcatt agcaacaata gggctcctcag tgcaacctca atgtcgggtg gacagtcttt	5400
caaatcagga catgatctaa tccatgaaat catgatgtct atcatattgt ataagacctc	5460
atctgaaaaa attggtaaaa agaacctttt aggatctgca tagaaggaaa ttaaataacc	5520
atccgggctt tgtatggagt agcaccttga agattctcca gtcttctggt ataataagggtg	5580
gtattcttca gagtccagtt ttattacttg gcaaaacact tctttgcatt ctaccacttg	5640
atatctcaca gacctatctt gattttgcct tagtctagca actgagctag ttttcatact	5700
gtttgttaag gccagacaaa cagatgataa tcttctcagg ctctgtatgt tcttcagctg	5760
ctctgtgctg ggttggaat tgtaatcttc aaacttcgta taatacatca tcgggtgagc	5820
tccaattttc ataaagtctt caaatcaggt gaatggtagt tggcattctt gctcaagggtg	5880
ttcagacagt ccgtaatgct cgaaactcag tcccaccact aacaggcatt tttgaatttt	5940
tgcaatgaac tactaatag atgccctaaa caattcttca aaagacacct ttctaaacac	6000
ctttgacttt tttctattcc tcaaaagtct aatgaactcc tctttagtgc tgtgaaagct	6060
taccagccta tcattcacac tactatagca acaaccacc cagtgtttat catTTTTTaa	6120

```

ccctttgaat ttcgactggt ttatcaatga ggaaagacac aaaacatcca gatttaacaa 6180
ctgtctcctt ctagtattca acagtttcaa actcttgact ttgtttaaca tagagaggag 6240
cctctcatat tcagtgc tagtcttcc cctttcgtgc ccatgggtct ctgcagttat 6300
gaatctcatc aaaggacagg attcgactgc ctccctgctt aatgttaaga tatcatcact 6360
atcagcaagg ttttcataga gctcagagaa ttccttgatc aagccttcag ggtttacttt 6420
ctgaaagtgt ctctttaatt tccactttc taaatctctt ctaaacctgc tgaaaagaga 6480
gtttattcca aaaaccacat catcacagct catgttggg ttgatgcctt cgtggcacat 6540
cctcataatt tcatcattgt gagttgacct cgcactttc agaattttca tagagtccat 6600
accggagcgc ttgtgatag tagtcttcag ggactcacag agtctaaaat attcagactc 6660
ttcaaagact ttctcatttt ggtagaata ctccaaaagt ttgaataaaa ggtctctaaa 6720
tttgaagtgt gccactctg gcataaaaact attatcataa tcacaacgac catctactat 6780
tggaactaat gtgacacccg caacagcaag gtcttccctg atgcatgcc aattgttagt 6840
gtcctctata aatttcttct caaaactggc tggagtgtc ctaacaaaac actcaagaag 6900
aatgagagaa ttgtctatca gcttgtaacc atcaggaatg ataagtggta gtcctgggca 6960
tacaattcca gactccacca aaattgttcc cacagactta tcgtcgtggt tgtgtgtgca 7020
gccactcttg tctgcactgt ctatttcaat gcagcgtgac agcaacttga gtccctcaat 7080
cagaaccatt ctgggttccc tttgtcccag aaagttgagt ttctgccttg acaacctctc 7140
atcctgttct atatagttta aacataactc tctcaattct gagatgattt catccattgc 7200
gcatcaaaaa gcctaggatc ctcggtgcg 7229

```

<210> 8

<211> 8

5 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

10 <223> Epítipo derivado de la proteína HBs del HBV

<400> 8

Val Trp Leu Ser Val Ile Trp Met

1

5

<210> 9

15 <211> 12

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

20 <223> Epítipo derivado de la proteína HBs del HBV

<400> 9

Ile Pro Gln Ser Leu Asp Ser Trp Trp Thr Ser Leu

1

5

10

25 <210> 10

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

30 <220>

<223> Epítipo derivado de la proteína HBc del HBV

<400> 10  
Met Gly Leu Lys Phe Arg Gln Leu  
1 5

5 <210> 11  
<211> 3376  
<212> ADN  
<213> Secuencia Artificial

10 <220>  
<223> segmento S del virus de la coriomeningitis linfocítica, secuencia completa de ADNc

<400> 11  
cgccaccgggg atcctaggct ttttgattg cgctttctc tagatcaact ggggtgcagg 60  
ccctatccta cagaaggatg ggtcagattg tgacaatgtt tgaggctctg cctcacatca 120  
tcgatgaggt gatcaacatt gtcattattg tgcttatcgt gatcacgggt atcaaggctg 180  
tctacaattt tgccacctgt gggatattcg cattgatcag tttcctactt ctggctggca 240  
ggtcctgtgg catgtacggt cttaaggagc ccgacattta caaaggagtt taccaattta 300  
agtcagtgga gtttgatatg tcacatctga acctgacct gcccaacgca tgttcagcca 360  
acaactccca ccattacatc agtatgggga cttctggact agaattgacc ttcaccaatg 420  
attccatcat cagtcacaac ttttgcaatc tgacctctgc cttcaacaaa aagacctttg 480  
accacacact catgagtata gtttcgagcc tacacctcag tatcagaggg aactccaact 540  
ataaggcagt atcctgcgac ttcaacaatg gcataacccat ccaatacaac ttgacattct 600  
cagatcgaca aagtgcctcag agccagtgt gaaccttcag aggtagagtc ctagatatgt 660  
ttagaactgc cttcgggggg aaatacatga ggagtggctg gggctggaca ggctcagatg 720  
gcaagaccac ctggtgtagc cagacgagtt accaatacct gattatacaa aatagaacct 780  
gggaaaacca ctgcacatat gcaggtcctt ttgggatgtc caggattctc ctttcccaag 840  
agaagactaa gttcttcact aggagactag cgggcacatt cacctggact ttgtcagact 900  
cttcaggggt ggagaatcca ggtggttatt gcctgaccaa atggatgatt cttgctgcag 960  
15 agcttaagtg tttcgggaac acagcagttg cgaaatgcaa tgtaaatcat gatgccgaat 1020

# ES 2 934 698 T3

tctgtgacat	gctgcgacta	attgactaca	acaaggctgc	tttgagtaag	ttcaaagagg	1080
acgtagaatc	tgcccttgac	ttattcaaaa	caacagtga	ttctttgatt	tcagatcaac	1140
tactgatgag	gaaccacttg	agagatctga	tgggggtgcc	atattgcaat	tactcaaagt	1200
tttggtacct	agaacatgca	aagaccggcg	aaactagtgt	ccccaaagtgc	tggcttgtca	1260
ccaatggttc	ttacttaaat	gagaccctact	tcagtgatca	aatcgaacag	gaagccgata	1320
acatgattac	agagatggtg	aggaaggatt	acataaagag	gcaggggagt	acccccctag	1380
cattgatgga	ccttctgatg	ttttccacat	ctgcatactc	agtcagcatc	ttcctgcacc	1440
ttgtcaaaat	accaacacac	aggcacataa	aagggtggctc	atgtccaaag	ccacaccgat	1500
taaccaacaa	aggaatgtgt	agttgtggtg	catttaaggt	gcctgggtga	aaaaccgtct	1560
ggaaaagacg	ctgaagaaca	gcgcctccct	gactctccac	ctcgaaagag	gtggagagtc	1620
agggaggccc	agagggctct	agagtgtcac	aacatttggg	cctctaaaaa	ttaggtcatg	1680
tggcagaatg	ttgtgaacag	ttttcagatc	tgggagcctt	gctttggagg	cgctttcaaa	1740
aatgatgcag	tccatgagtg	cacagtgcgg	ggtgatctct	ttcttctttt	tgtcccttac	1800
tattccagta	tgcatcttac	acaaccagcc	atatttgtcc	cacactttgt	cttcatactc	1860
cctcgaagct	tccctggtca	tttcaacatc	gataagctta	atgtccttcc	tattctgtga	1920
gtccagaagc	tttctgatgt	catcggagcc	ttgacagctt	agaaccatcc	cctgcggaag	1980
agcacctata	actgacgagg	tcaacccggg	ttgcgcattg	aagaggctcg	caagatccat	2040
gccgtgtgag	tacttggaat	cttgcttgaa	ttgtttttga	tcaacgggtt	ccctgtaaaa	2100
gtgtatgaac	tgcccgttct	gtggttgaa	aattgctatt	tccactggat	cattaaatct	2160
accctcaatg	tcaatccatg	taggagcggt	gggggtcaatt	cctcccatga	ggtcttttaa	2220
aagcattgtc	tggctgtagc	ttaagccac	ctgagggtga	cctgctgctc	caggcgctgg	2280
cctgggtgaa	ttgactgcag	gtttctcgct	tgtgagatca	attgttgtgt	tttcccatgc	2340
tctccccaca	atcgatgttc	tacaagctat	gtatggccat	ccttcacctg	aaaggcaaac	2400
tttatagagg	atgttttcat	aagggttcc	gtccccaact	tggctctgaa	caaacatgtt	2460
gagttttctc	ttggccccga	gaactgcctt	caagaggtcc	tcgctgttgc	ttggcttgat	2520
caaaattgac	tctaacatgt	tacccccatc	caacagggtc	gcccctgcct	tcacggcagc	2580
accaagacta	aagttatagc	cagaaatgtt	gatgctggac	tgtgtttcag	tgatgacccc	2640
cagaactggg	tgcttgtctt	tcagcctttc	aagatcatta	agatttggat	acttgactgt	2700
gtaaagcaag	ccaaggtctg	tgagcgcttg	tacaacgtca	ttgagcgag	tctgtgactg	2760
tttggccata	caagccatag	ttagacttgg	cattgtgcc	aattgattgt	tcaaaagtga	2820
tgagtctttc	acatcccaaa	ctcttaccac	accacttgca	ccctgctgag	gctttctcat	2880
cccaactatc	tgtaggatct	gagatctttg	gtctagttgc	tgtgttgtta	agttcccat	2940

# ES 2 934 698 T3

atatacccoct	gaagcctggg	gcctttcaga	cctcatgac	ttggccttca	gcttctcaag	3000
gtcagccgca	agagacatca	gttcttctgc	actgagcctc	cccactttca	aaacattctt	3060
ctttgatgtt	gacttttaaat	ccacaagaga	atgtacagtc	tggttgagac	ttctgagtct	3120
ctgtaggctt	ttgtcatctc	tcttttcctt	cctcatgac	ctctgaacat	tgctgacctc	3180
agagaagtcc	aaccattca	gaaggttggt	tgcacctta	atgacagcag	ccttcacatc	3240
tgatgtgaag	ctctgcaatt	ctcttctcaa	tgcttgctgc	cattggaagc	tcttaacttc	3300
cttagacaag	gacatcttgt	tgctcaatgg	tttctcaaga	caaatgcgca	atcaaagcc	3360
taggatccac	tgtgcg					3376

<210> 12

<211> 3377

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> virus de la coriomeningitis linfocítica clon 13 segmento S secuencia

Completa de ADNc (GenBank: DQ361065.2)

<400> 12

gcgccaccggg	gatccctaggc	tttttggtatt	gcgctttcct	ctagatcaac	tggtgtcag	60
gccctatcct	acagaaggat	gggtcagatt	gtgacaatgt	ttgaggctct	gcctcacatc	120
atcgatgagg	tgatcaacat	tgtcattatt	gtgcttatcg	tgatcacggg	tatcaaggct	180
gtctacaatt	ttgccacctg	tggttatctc	gcattgatca	gtttcctact	tctggctggc	240
aggtcctgtg	gcatgtacgg	tcttaaggga	cccacattt	acaaaggagt	ttaccaattt	300
aagtcagtgg	agtttgatat	gtcacatctg	aacctgacca	tgcccaacgc	atgttcagcc	360
aacaactccc	accattacat	cagtatgggg	acttctggac	tagaattgac	cttcaccaat	420
gattccatca	tcagtccaaa	cttttgcaat	ctgacctctg	ccttcaacaa	aaagaccttt	480
gaccacacac	tcattgagat	agtttcgagc	ctacacctca	gtatcagagg	gaactccaac	540
tataaggcag	tatcctgcga	cttcaacaat	ggcataacca	tccaatacaa	cttgacattc	600
tcagatgcac	aaagtgtctc	gagccagtgt	agaaccttca	gaggtagagt	cctagatatg	660
tttagaactg	ccttcggggg	gaaatacatg	aggagtggct	ggggctggac	aggctcagat	720
ggcaagacca	cctggtgtag	ccagacgagt	taccaatacc	tgattataca	aatagaacc	780
tgggaaaacc	actgcacata	tgcaggtcct	tttgggatgt	ccaggattct	cctttcccaa	840
gagaagacta	agttcctcac	taggagacta	gcgggcacat	tcacctggac	tttgtcagac	900
tcttcagggg	tgagaaatcc	agggtgttat	tgcttgacca	aatggatgat	tcttgctgca	960
gagcttaagt	gtttcgggaa	cacagcagtt	gcgaaatgca	atgtaaatca	tgatgaagaa	1020
ttctgtgaca	tgctgcgact	aattgactac	aacaaggctg	ctttgagtaa	gttcaaagag	1080

# ES 2 934 698 T3

gacgtagaat ctgccttgca cttattcaaa acaacagtga attctttgat ttcagatcaa	1140
ctactgatga ggaaccactt gagagatctg atgggggtgc catattgcaa ttactcaaag	1200
ttttggtacc tagaacatgc aaagaccggc gaaactagtg tccccaagtg ctggcttgtc	1260
accaatgggtt cttacttaaa tgagaccac ttcagtgacc aaatcgaaca ggaagccgat	1320
aacatgatta cagagatggt gaggaaggat tacataaaga ggcaggggag taccacctta	1380
gcattgatgg accttctgat gttttccaca tctgcatatc tagtcagcat cttcctgcac	1440
cttgtcaaaa taccaacaca caggcacata aaaggtggct catgtccaaa gccacaccga	1500
ttaaccaaca aaggaatttg tagttgtggt gcatttaagg tgcctggtgt aaaaaccgtc	1560
tggaaaagac gctgaagaac agcgctccc tgactctcca cctcgaaaga ggtggagagt	1620
caggagggcc cagagggtct tagagtgtca caacatttgg gcctctaaaa attaggtcat	1680
gtggcagaat gttgtgaaca gttttcagat ctgggagcct tgctttggag gcgctttcaa	1740
aatgatgca gtccatgagt gcacagtgcg gggatgctc tttctcttt ttgtccctta	1800
ctattccagt atgcatctta cacaaccagc catatttgtc ccacactttg tcttcatact	1860
ccctcgaagc ttccctggtc atttcaacat cgataagctt aatgtccttc ctattctgtg	1920
agtccagaag ctttctgatg tcatcggagc cttgacagct tagaaccatc ccctgcggaa	1980
gagcacctat aactgacgag gtcaaccggt gttgcgcatt gaagaggctg gcaagatcca	2040
tgccgtgtga gtacttgaa tcttgcttga attgtttttg atcaacgggt tccctgtaaa	2100
agtgtatgaa ctgcccgttc tgtggttga aaattgctat ttccactgga tcattaaatc	2160
tacctcaat gtcaatccat gtaggagcgt tggggctaat tcctcccatg aggtctttta	2220
aaagcattgt ctggctgtag cttaagccca cctgaggtgg acctgctgct ccaggcgctg	2280
gcctgggtga attgactgca ggtttctcgc ttgtgagatc aattgttgtg ttttcccatg	2340
ctctccccac aatcgatggt ctacaagcta tgtatggcca tccttcacct gaaaggcaaa	2400
ctttatagag gatgttttca taagggttcc tgtcccaaac ttggtctgaa acaaactgt	2460
tgagttttct cttggcccg agaactgcct tcaagaggtc ctgctgttg cttggcttga	2520
tcaaaattga ctctaactg ttaccccat ccaacagggtc tgccctgcc ttcacggcag	2580
caccaagact aaagttatag ccagaaatgt tgatgctgga ctgctgttca gtgatgaccc	2640
ccagaactgg gtgcttgtct ttcagccttt caagatcatt aagatttgga tacttgactg	2700
tgtaaagcaa gccaaagtct gtgagcgtt gtacaacgtc attgagcgga gtctgtgact	2760
gtttggccat acaagccata gttagacttg gcattgtgcc aaattgattg ttcaaaagtg	2820
atgagcttt cacatccaa actcttacca caccacttg accctgctga ggctttctca	2880
tcccaactat ctgtaggatc tgagatcttt ggtctagttg ctgtgttgtt aagttcccca	2940

# ES 2 934 698 T3

tatatacccc	tgaagcctgg	ggcctttcag	acctcatgat	cttggccttc	agcttctcaa	3000
ggtcagccgc	aagagacatc	agttcttctg	cactgagcct	ccccactttc	aaaacattct	3060
tctttgatgt	tgactttaaa	tccacaagag	aatgtacagt	ctgggtgaga	cttctgagtc	3120
tctgtaggtc	tttgtcatct	ctcttttcct	tcctcatgat	cctctgaaca	ttgctgacct	3180
cagagaagtc	caaccatttc	agaaggttgg	ttgcatcctt	aatgacagca	gccttcacat	3240
ctgatgtgaa	gctctgcaat	tctcttctca	atgcttgctg	ccattggaag	ctcttaactt	3300
ccttagacaa	ggacatcttg	ttgctcaatg	gtttctcaag	acaaatgcgc	aatcaaatgc	3360
ctaggatcca	ctgtgcg					3377

<210> 13  
 <211> 7205  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia Artificial

<220>  
 <223> coriomeningitis linfocítica cepa MP segmento L,  
 secuencia completa de ADNc

<400> 13	
gcgccaccggg	gatccctaggc
atcttttgttg	cgcatttttgt
tgtgttattt	gttgccacagc
60	
ccttcctcgt	gggaccttca
caaacaaaacc	aaaccaccag
ccatggggcca	aggcaagtcc
120	
aaagagggaa	gggatgccag
caatacgagc	agagctgaaa
ttctgccaga	caccacctat
180	
ctcggacctc	tgaactgcaa
gtcatgctgg	cagagatttg
acagtttagt	cagatgccat
240	
gaccactatc	tctgcagaca
ctgcctgaac	ctcctgctgt
cagtctccga	caggtgccct
300	
ctctgcaaac	atccattgcc
aaccaaactg	aaaatatcca
cggccccaag	ctctccaccc
360	
ccttacgagg	agtgcgccc
cgcgccccaa	caccgacaca
aggaggccac	caacacaacg
420	
cccaacacgg	aacacacaca
cacacaccca	cacacacatc
cacacacacg	cgcccccaca
480	
acggggggcg	ccccccgggg
gtggcccccc	gggtgctcgg
gcggagcccc	acggagaggc
540	
caattagtcg	atctcctcga
ccaccgactt	ggtcagccag
tcatcacagg	acttgccctt
600	
aagtctgtac	ttgccacaaa
ctgtttcata	catcacctgt
ttctttgact	tactgaaaca
660	
tagcctacag	tctttgaaag
tgaaccagtc	aggcacaagt
gacagcggta	ccagtagaat
720	
ggatctatct	atacacaact
cttggagaat	tgtgctaatt
tccgaccctt	gtagatgctc
780	
accagttctg	aatcgatgta
gaagaaggct	cccaaggacg
tcatcaaaat	ttccataacc
840	
ctcgagctct	gccaagaaaa
ctctcatatc	cttggctctc
agtttcacaa	cgatgttctg
900	
aacaaggctt	cttccctcaa
aaagagcacc	cattctcaca
gtcaagggca	caggctccca
960	
ttcaggccca	atcctctcaa
aatcaaggga	tctgatcccg
tccagtattt	tccttgagcc
1020	
tatcagctca	agctcaagag
agtcaccgag	tatcaggggg
tcctccatat	agtcctcaaa
1080	



# ES 2 934 698 T3

ctcttcagac	ctaattgtcaa	aaacaccatc	gttcaccttg	aagatagagt	ctgatctcaa	1140
cagggtggagg	cattcgtcca	agaaccttct	gtccacctca	ccttttaaaga	ggtgagagca	1200
tgataggaac	tcagctacac	ctggaccttg	taactggcac	ttcactaaaa	agatcaatga	1260
aaacttcctc	aaacaatcag	tgttattctg	gttgtgagtg	aaatctactg	taattgagaa	1320
ctctagcact	ccctctgtat	tatttatcat	gtaatcccac	aagtttctca	aagacttgaa	1380
tgccttttga	tttgtcaagc	cttgtttgat	tagcatggca	gcattgcaca	caatatctcc	1440
caatcggtaa	gagaaccatc	caaataccaaa	ttgcaagtca	ttcctaaaaa	tgggcctctc	1500
catatTTTTTg	ttcactactt	ttaagatgaa	tgattggaaa	ggccccaatg	cttcagcgcc	1560
atcttcagat	ggcatcatgt	ctttatgagg	gaaccatgaa	aaacttccta	gagttctgct	1620
tgttgctaca	aattctcgta	caaatagactc	aaaatacact	tgTTTTTaaa	agTTTTTgca	1680
gacatccctt	gtactaacga	caaattcatc	aacaaggctt	gagtcagagc	gctgatggga	1740
atttacaaga	tcagaaaata	gaacagtgtg	gtgttcgtcc	ctcttccact	taactacatg	1800
agaaatgagc	gataaagatt	ctgaattgat	atcgatcaat	acgcaaagg	caaggaattt	1860
gattctggga	ctccatctca	tgTTTTTTga	gctcatatca	gacatgaagg	gaagcagctg	1920
atcttcatag	atTTtaggg	acaatcgct	cacagattgg	attacatgg	ttaaacttat	1980
cttgtcctcc	agtagccttg	aactctcagg	cttccttgct	acataatcac	atgggttcaa	2040
gtgcttgagg	cttgagcttc	cctcattctt	ccctttcaca	ggttcagcta	agacccaaac	2100
acccaactca	aaggaattac	tcagtgagat	gcaaatatag	tcccaaagga	ggggcctcaa	2160
gagactgatg	tggtcgagc	gagcttctgg	atgactttgc	ctgtcacaaa	tgtacaacat	2220
tatgccatca	tgtctgtgga	ttgctgtcac	atgcgcatcc	atagctagat	cctcaagcac	2280
TTTTctaattg	tatagattgt	ccctattttt	atttctcaca	catctacttc	ccaaagtttt	2340
gcaaagacct	ataaagcctg	atgagatgca	actttgaaag	gctgacttat	tgattgcttc	2400
tgacagcaac	ttctgtgcac	ctcttgatga	cttactgcag	agcttggtct	ggagtgtctt	2460
gattaatgat	gggattcttt	cctcttgga	agtcattact	gatggataaa	ccactttctg	2520
cctcaagacc	attcttaattg	ggaacaactc	attcaaattc	agccaattta	tgTTTgccaa	2580
ttgacttaga	tcctcttcga	ggccaaggat	gtttcccaac	tgaagaatgg	cttccttttt	2640
atccctattg	aagaggctta	agaagaattc	ttcattgaac	tcaccattct	tgagcttatg	2700
atgtagtctc	cttacaagcc	ttctcatgac	cttcgtttca	ctaggacaca	attcttcaat	2760
aagccttttg	attctgtaac	ctctagagcc	atccaaccaa	tccttgacat	cagtattagt	2820
gttaagcaaa	aatgggtcca	agggaaagtt	ggcatatTTT	aagaggctta	atgttctctt	2880
ctggatgcag	tttaccaatg	aaactggaac	accatttgca	acagcttgat	cggcaattgt	2940
atctattggt	tcacagagtt	ggtgtggctc	tttacactta	acgttggtga	atgctgctga	3000

# ES 2 934 698 T3

cacaaatttt gttaaaagtg ggacctcttc cccccacaca taaaatctgg atttaaattc	3060
tgcagcaaat cgccccacca cacttttcgg actgatgaac ttgttaagca agccactcaa	3120
atgagaatga aattccagca atacaaggac ttcctcaggg tcactatcaa ccagttcact	3180
caatctccta tcaaataaagg tgatctgatc atcacttgat gtgtaagatt ctggctctctc	3240
acaaaaaatg acaccgatac aataattaat gaatctctca ctgattaagc cgtaaaagtc	3300
agaggcatta tgtaagattc cctgtcccat gtcaatgaga ctgcttatat gggaaggcac	3360
tattcctaatt tcaaaatatt ctcgaaagat tctttcagtc acagttgtct ctgaaccctt	3420
aagaagtttc agcttttgatt tgatatatga tttcatcatt gcattcacia caggaaaagg	3480
gacctcaaca agtttgtgca tgtgccaaagt taataagggtg ctgatatgat cctttccgga	3540
acgcacatac tgggtcatcac ccagtttgag attttgaagg agcattaaaa acaaaaatgg	3600
gcacatcatt ggccccatt tgctatgatc catactgtag ttcaacaacc cctctcgac	3660
attgatggtc attgatagaa ttgcattttc aaattctttg tcattgttta agcatgaacc	3720
tgagaagaag ctagaaaaag actcaaaata atcctctatc aatcttgtaa acatttttgt	3780
tctcaaatcc ccaatataaa gttctctgtt tcctccaacc tgctctttgt atgataacgc	3840
aaacttcaac cttccggaat caggaccaac tgaagtgtat gacgttggtg actcctctga	3900
gtaaaaacat aaattcttta aagcagcact catgcatttt gtcaatgata gagccttact	3960
tagagactca gaattacttt ccctttcact aattctaaca tcttcttcta gtttgtccca	4020
gtcaaaacttg aaattcagac cttgtctttg catgtgcctg tatttccttg agtatgcatt	4080
tgcattcatt tgcagtagaa tcattttcat acacgaaaaa caatcacctt ctgaaaaaaa	4140
cttcctgcag aggttttttg ccatttcac cagaccacat tgttctttga cagctgaagt	4200
gaaatacaat ggtgacagtt ctgtagaagt ttcaatagcc tcacagataa atttcatgtc	4260
atcattggtg agacaagatg ggtcaaaatc ttccacaaga tgaaaagaaa tttctgataa	4320
gatgaccttc cttaaataatg ccattttacc tgacaatata gtctgaagggt gatgcaatcc	4380
ttttgtattt tcaaacccca cctcattttc cccttcattg gtcttcttgc ttctttcata	4440
ccgctttatt gtggagttga ccttatcttc taaattcttg aagaaacttg tctcttcttc	4500
cccatcaaag catatgtctg ctgagtcacc ttctagtctt ccagcttctg tttctttaga	4560
gccgataacc aatctagaga ccaactttga aacctgttac tcgtaatctg agtggttcaa	4620
tttgtaacttc tgctttctca tgaagctctc tgtgatctga ctcacagcac taacaagcaa	4680
tttgttaaaa tcatactcta ggagccgttc cccatttaaa tgtttgttaa caaccacact	4740
tttgttgctg gcaaggtcta atgctgttgc acaccagag ttagtcatgg gatccaagct	4800
attgagcctc ttctccctt tgaaaatcaa agtgccattg ttgaatgagg acaccatcat	4860

gctaaaggcc	tccagattga	cacctggggt	tgtgcgctga	cagtcaactt	ctttcccagt	4920
gaacttcttc	atttggtcat	aaaaaacaca	ctcttcctca	ggggtgattg	actcttttagg	4980
gttaacaaag	aagccaaact	cactttttagg	ctcaaagaat	ttctcaaagc	atttaatttg	5040
atctgtcagc	ctatcagggg	tttcctttgt	gattaaatga	cacaggtatg	acacattcaa	5100
catgaacttg	aactttgcgc	tcaacagtac	cttttcacca	gtcccaaaaa	cagttttgat	5160
caaaaatctg	agcaatttgt	acactacttt	ctcagcaggt	gtgatcaaat	cctccttcaa	5220
cttgtccatc	aatgatgtgg	atgagaagtc	tgagacaatg	gccatcacta	aatacctaata	5280
gttttgaacc	tgtttttgat	tcctctttgt	tgggttgggtg	agcatgagta	ataatagggt	5340
tctcaatgca	atctcaacat	catcaatgct	gtccttcaag	tcaggacatg	atctgatcca	5400
tgagatcatg	gtgtcaatca	tgttgtgcaa	cacttcatct	gagaagattg	gtaaaaagaa	5460
cctttttggg	tctgcataaa	aagagattag	atggccattg	ggaccttgta	tagaataaca	5520
ccttgaggat	tctccagtct	tttgatacag	caggtgatat	tcctcagagt	ccaattttat	5580
cacttggcaa	aatacctctt	tacattccac	cacttgatac	cttacagagc	ccaattgggt	5640
ttgtcttaat	ctagcaactg	aacttgtttt	catactgttt	gtcaaagcta	gacagacaga	5700
tgacaatctt	ttcaaactat	gcatgttctt	taattgttcc	gtattaggct	ggaaatcata	5760
atcttcaaac	tttgtataat	acattatagg	atgagttccg	gacctcatga	aattctcaaa	5820
ctcaataaat	ggatgtggc	actcatgctc	aagatgttca	gacagaccat	agtgcccaaa	5880
actaagtccc	accactgaca	agcacctttg	aactttttaa	atgaactcat	ttatggatgt	5940
tctaaacaaa	tcctcaagag	atacctttct	atacgccttt	gactttctcc	tgttccttag	6000
aagtctgatg	aactcttcct	tggtgctatg	aaagctcacc	aacctatcat	tcacactccc	6060
atagcaacaa	ccaacccagt	gcttatcatt	ttttgaccct	ttgagtttag	actgtttgat	6120
caacgaagag	agacacaaga	catccaaatt	cagtaactgt	ctccttctgg	tgttcaataa	6180
ttttaaaactt	ttaactttgt	tcaacataga	gaggagcctc	tcataactcag	tgctagtctc	6240
acttcctctc	tcataaoccat	gggtatctgc	tgtgataaat	ctcatcaaag	gacaggattc	6300
aactgcctcc	ttgcttagtg	ctgaaatgtc	atcactgtca	gcaagagtct	cataaagctc	6360
agagaattcc	ttaattaaat	ttccgggggt	gattttctga	aaactcctct	tgagcttccc	6420
agtttccaag	tctcttctaa	acctgctgta	aaggaggttt	atgccaaagaa	ccacatcatc	6480
gcagttcatg	tttgggttga	caccatcatg	gcacattttc	ataatttcat	cattgtgaaa	6540
tgatcttgca	tctttcaaga	ttttcataga	gtctataccg	gaacgcttat	caacagtggg	6600
cttgagagat	tcgcaaagtc	tgaagtactc	agattcctca	aagactttct	catcttggct	6660
agaatactct	aaaagtttaa	acagaaggtc	tctgaacttg	aaattcacc	actctggcat	6720
aaagctgtta	tcataatcac	accgaccatc	cactattggg	accaatgtga	taccgcaat	6780

# ES 2 934 698 T3

ggcaaggtct	tctttgatac	aggctagttt	attggtgtcc	tctataaatt	tcttctcaaa	6840
actagctggt	gtgcttctaa	cgaagcactc	aagaagaatg	agggaattgt	caatcagttt	6900
ataaccatca	ggaatgatca	aaggcagtcc	cgggcacaca	atcccagact	ctattagaat	6960
tgcctcaaca	gatttatcat	catggttggt	tatgcagccg	ctcttgctag	cactgtctat	7020
ctctatacaa	cgcgacaaaa	gtttgagtcc	ctctatcaat	accattcttg	gttctctttg	7080
ccctaaaaag	ttgagcttct	gccttgacaa	cctctcatct	tgttctatgt	ggtttaagca	7140
caactctctc	aactccgaaa	tagcctcatc	cattgcgcat	caaaaagcct	aggatcctcg	7200
gtgcg						7205

<210> 14

<211> 3359

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> coriomeningitis linfocítica cepa MP segmento S, secuencia completa de ADNc

<400> 14

cgcaccgggg	atcctaggct	ttttggattg	cgctttcctc	agctccgtct	tgtgggagaa	60
tgggtcaaat	tgtgacgatg	tttgaggctc	tgcctcacat	cattgatgag	gtcattaaca	120
ttgtcattat	cgtgcttatt	atcatcacga	gcatcaaagc	tgtgtacaat	ttcgccacct	180
gcgggatact	tgcattgatc	agctttcttt	ttctggctgg	caggtcctgt	ggaatgtatg	240
gtcttgatgg	gcctgacatt	tacaaagggg	tttaccgatt	caagtcagtg	gagtttgaca	300
tgtcttacct	taacctgacg	atgcccaatg	catgttcggc	aaacaactcc	catcattata	360
taagtatggg	gacttctgga	ttggagttaa	ccttcacaaa	tgactccatc	atcaccacaa	420
acttttgtaa	tctgacttcc	gccctcaaca	agaggacttt	tgaccacaca	cttatgagta	480
tagtctcaag	tctgcacctc	agcattagag	gggtccccag	ctacaaagca	gtgtcctgtg	540
attttaacaa	tggcatcact	attcaataca	acctgtcatt	ttctaatagca	cagagcgctc	600
tgagtcaatg	taagaccttc	agggggagag	tcctggatat	gttcagaact	gcttttgagg	660
gaaagtacat	gaggagtggc	tggggctgga	caggttcaga	tggcaagact	acttgggtgca	720
gccagacaaa	ctaccaatat	ctgattatac	aaaacaggac	ttgggaaaac	cactgcaggt	780
acgcaggccc	tttcggaatg	tctagaattc	tcttcgctca	agaaaagaca	aggtttctaa	840
ctagaaggct	tcagggcaca	ttcacttgga	ctttatcaga	ctcatcagga	gtggagaatc	900
cagggtggtta	ctgcttgacc	aagtggatga	tcctcgctgc	agagctcaag	tgttttgggg	960
acacagctgt	tgcaaagtgc	aatgtaaata	atgatgaaga	gttctgtgat	atgctacgac	1020
tgattgatta	caacaaggct	gctttgagta	aattcaaaga	agatgtagaa	tccgctctac	1080

# ES 2 934 698 T3

atctgttcaa gacaacagtg aattctttga tttctgatca gcttttgatg agaaatcacc	1140
taagagactt gatgggagtg ccatactgca attactcgaa attctggtat ctagagcatg	1200
caaagactgg tgagactagt gtccccaagt gctggcttgt cagcaatggt tcttatttga	1260
atgaaaccca tttcagcgac caaattgagc aggaagcaga taatatgatc acagaaatgc	1320
tgagaaagga ctacataaaa aggcaaggga gtaccctctc agccttgatg gatctattga	1380
tgttttctac atcagcatat ttgatcagca tctttctgca tcttgtagg ataccaacac	1440
acagacacat aaagggcggc tcatgccaa aaccacatcg gttaaccagc aagggaatct	1500
gtagtgtggt tgcatttaaa gtaccagggtg tggaaccac ctggaaaaga cgctgaacag	1560
cagcgctcc ctgactcacc acctcgaaag aggtggtgag tcagggaggc ccagagggtc	1620
ttagagtgtt acgacatttg gacctctgaa gattaggtca tgtggtagga tattgtggac	1680
agttttcagg tcggggagcc ttgccttga ggcgcttca aagatgatac agtccatgag	1740
tgcacagtgt ggggtgacct ctttctttt cttgtccctc actattccag tgtgcatctt	1800
gcatagccag ccatatttgt cccagacttt gtcctcatat tctcttgaag cttctttagt	1860
catctcaaca tcgatgagct taatgtctct tctgttttgt gaacttagga gtttcctgat	1920
gtcatcagat ccctgacaac ttaggacct tccctgtgga agagcaccta ttactgaaga	1980
tgtcagccca ggttggtcat tgaagaggtc agcaaggctc atgccatgtg agtatttga	2040
gtcctgcttg aattgtttt gatcagtggg ttctctatag aaatgtatgt actgccatt	2100
ctgtggctga aatattgcta tttctaccgg gtcattaaat ctgccctcaa tgtcaatcca	2160
tgtaggagcg ttagggctca tacctcccat gaggtcctc agcaacattg tttggctgta	2220
gcttaagccc acctgaggtg ggcccgtgc cccaggcgtt ggtttgggtg agttggccat	2280
aggcctctca tttgtcagat caattgttgt gttctcccat gctctcccta caactgatgt	2340
tctacaagct atgtatggc acccctcccc tgaaagacag actttgtaga ggatgttctc	2400
gtaaggattc ctgtctccaa cctgatcaga aacaaacatg ttgagtttct tcttgcccc	2460
aagaactgct ttcaggagat cctcactgtt gcttggtta attaagatgg attccaacat	2520
gttaccoccca tctaacaagg ctgcccctgc tttcacagca gcaccgagac tgaaattgta	2580
gccagatatg ttgatgctag actgctgctc agtgatgact cccaagactg ggtgcttgtc	2640
tttcagcctt tcaaggctac ttaggttcgg gtacttgact gtgtaaagca gcccaaggctc	2700
tgtgagtgtc tgcacaacgt cattgagtga ggtttgtgat tgtttggcca tacaagccat	2760
tgttaagctt ggcattgtgc cgaattgatt gttcagaagt gatgagtcct tcacatccca	2820
gaccctcacc acaccatttg cactctgctg aggtctcctc attccaacca tttgcagaat	2880
ctgagatctt tggtaagct gttgtgctgt taagttcccc atgtagactc cagaagttag	2940

aggcctttca gacctcatga ttttagcctt cagtttttca aggtcagctg caagggacat 3000  
cagttcttct gcactaagcc tocctacttt tagaacattc ttttttgatg ttgacttttag 3060  
gtccacaagg gaatacacag tttggttgag gcttctgagt ctctgtaaatt ctttgtcatc 3120  
cctcttctct ttcctcatga tctctgaac attgctcacc tcagagaagt ctaatccatt 3180  
cagaaggctg gtggcatcct tgatcacagc agctttcaca tctgatgtga agccttgaag 3240  
ctctctcctc aatgcctggg tccattgaaa gcttttaact tctttggaca gagacatttt 3300  
gtcactcagt ggattttcaa gtcaaagcg caatcaaaat gcctaggatc cactgtgcg 3359

<210> 15

<211> 558

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Proteína NP de la cepa MP de LCMV

<400> 15

Met Ser Leu Ser Lys Glu Val Lys Ser Phe Gln Trp Thr Gln Ala Leu  
1 5 10 15

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

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

Asn Val Gln Arg Ile Met Arg Lys Glu Lys Arg Asp Asp Lys Asp Leu  
50 55 60

Gln Arg Leu Arg Ser Leu Asn Gln Thr Val Tyr Ser Leu Val Asp Leu  
65 70 75 80

Lys Ser Thr Ser Lys Lys Asn Val Leu Lys Val Gly Arg Leu Ser Ala  
85 90 95

Glu Glu Leu Met Ser Leu Ala Ala Asp Leu Glu Lys Leu Lys Ala Lys  
100 105 110

Ile Met Arg Ser Glu Arg Pro Leu Thr Ser Gly Val Tyr Met Gly Asn  
115 120 125

Leu Thr Ala Gln Gln Leu Asp Gln Arg Ser Gln Ile Leu Gln Met Val  
130 135 140

Gly Met Arg Arg Pro Gln Gln Ser Ala Asn Gly Val Val Arg Val Trp  
145 150 155 160

# ES 2 934 698 T3

Asp Val Lys Asp Ser Ser Leu Leu Asn Asn Gln Phe Gly Thr Met Pro  
 165 170 175  
 Ser Leu Thr Met Ala Cys Met Ala Lys Gln Ser Gln Thr Ser Leu Asn  
 180 185 190  
 Asp Val Val Gln Ala Leu Thr Asp Leu Gly Leu Leu Tyr Thr Val Lys  
 195 200 205  
 Tyr Pro Asn Leu Ser Asp Leu Glu Arg Leu Lys Asp Lys His Pro Val  
 210 215 220  
 Leu Gly Val Ile Thr Glu Gln Gln Ser Ser Ile Asn Ile Ser Gly Tyr  
 225 230 235 240  
 Asn Phe Ser Leu Gly Ala Ala Val Lys Ala Gly Ala Ala Leu Leu Asp  
 245 250 255  
 Gly Gly Asn Met Leu Glu Ser Ile Leu Ile Lys Pro Ser Asn Ser Glu  
 260 265 270  
 Asp Leu Leu Lys Ala Val Leu Gly Ala Lys Lys Lys Leu Asn Met Phe  
 275 280 285  
 Val Ser Asp Gln Val Gly Asp Arg Asn Pro Tyr Glu Asn Ile Leu Tyr  
 290 295 300  
 Lys Val Cys Leu Ser Gly Glu Gly Trp Pro Tyr Ile Ala Cys Arg Thr  
 305 310 315 320  
 Ser Val Val Gly Arg Ala Trp Glu Asn Thr Thr Ile Asp Leu Thr Asn  
 325 330 335  
 Glu Arg Pro Met Ala Asn Ser Pro Lys Pro Ala Pro Gly Ala Ala Gly  
 340 345 350  
 Pro Pro Gln Val Gly Leu Ser Tyr Ser Gln Thr Met Leu Leu Lys Asp  
 355 360 365  
 Leu Met Gly Gly Ile Asp Pro Asn Ala Pro Thr Trp Ile Asp Ile Glu  
 370 375 380  
 Gly Arg Phe Asn Asp Pro Val Glu Ile Ala Ile Phe Gln Pro Gln Asn  
 385 390 395 400  
 Gly Gln Tyr Ile His Phe Tyr Arg Glu Pro Thr Asp Gln Lys Gln Phe

ES 2 934 698 T3

				405				410				415			
Lys	Gln	Asp	Ser	Lys	Tyr	Ser	His	Gly	Met	Asp	Leu	Ala	Asp	Leu	Phe
			420				425						430		
Asn	Ala	Gln	Pro	Gly	Leu	Thr	Ser	Ser	Val	Ile	Gly	Ala	Leu	Pro	Gln
		435				440						445			
Gly	Met	Val	Leu	Ser	Cys	Gln	Gly	Ser	Asp	Asp	Ile	Arg	Lys	Leu	Leu
		450				455				460					
Asp	Ser	Gln	Asn	Arg	Arg	Asp	Ile	Lys	Leu	Ile	Asp	Val	Glu	Met	Thr
		465	470						475			480			
Lys	Glu	Ala	Ser	Arg	Glu	Tyr	Glu	Asp	Lys	Val	Trp	Asp	Lys	Tyr	Gly
			485				490						495		
Trp	Leu	Cys	Lys	Met	His	Thr	Gly	Ile	Val	Arg	Asp	Lys	Lys	Lys	Lys
			500				505				510				
Glu	Val	Thr	Pro	His	Cys	Ala	Leu	Met	Asp	Cys	Ile	Ile	Phe	Glu	Ser
		515				520				525					
Ala	Ser	Lys	Ala	Arg	Leu	Pro	Asp	Leu	Lys	Thr	Val	His	Asn	Ile	Leu
		530				535				540					
Pro	His	Asp	Leu	Ile	Phe	Arg	Gly	Pro	Asn	Val	Val	Thr	Leu		
		545	550						555						
<210> 16															
<211> 498															
<212> PRT															
<213> Secuencia Artificial															
<220>															
<223> Proteína GP de la cepa MP de LCMV															
<400> 16															
Met	Gly	Gln	Ile	Val	Thr	Met	Phe	Glu	Ala	Leu	Pro	His	Ile	Ile	Asp
1				5				10				15			
Glu	Val	Ile	Asn	Ile	Val	Ile	Ile	Val	Leu	Ile	Ile	Ile	Thr	Ser	Ile
			20				25				30				
Lys	Ala	Val	Tyr	Asn	Phe	Ala	Thr	Cys	Gly	Ile	Leu	Ala	Leu	Ile	Ser
		35				40				45					
Phe	Leu	Phe	Leu	Ala	Gly	Arg	Ser	Cys	Gly	Met	Tyr	Gly	Leu	Asp	Gly
		50				55				60					



# ES 2 934 698 T3

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

ES 2 934 698 T3

305					310					315					320				
Leu	Ile	Asp	Tyr	Asn	Lys	Ala	Ala	Leu	Ser	Lys	Phe	Lys	Glu	Asp	Val				
				325					330					335					
Glu	Ser	Ala	Leu	His	Leu	Phe	Lys	Thr	Thr	Val	Asn	Ser	Leu	Ile	Ser				
				340					345					350					
Asp	Gln	Leu	Leu	Met	Arg	Asn	His	Leu	Arg	Asp	Leu	Met	Gly	Val	Pro				
				355					360					365					
Tyr	Cys	Asn	Tyr	Ser	Lys	Phe	Trp	Tyr	Leu	Glu	His	Ala	Lys	Thr	Gly				
				370					375					380					
Glu	Thr	Ser	Val	Pro	Lys	Cys	Trp	Leu	Val	Ser	Asn	Gly	Ser	Tyr	Leu				
				385					390					395					
Asn	Glu	Thr	His	Phe	Ser	Asp	Gln	Ile	Glu	Gln	Glu	Ala	Asp	Asn	Met				
				405					410					415					
Ile	Thr	Glu	Met	Leu	Arg	Lys	Asp	Tyr	Ile	Lys	Arg	Gln	Gly	Ser	Thr				
				420					425					430					
Pro	Leu	Ala	Leu	Met	Asp	Leu	Leu	Met	Phe	Ser	Thr	Ser	Ala	Tyr	Leu				
				435					440					445					
Ile	Ser	Ile	Phe	Leu	His	Leu	Val	Arg	Ile	Pro	Thr	His	Arg	His	Ile				
				450					455					460					
Lys	Gly	Gly	Ser	Cys	Pro	Lys	Pro	His	Arg	Leu	Thr	Ser	Lys	Gly	Ile				
				465					470					475					
Cys	Ser	Cys	Gly	Ala	Phe	Lys	Val	Pro	Gly	Val	Glu	Thr	Thr	Trp	Lys				
				485					490					495					

Arg Arg

<210> 17

<211> 2209

<212> PRT

### <213> Secuencia Artificial

$\langle 220 \rangle$

<223> Proteína L de la cepa MP de LCMV

<400> 17

Met Asp Glu Ala Ile Ser Glu Leu Arg Glu Leu Cys Leu Asn His Ile  
1 5 10 15

# ES 2 934 698 T3

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

ES 2 934 698 T3

260							265					270				
Leu	Tyr	Glu	Thr	Leu	Ala	Asp	Ser	Asp	Asp	Ile	Ser	Ala	Leu	Ser	Lys	
		275					280					285				
Glu	Ala	Val	Glu	Ser	Cys	Pro	Leu	Met	Arg	Phe	Ile	Thr	Ala	Asp	Thr	
	290					295					300					
His	Gly	Tyr	Glu	Arg	Gly	Ser	Glu	Thr	Ser	Thr	Glu	Tyr	Glu	Arg	Leu	
305					310					315					320	
Leu	Ser	Met	Leu	Asn	Lys	Val	Lys	Ser	Leu	Lys	Leu	Leu	Asn	Thr	Arg	
				325					330					335		
Arg	Arg	Gln	Leu	Leu	Asn	Leu	Asp	Val	Leu	Cys	Leu	Ser	Ser	Leu	Ile	
			340					345					350			
Lys	Gln	Ser	Lys	Leu	Lys	Gly	Ser	Lys	Asn	Asp	Lys	His	Trp	Val	Gly	
		355					360					365				
Cys	Cys	Tyr	Gly	Ser	Val	Asn	Asp	Arg	Leu	Val	Ser	Phe	His	Ser	Thr	
	370					375					380					
Lys	Glu	Glu	Phe	Ile	Arg	Leu	Leu	Arg	Asn	Arg	Arg	Lys	Ser	Lys	Ala	
385					390					395					400	
Tyr	Arg	Lys	Val	Ser	Leu	Glu	Asp	Leu	Phe	Arg	Thr	Ser	Ile	Asn	Glu	
				405					410					415		
Phe	Ile	Leu	Lys	Val	Gln	Arg	Cys	Leu	Ser	Val	Val	Gly	Leu	Ser	Phe	
			420					425					430			
Gly	His	Tyr	Gly	Leu	Ser	Glu	His	Leu	Glu	His	Glu	Cys	His	Ile	Pro	
		435					440					445				
Phe	Ile	Glu	Phe	Glu	Asn	Phe	Met	Arg	Ser	Gly	Thr	His	Pro	Ile	Met	
	450					455					460					
Tyr	Tyr	Thr	Lys	Phe	Glu	Asp	Tyr	Asp	Phe	Gln	Pro	Asn	Thr	Glu	Gln	
465					470					475					480	
Leu	Arg	Asn	Met	His	Ser	Leu	Lys	Arg	Leu	Ser	Ser	Val	Cys	Leu	Ala	
				485					490					495		
Leu	Thr	Asn	Ser	Met	Lys	Thr	Ser	Ser	Val	Ala	Arg	Leu	Arg	Gln	Asn	
			500					505					510			

# ES 2 934 698 T3

Gln Leu Gly Ser Val Arg Tyr Gln Val Val Glu Cys Lys Glu Val Phe  
 515 520 525  
 Cys Gln Val Ile Lys Leu Asp Ser Glu Glu Tyr His Leu Leu Tyr Gln  
 530 535 540  
 Lys Thr Gly Glu Ser Ser Arg Cys Tyr Ser Ile Gln Gly Pro Asn Gly  
 545 550 555 560  
 His Leu Ile Ser Phe Tyr Ala Asp Pro Lys Arg Phe Phe Leu Pro Ile  
 565 570 575  
 Phe Ser Asp Glu Val Leu His Asn Met Ile Asp Thr Met Ile Ser Trp  
 580 585 590  
 Ile Arg Ser Cys Pro Asp Leu Lys Asp Ser Ile Asp Asp Val Glu Ile  
 595 600 605  
 Ala Leu Arg Thr Leu Leu Leu Leu Met Leu Thr Asn Pro Thr Lys Arg  
 610 615 620  
 Asn Gln Lys Gln Val Gln Asn Ile Arg Tyr Leu Val Met Ala Ile Val  
 625 630 635 640  
 Ser Asp Phe Ser Ser Thr Ser Leu Met Asp Lys Leu Lys Glu Asp Leu  
 645 650 655  
 Ile Thr Pro Ala Glu Lys Val Val Tyr Lys Leu Leu Arg Phe Leu Ile  
 660 665 670  
 Lys Thr Val Phe Gly Thr Gly Glu Lys Val Leu Leu Ser Ala Lys Phe  
 675 680 685  
 Lys Phe Met Leu Asn Val Ser Tyr Leu Cys His Leu Ile Thr Lys Glu  
 690 695 700  
 Thr Pro Asp Arg Leu Thr Asp Gln Ile Lys Cys Phe Glu Lys Phe Phe  
 705 710 715 720  
 Glu Pro Lys Ser Glu Phe Gly Phe Phe Val Asn Pro Lys Glu Ser Ile  
 725 730 735  
 Thr Pro Glu Glu Glu Cys Val Phe Tyr Asp Gln Met Lys Lys Phe Thr  
 740 745 750  
 Gly Lys Glu Val Asp Cys Gln Arg Thr Thr Pro Gly Val Asn Leu Glu  
 755 760 765

# ES 2 934 698 T3

Ala Phe Ser Met Met Val Ser Ser Phe Asn Asn Gly Thr Leu Ile Phe  
770 775 780

Lys Gly Glu Lys Arg Leu Asn Ser Leu Asp Pro Met Thr Asn Ser Gly  
785 790 795 800

Cys Ala Thr Ala Leu Asp Leu Ala Ser Asn Lys Ser Val Val Val Asn  
805 810 815

Lys His Leu Asn Gly Glu Arg Leu Leu Glu Tyr Asp Phe Asn Lys Leu  
820 825 830

Leu Val Ser Ala Val Ser Gln Ile Thr Glu Ser Phe Met Arg Lys Gln  
835 840 845

Lys Tyr Lys Leu Asn His Ser Asp Tyr Glu Tyr Lys Val Ser Lys Leu  
850 855 860

Val Ser Arg Leu Val Ile Gly Ser Lys Glu Thr Glu Ala Gly Lys Leu  
865 870 875 880

Glu Gly Asp Ser Ala Asp Ile Cys Phe Asp Gly Glu Glu Glu Thr Ser  
885 890 895

Phe Phe Lys Asn Leu Glu Asp Lys Val Asn Ser Thr Ile Lys Arg Tyr  
900 905 910

Glu Arg Ser Lys Lys Thr Asn Glu Gly Glu Asn Glu Val Gly Phe Glu  
915 920 925

Asn Thr Lys Gly Leu His His Leu Gln Thr Ile Leu Ser Gly Lys Met  
930 935 940

Ala Tyr Leu Arg Lys Val Ile Leu Ser Glu Ile Ser Phe His Leu Val  
945 950 955 960

Glu Asp Phe Asp Pro Ser Cys Leu Thr Asn Asp Asp Met Lys Phe Ile  
965 970 975

Cys Glu Ala Ile Glu Thr Ser Thr Glu Leu Ser Pro Leu Tyr Phe Thr  
980 985 990

Ser Ala Val Lys Glu Gln Cys Gly Leu Asp Glu Met Ala Lys Asn Leu  
995 1000 1005

Cys Arg Lys Phe Phe Ser Glu Gly Asp Trp Phe Ser Cys Met Lys  
1010 1015 1020

# ES 2 934 698 T3

Met	Ile	Leu	Leu	Gln	Met	Asn	Ala	Asn	Ala	Tyr	Ser	Gly	Lys	Tyr
1025						1030					1035			
Arg	His	Met	Gln	Arg	Gln	Gly	Leu	Asn	Phe	Lys	Phe	Asp	Trp	Asp
1040						1045					1050			
Lys	Leu	Glu	Glu	Asp	Val	Arg	Ile	Ser	Glu	Arg	Glu	Ser	Asn	Ser
1055						1060					1065			
Glu	Ser	Leu	Ser	Lys	Ala	Leu	Ser	Leu	Thr	Lys	Cys	Met	Ser	Ala
1070						1075					1080			
Ala	Leu	Lys	Asn	Leu	Cys	Phe	Tyr	Ser	Glu	Glu	Ser	Pro	Thr	Ser
1085						1090					1095			
Tyr	Thr	Ser	Val	Gly	Pro	Asp	Ser	Gly	Arg	Leu	Lys	Phe	Ala	Leu
1100						1105					1110			
Ser	Tyr	Lys	Glu	Gln	Val	Gly	Gly	Asn	Arg	Glu	Leu	Tyr	Ile	Gly
1115						1120					1125			
Asp	Leu	Arg	Thr	Lys	Met	Phe	Thr	Arg	Leu	Ile	Glu	Asp	Tyr	Phe
1130						1135					1140			
Glu	Ser	Phe	Ser	Ser	Phe	Phe	Ser	Gly	Ser	Cys	Leu	Asn	Asn	Asp
1145						1150					1155			
Lys	Glu	Phe	Glu	Asn	Ala	Ile	Leu	Ser	Met	Thr	Ile	Asn	Val	Arg
1160						1165					1170			
Glu	Gly	Leu	Leu	Asn	Tyr	Ser	Met	Asp	His	Ser	Lys	Trp	Gly	Pro
1175						1180					1185			
Met	Met	Cys	Pro	Phe	Leu	Phe	Leu	Met	Leu	Leu	Gln	Asn	Leu	Lys
1190						1195					1200			
Leu	Gly	Asp	Asp	Gln	Tyr	Val	Arg	Ser	Gly	Lys	Asp	His	Ile	Ser
1205						1210					1215			
Thr	Leu	Leu	Thr	Trp	His	Met	His	Lys	Leu	Val	Glu	Val	Pro	Phe
1220						1225					1230			
Pro	Val	Val	Asn	Ala	Met	Met	Lys	Ser	Tyr	Ile	Lys	Ser	Lys	Leu
1235						1240					1245			
Lys	Leu	Leu	Arg	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Val	Thr	Glu	Arg	Ile	Phe

# ES 2 934 698 T3

1250		1255		1260
Arg Glu Tyr Phe Glu Leu Gly	Ile Val Pro Ser His	Ile Ser Ser		
1265	1270	1275		
Leu Ile Asp Met Gly Gln Gly	Ile Leu His Asn Ala	Ser Asp Phe		
1280	1285	1290		
Tyr Gly Leu Ile Ser Glu Arg	Phe Ile Asn Tyr Cys	Ile Gly Val		
1295	1300	1305		
Ile Phe Gly Glu Arg Pro Glu	Ser Tyr Thr Ser Ser	Asp Asp Gln		
1310	1315	1320		
Ile Thr Leu Phe Asp Arg Arg	Leu Ser Glu Leu Val	Asp Ser Asp		
1325	1330	1335		
Pro Glu Glu Val Leu Val Leu	Leu Glu Phe His Ser	His Leu Ser		
1340	1345	1350		
Gly Leu Leu Asn Lys Phe Ile	Ser Pro Lys Ser Val	Val Gly Arg		
1355	1360	1365		
Phe Ala Ala Glu Phe Lys Ser	Arg Phe Tyr Val Trp	Gly Glu Glu		
1370	1375	1380		
Val Pro Leu Leu Thr Lys Phe	Val Ser Ala Ala Leu	His Asn Val		
1385	1390	1395		
Lys Cys Lys Glu Pro His Gln	Leu Cys Glu Thr Ile	Asp Thr Ile		
1400	1405	1410		
Ala Asp Gln Ala Val Ala Asn	Gly Val Pro Val Ser	Leu Val Asn		
1415	1420	1425		
Cys Ile Gln Lys Arg Thr Leu	Asp Leu Leu Lys Tyr	Ala Asn Phe		
1430	1435	1440		
Pro Leu Asp Pro Phe Leu Leu	Asn Thr Asn Thr Asp	Val Lys Asp		
1445	1450	1455		
Trp Leu Asp Gly Ser Arg Gly	Tyr Arg Ile Gln Arg	Leu Ile Glu		
1460	1465	1470		
Glu Leu Cys Pro Ser Glu Thr	Lys Val Met Arg Arg	Leu Val Arg		
1475	1480	1485		



# ES 2 934 698 T3

Arg	Leu	His	His	Lys	Leu	Lys	Asn	Gly	Glu	Phe	Asn	Glu	Glu	Phe
1490						1495					1500			
Phe	Leu	Asp	Leu	Phe	Asn	Arg	Asp	Lys	Lys	Glu	Ala	Ile	Leu	Gln
1505						1510					1515			
Leu	Gly	Asn	Ile	Leu	Gly	Leu	Glu	Glu	Asp	Leu	Ser	Gln	Leu	Ala
1520						1525					1530			
Asn	Ile	Asn	Trp	Leu	Asn	Leu	Asn	Glu	Leu	Phe	Pro	Leu	Arg	Met
1535						1540					1545			
Val	Leu	Arg	Gln	Lys	Val	Val	Tyr	Pro	Ser	Val	Met	Thr	Phe	Gln
1550						1555					1560			
Glu	Glu	Arg	Ile	Pro	Ser	Leu	Ile	Lys	Thr	Leu	Gln	Asn	Lys	Leu
1565						1570					1575			
Cys	Ser	Lys	Phe	Thr	Arg	Gly	Ala	Gln	Lys	Leu	Leu	Ser	Glu	Ala
1580						1585					1590			
Ile	Asn	Lys	Ser	Ala	Phe	Gln	Ser	Cys	Ile	Ser	Ser	Gly	Phe	Ile
1595						1600					1605			
Gly	Leu	Cys	Lys	Thr	Leu	Gly	Ser	Arg	Cys	Val	Arg	Asn	Lys	Asn
1610						1615					1620			
Arg	Asp	Asn	Leu	Tyr	Ile	Arg	Lys	Val	Leu	Glu	Asp	Leu	Ala	Met
1625						1630					1635			
Asp	Ala	His	Val	Thr	Ala	Ile	His	Arg	His	Asp	Gly	Ile	Met	Leu
1640						1645					1650			
Tyr	Ile	Cys	Asp	Arg	Gln	Ser	His	Pro	Glu	Ala	His	Cys	Asp	His
1655						1660					1665			
Ile	Ser	Leu	Leu	Arg	Pro	Leu	Leu	Trp	Asp	Tyr	Ile	Cys	Ile	Ser
1670						1675					1680			
Leu	Ser	Asn	Ser	Phe	Glu	Leu	Gly	Val	Trp	Val	Leu	Ala	Glu	Pro
1685						1690					1695			
Val	Lys	Gly	Lys	Asn	Glu	Gly	Ser	Ser	Ser	Leu	Lys	His	Leu	Asn
1700						1705					1710			
Pro	Cys	Asp	Tyr	Val	Ala	Arg	Lys	Pro	Glu	Ser	Ser	Arg	Leu	Leu
1715						1720					1725			

# ES 2 934 698 T3

Glu Asp	Lys Ile	Ser Leu	Asn His	Val Ile	Gln Ser	Val Arg	Arg
1730			1735			1740	
Leu Tyr	Pro Lys	Ile Tyr	Glu Asp	Gln Leu	Leu Pro	Phe Met	Ser
1745			1750			1755	
Asp Met	Ser Ser	Lys Asn	Met Arg	Trp Ser	Pro Arg	Ile Lys	Phe
1760			1765			1770	
Leu Asp	Leu Cys	Val Leu	Ile Asp	Ile Asn	Ser Glu	Ser Leu	Ser
1775			1780			1785	
Leu Ile	Ser His	Val Val	Lys Trp	Lys Arg	Asp Glu	His Tyr	Thr
1790			1795			1800	
Val Leu	Phe Ser	Asp Leu	Val Asn	Ser His	Gln Arg	Ser Asp	Ser
1805			1810			1815	
Ser Leu	Val Asp	Glu Phe	Val Val	Ser Thr	Arg Asp	Val Cys	Lys
1820			1825			1830	
Asn Phe	Leu Lys	Gln Val	Tyr Phe	Glu Ser	Phe Val	Arg Glu	Phe
1835			1840			1845	
Val Ala	Thr Ser	Arg Thr	Leu Gly	Ser Phe	Ser Trp	Phe Pro	His
1850			1855			1860	
Lys Asp	Met Met	Pro Ser	Glu Asp	Gly Ala	Glu Ala	Leu Gly	Pro
1865			1870			1875	
Phe Gln	Ser Phe	Ile Leu	Lys Val	Val Asn	Lys Asn	Met Glu	Arg
1880			1885			1890	
Pro Met	Phe Arg	Asn Asp	Leu Gln	Phe Gly	Phe Gly	Trp Phe	Ser
1895			1900			1905	
Tyr Arg	Leu Gly	Asp Ile	Val Cys	Asn Ala	Ala Met	Leu Ile	Lys
1910			1915			1920	
Gln Gly	Leu Thr	Asn Pro	Lys Ala	Phe Lys	Ser Leu	Arg Asn	Leu
1925			1930			1935	
Trp Asp	Tyr Met	Ile Asn	Asn Thr	Glu Gly	Val Leu	Glu Phe	Ser
1940			1945			1950	
Ile Thr	Val Asp	Phe Thr	His Asn	Gln Asn	Asn Thr	Asp Cys	Leu
1955			1960			1965	

# ES 2 934 698 T3

Arg Lys Phe Ser Leu Ile Phe Leu Val Lys Cys Gln Leu Gln Gly 1970 1975 1980
Pro Gly Val Ala Glu Phe Leu Ser Cys Ser His Leu Phe Lys Gly 1985 1990 1995
Glu Val Asp Arg Arg Phe Leu Asp Glu Cys Leu His Leu Leu Arg 2000 2005 2010
Ser Asp Ser Ile Phe Lys Val Asn Asp Gly Val Phe Asp Ile Arg 2015 2020 2025
Ser Glu Glu Phe Glu Asp Tyr Met Glu Asp Pro Leu Ile Leu Gly 2030 2035 2040
Asp Ser Leu Glu Leu Glu Leu Ile Gly Ser Arg Lys Ile Leu Asp 2045 2050 2055
Gly Ile Arg Ser Leu Asp Phe Glu Arg Ile Gly Pro Glu Trp Glu 2060 2065 2070
Pro Val Pro Leu Thr Val Arg Met Gly Ala Leu Phe Glu Gly Arg 2075 2080 2085
Ser Leu Val Gln Asn Ile Val Val Lys Leu Glu Thr Lys Asp Met 2090 2095 2100
Arg Val Phe Leu Ala Glu Leu Glu Gly Tyr Gly Asn Phe Asp Asp 2105 2110 2115
Val Leu Gly Ser Leu Leu Leu His Arg Phe Arg Thr Gly Glu His 2120 2125 2130
Leu Gln Gly Ser Glu Ile Ser Thr Ile Leu Gln Glu Leu Cys Ile 2135 2140 2145
Asp Arg Ser Ile Leu Leu Val Pro Leu Ser Leu Val Pro Asp Trp 2150 2155 2160
Phe Thr Phe Lys Asp Cys Arg Leu Cys Phe Ser Lys Ser Lys Asn 2165 2170 2175
Thr Val Met Tyr Glu Thr Val Val Gly Lys Tyr Arg Leu Lys Gly 2180 2185 2190
Lys Ser Cys Asp Asp Trp Leu Thr Lys Ser Val Val Glu Glu Ile 2195 2200 2205

Asp

<210> 18

<211> 90

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Proteína Z de la cepa MP de LCMV

<400> 18

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

Arg Ala Glu Ile Leu Pro Asp Thr Thr Tyr Leu Gly Pro Leu Asn Cys  
20 25 30

Lys Ser Cys Trp Gln Arg Phe Asp Ser Leu Val Arg Cys His Asp His  
35 40 45

Tyr Leu Cys Arg His Cys Leu Asn Leu Leu Leu Ser Val Ser Asp Arg  
50 55 60

Cys Pro Leu Cys Lys His Pro Leu Pro Thr Lys Leu Lys Ile Ser Thr  
65 70 75 80

Ala Pro Ser Ser Pro Pro Pro Tyr Glu Glu  
85 90

5

<210> 19

<211> 7115

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

10

<220>

<223> Virus Junín Candid No.1 Segmento L

<400> 19

gcgccaccggg gatcctaggc gtaacttcat cattaaaatc tcagattctg ctctgagtgt 60

gacttactgc gaagaggcag acaaatgggc aactgcaacg gggcatccaa gtctaaccag 120

ccagactcct caagagccac acagccagcc gcagaattta ggagggtagc tcacagcagt 180

ctatatggta gatataactg taagtgtctg tggtttgctg ataccaattt gataacctgt 240

aatgatcact acctttgttt aaggtgccat cagggtatgt taaggaattc agatctctgc 300

aatatctgct ggaagcccct gccaccaca atcacagtac cgggtggagcc aacagcacca 360

15

ccaccatagg cagactgcac agggtcagac ccgaccccc ggggggcccc catggggacc 420

# ES 2 934 698 T3

ccccgtgggg gaaccccggg ggtgatgcgc cattagtcaa tgtctttgat ctcgactttg	480
tgcttcagtg gcctgcatgt cacccttttc aatctgaact gcccttgggg atctgatatc	540
agcaggtcat ttaaagatct gctgaatgcc accttgaaat ttgagaattc caaccagtca	600
ccaaatttat caagtgaacg gatcaactgc tctttgtgta gatcataaac gaggacaaag	660
tcctcttgct gaaataatat tgtttggat gttgttttta gataaggcca tagttggctt	720
aataaggttt ccacactatc aatgtcctct agtgctccaa ttgccttgac tatgacatcc	780
ccagacaact caactctata tgttgacaac ctttcattac ctctgtaaaa gataccctct	840
ttcaagacaa gaggttctcc tgggttatct ggcccaatga ggtcatatgc atacttgta	900
cttagttcag aataaaagtc accaaagttg aacttaacat ggctcagaat attgtcatca	960
tttgtcgcag cgtagcctgc atcaataaac aagccagcta ggtcaaagct ctcatggcct	1020
gtgaacaatg gtaggctagc gataaccagt gcaccatcca acaatgagtg gcttccctca	1080
gaccagaaa cacattgact cattgcatcc acattcagct ctaattcagg ggtaccgaca	1140
tcatccactc ctagtgaact gacaatgggt taactgtaca ccatctttct tctaagttta	1200
aattttgtcg aaactcgtgt gtgttctact tgaatgatca atttttagttt cacagcttct	1260
tggcaagcaa cattgcgcaa cacagtgtgc aggtccatca tgtcttcctg aggcaacaag	1320
gagatgttgt caacagagac accctcaagg aaaaccttga tattatcaaa gctagaaact	1380
acataacca ttgcaatgct ttcaacaaac attgctcttg atactttatt attcctaact	1440
gacaaggtaa aatctgtgag ttcagctaga tctacttgac tgtcatcttc tagatctaga	1500
acttcattga accaaaagaa ggatttgaga cacgatgttg acatgactag tgggtttatc	1560
atcgaagata agacaacttg caccatgaag ttcctgcaaa cttgctgtgg gctgatgcca	1620
acttcccaat ttgtatactc tgactgtcta acatgggctg aagcgcaatc actctgtttc	1680
acaatataaa cattattatc tcttactttc aataagtgc ttataatccc taagttttca	1740
ttcatcatgt ctagagccac acagacatct agaaacttga gtcttccact atccaaagat	1800
ctgttcactt gaagatcatt cataaagggt gccaaatgtt cttcaaatag tttggggtaa	1860
tttcttctga tagaatgcaa tacatgggtc atgcctaatt ggtcttctat ctgtcgtact	1920
gctttgggtt taacagccca gaagaaattc ttattacata agaccagagg ggcctgtgga	1980
ctcttaatag cagaaaacac cactcccct aactcacagg catttgtcag caccaaagag	2040
aagtaatccc acaaaattg tttagaaaat tgggttaactt ctttaagtga tttttgacag	2100
taaataactt taggctttct ctacaaaatt ccacaaagac atggcattat tcgagtaaat	2160
atgtccttta tatacagaaa tccgccttta ccacccctaa cacacttact cccatactc	2220
ttacaaaacc caatgaagcc tgaggcaaca gaagactgaa atgcagattt gttgattgac	2280

tctgccaaga tcttcttcac gccttttgtg aaatttcttg acagcctgga ctgtattgtc	2340
cttatcaatg ttggcatctc ttctttctct aacactcttc gacttgtcat gattttggtc	2400
ctcaagacca acctcaagtc cccaaagctc gctaaattga cccatctgta gtctagagtt	2460
tgtctgattt catcttcact acaccggca tattgcagga atccggataa agcctcatcc	2520
cctccctgc ttatcaagtt gataaggttt tcctcaaaga ttttgcctct cttaatgtca	2580
ttgaacactt tcctcgcgca gttccttata aacattgtct ccttatcatc agaaaaata	2640
gcttcaattt tcctctgtag acggtacctt ctagacctat caaccagtc tttgacatct	2700
tgttcttcaa tagctccaaa cggagtctct ctgtatccag agtatctaata caattggttg	2760
actctaattg aaatctttga cactatatga gtgctaacc ctaggcaat acattgatca	2820
caaatttgtt ctatggtctc tgacagtgtt gttggagttt tacacttaac gttgtgtaga	2880
gcagcagaca caaacttggg gagtaaagga gtctcttcac ccatgacaaa aaatcttgac	2940
ttaaactcag caacaaaagt tcctatcaca ctctttgggc tgataaactt gtttaattta	3000
gaagataaga attcatggaa gcacaccatt tcacgagtt ctgtcctgtc ttgaaacttt	3060
tcactactaa ggcaaggaat ttttataagg ctaacctggg catcgctgga ggtataagtg	3120
acaggtatca catcatacaa taagtcaagt gcataacaca gaaattgttc agtaattagc	3180
ccatataaat ctgatgtgtt gtgcaagatt ccctggccca tgtccaagac agacattata	3240
tggctgggga cctggtccct tgactgcaga tactggtgaa aaaactcttc accaacacta	3300
gtacagtcac aaccatttaa acctaaagat ctcttcaatt tccctacaca gtaggcttct	3360
gcaacattaa ttggaacttc aacgacctta tgaagatgcc atttgagaat gttcattact	3420
ggttcaagat tcacctttgt tctatctctg ggattcttca attctaattg gtacaaaaaa	3480
gaaaggaaaa gtgctgggct catagttggg cccatttgg agtggtcata tgaacaggac	3540
aagtcacat tggttaacagc ctttttcata tcacagattg caggttcgaa ttccctttct	3600
gaattcaagc atgtgtatct cattgaacta cccacagctt ctgagaagtc ttcaactaac	3660
ctggtcatca gcttagtggt gaggtctccc acatacagtt ctctatttga gccaacctgc	3720
tccttataac ttagtccaaa tttcaagttc cctgtatttg agctgatgct tgtgaactct	3780
gtaggagagt cgtctgaata gaaacataaa ttccgtaggg ctgcatttgt aaaataactt	3840
ttgtctagct tatcagcaat ggcttcagaa ttgctttccc tggtaactaag ccgaacctca	3900
tccttttagtc tcagaacttc actgaaaaag cccaatctag atctacttct atgtcataa	3960
ctaccaat tctgatcata atgtccttga attaaaagat acttgaagca ttcaaagaat	4020
tcactctctt ggtaggctat tgttgcataa ttttttaata acaaaccctaa agggcagatg	4080
tcctcgggtg cttcaagaaa ataagtcaat ttaaatggag atagataaac agcatcacat	4140
aactctttat acacatcaga cctgagcaca tctggatcaa aatccttcac ctcatgcatt	4200

# ES 2 934 698 T3

gacacctctg ctttaatctc tctcaacact ccaaaagggg cccacaatga ctcaagagac	4260
tctcgcctcat caacagatgg attttttgat ttcaacttgg tgatctcaac ttttgtcccc	4320
tcactattag ccatcttggc tagtgctcatt tgtacgtcat ttctaatacc ctcaaaggcc	4380
cttacttgat cctctgttaa actctcatac atcactgata attcttcttg attggttctg	4440
gttcttgaac cggtgctcac aagacctgtt agatttttta atattaagta gtccatggaa	4500
tcaggatcaa gattatacct gccttttggt ttaaacctct cagccatagt agaaacgcat	4560
gttgaacaa gtttctcctt atcataaaca gaaagaatat ttccaagtgc gtcgagcttg	4620
gggattacca cacttttatt gcttgacaga tccagagctg tgctagtgat gttaggcctg	4680
tagggattgc ttttcagttc acctgtaact ttaagtcttc ctctattgaa gagagaaatg	4740
cagaaggaca aaatctcttt acacactcct ggaatttgag tatctgagga agtcttagcc	4800
tctttggaaa agaactctgtc caatcctctt atcatggtgt cctcttggtc cagtgttaga	4860
ctcccactta gaggggggtt tacaacaaca caatcaaact tgactttggg ctcaataaac	4920
ttctcaaac actttatttg atctgtcagg cgatcaggtg tctctttggt taccaagtga	4980
cacagataac taacatttaa tagatattta aaccttcttg caaagtaaag atctgcatct	5040
tccccttcac ccaaaattgt ctggaaaagt tccacagcca tcctctgaat cagcacctct	5100
gatccagaca tgcagtcgac ccttaacttt gacatcaaat ccacatgatg gatttgattt	5160
gcatatgcca tcaagaaata tcttagacct tgtaaaaatg tctggttcct tttggaaggg	5220
gaacagagta cagctaacac taacaatctt aatattggcc ttgtcattgt catgagttcg	5280
tggctaaaat ccaaccagct ggtcatttcc tcacacattt caattaacac atcctccgaa	5340
aatataggca ggaaaaatct ctttgatca cagtaaaaag agccttggtc ttccaatacc	5400
ccattgatgg atagatagat agaatagcac cttgacttct cacctgtttt ttggtaaaac	5460
aagagaccaa atgtattctt tgtcagatga aatctttgta cataaacactc tcttagtcta	5520
acattcccaa aatatctaga atactctctt tcattgatta acaatcgga ggaaaatgat	5580
gtcttcatcg agttgaccaa tgcaagggaa atggaggaca aaatcctaaa taatttcttc	5640
tgctcacctt cactaagct gctgaatggc tgatgtctac agattttctc aaattccttg	5700
ttaatagtat atctcatcac tggctctgtca gaaacaagt cctgagctaa aatcatcaag	5760
ctatccatat caggggtgtt tattagtttt tccagctgtg accagagatc ttgatgagag	5820
ttcttcaatg ttctggaaca cgcttgaacc cacttggggc tggcatcaa tttcttctt	5880
attagtttaa tcgcctccag aatatctaga agtctgtcat tgactaacat taacatttgt	5940
ccaacaacta ttccgcgatt tcttaacctt acaattgcat catcatgcgt tttgaaaaga	6000
tcacaaaagta aattgagtaa aactaagtcc agaaacagta aagtgttct cctggtgttg	6060

# ES 2 934 698 T3

```

aaaactttta gacctttcac tttgttacac acggaagggt cttgaagata acacctctct 6120
acagcatcaa tagatataga attctcatct gactggcttt ccatgttgac ttcactctatt 6180
ggatgcaatg cgatagagta gactacatcc atcaacttgt ttgcacaaaa agggcagctg 6240
ggcacatcac tgtctttgtg gcttcctaata agatcaagct cttttataag ctttagacttt 6300
tgtgaaaatt tgaatttccc caactgcttg tcaaaaatct ccttcttaaa ccaaacctt 6360
aactttatga gttcttctct tatgacagat tctctaattgt ctctctaac cccaacaaag 6420
agggattcat ttaacctctc atcataaccc aaagaattct ttttcaagca ttcgatgttt 6480
tctaattcca agctctgggt ttttgtgttg gacaaactat ggatcaatcg ctgggtattct 6540
tgttcttcaa tattaatctc ttgcataaat tttgatttct ttaggatgtc gatcagcaac 6600
caccgaactc tttcaacaac ccaatcagca aggaatctat tgctgtagct agatctgcca 6660
tcaaccacag gaaccaacgt aatccctgcc cttagtaggt cggacttttag gtttaagagc 6720
tttgacatgt cactcttcca ttttctctca aactcatcag gattgaccct aacaaagggt 6780
tccaatagga tgagtgtttt ccctgtgagt ttgaagccat ccggaatgac ttttggaagg 6840
gtgggacata gtatgccata gtcagacagg atcacatcaa caaacttctg atctgaattg 6900
atctgacagg cgtgtgcctc acaggactca agctctacta aacttgacag aagtttgaac 6960
ccttccaaca acagagagct ggggtgatgt tgagataaaa agatgtccct ttggtatgct 7020
agctcctgtc tttctggaaa atgctttcta ataaggcttt ttatttcatt tactgattcc 7080
tccatgctca agtgccgcct aggatcctcg gtgcg 7115

```

<210> 20  
 <211> 3411  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia Artificial

<220>  
 <223> Virus Junín Candid No. 1 Segmento S

```

<400> 20
gcgcaccggg gatcctaggc gattttgggt acgctataat tgtaactgtt ttctgtttgg 60
acaacatcaa aaacatccat tgcacaatgg ggcagttcat tagcttcatg caagaaatac 120
caaccttttt gcaggaggct ctgaacattg ctcttgttgc agtcagtctc attgccatca 180
ttaagggtat agtgaacttg taaaaaagtg gtttattcca attctttgta ttcctagcgc 240
ttgcaggaag atcctgcaca gaagaagctt tcaaaatcgg actgcacact gagttccaga 300
ctgtgtcctt ctcaatgggt ggtctctttt ccaacaatcc acatgacctc cctttgttgt 360
gtaccttaaa caagagccat ctttacatta aggggggcaa tgcttcattt cagatcagct 420
ttgatgatat tgcagtattg ttgccacagt atgatgttat aatacaacat ccagcagata 480
tgagctggtg ttccaaaagt gatgatcaaa tttggtgtgc tcagtgggtc atgaatgctg 540

```



# ES 2 934 698 T3

tgggacatga ttggcatcta gaccacccat ttctgtgtag gaaccgtgca aagacagaag	600
gcttcatctt tcaagtcaac acctccaaga ctgggtgtcaa tggaaattat gctaagaagt	660
ttaagactgg catgcatcat ttatatagag aatatcctga cccttgcttg aatggcaaac	720
tgtgcttaat gaaggcacia cctaccagt ttgcctctcca atgtccactc gaccacgtta	780
acacattaca ctctcttaca agaggtaaaa acattcaact tccaaggagg tccttgaaag	840
cattcttctc ctggctcttg acagactcat ccggcaagga tacccttgga ggctattgtc	900
tagaagagtg gatgctcgtg gcagccaaaa tgaagtgttt tggcaatact gctgtagcaa	960
aatgcaattt gaatcatgac tctgaattct gtgacatgtt gaggtctttt gattacaaca	1020
aaaatgctat caaaacccta aatgatgaaa ctaagaaaca agtaaactctg atggggcaga	1080
caatcaatgc cctgatatct gacaatttat tgatgaaaaa caaaattagg gaactgatga	1140
gtgtccctta ctgcaattac acaaaatttt ggtatgtcaa ccacacactt tcaggacaac	1200
actcattacc aagggtgctgg ttaataaaaa acaacagcta tttgaacatc tctgacttcc	1260
gtaatgactg gatattagaa agtgacttct taatttctga aatgctaagc aaagagtatt	1320
cggacaggca gggtaaaaact cctttgactt tagttgacat ctgtatttgg agcacagtat	1380
tcttcacagc gtcactcttc ctctacttgg tgggtatacc ctcccacaga cacatcaggg	1440
gcgaagcatg ccctttgcca cacaggttga acagcttggg tgggtgcaga tgtggttaagt	1500
accccaatct aaagaaacca acagtttggc gtagaggaca ctaagacctc ctgagggtcc	1560
ccaccagccc gggcactgcc cgggctggtg tggccccca gtccgcggcc tggccgcgga	1620
ctggggaggc actgcttaca gtgcataggc tgccttcggg aggaacagca agctcgggtg	1680
taatagaggt gtaggttcct cctcatagag cttcccatct agcactgact gaaacattat	1740
gcagtctagc agagcacagt gtggttcaact ggaggccaac ttgaaggag tatccttttc	1800
cctctttttc ttattgacaa cactccatt gtgatatttg cataagtac catatttctc	1860
ccagacctgt tgatcaaact gcctggcttg ttcagatgtg agcttaacat caaccagttt	1920
aagatctctt ctcccatgga ggtcaaacia cttcctgatg tcatcggtac cttgagtagt	1980
cacaaccatg tctggaggca gcaagccgat cacgtaacta agaactcctg gcattgcac	2040
ttctatgtcc ttcattaaga tgccgtgaga gtgtctgcta ccatttttaa accctttctc	2100
atcatgtggt tttctgaagc agtgaatgta ctgcttacct gcagggttga ataatgcat	2160
ctcaacaggg tcagtggctg gtccttcaat gtcgagccaa aggggtgttg tggggtcgag	2220
tttccccact gcctctctga tgacagcttc ttgtatctct gtcaagttag ccaatctcaa	2280
attctgaccg tttttttccg gctgtctagg accagcaact ggtttccttg tcagatcaat	2340
acttgtgttg tcccatgacc tgcctgtgat ttgtgatcta gaaccaatat aaggccaacc	2400

```

atcgccagaa agacaaagtt tgtacaaaag gttttcataa ggattttctat tgcctggttt 2460
ctcatcaata aacatgcctt ctcttcgttt aacctgaatg gttgatttta tgagggaaga 2520
gaagttttct ggggtgactc tgattgtttc caacatgttt ccaccatcaa gaatagatgc 2580
tccagccttt actgcagctg aaagactgaa gttgtaacca gaaatattga tggagctttc 2640
atcttttagtc acaatctgaa ggcagtcatg ttcctgagtc agtctgtcaa ggtcacttaa 2700
gtttggatac ttcacagtgt atagaagccc aagtgaagtt aaagcttgta tgacactgtt 2760
cattgtctca cctccttgaa cagtcatgca tgcaattgtc aatgcaggaa cagagccaaa 2820
ctgattgttt agctttgaag ggtctttaac atcccatatc ctcaccacac catttcccc 2880
agtcccttgc tgttgaaatc ccagtgttct caatatctct gatcttttag caagttgtga 2940
ctgggacaag ttacccatgt aaacccctg agagcctgtc tctgctcttc ttatcttgtt 3000
ttttaatttc tcaaggtcag acgccaaact catcagttca tccctcccca gatctccac 3060
cttgaaaact gtgtttcgtt gaacactcct catggacatg agtctgtcaa cctctttatt 3120
caggccctc aacttggtga ggtcttcttc ccccttttta gtctttctga gtgccgctg 3180
cacctgtgcc acttggttga agtcgatgct gtcagcaatt agcttggcgt ccttcaaaac 3240
atctgacttg acagtctgag tgaattggct caaacctctc cttaaggact gagtccatct 3300
aaagcttgga acctccttgg agtgtgccat gccagaagtt ctggtgattt tgatctagaa 3360
tagagttgct cagtgaaggt gttagacact atgcctagga tccactgtgc g 3411

```

<210> 21

<211> 558

5 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

10 <223> Proteína NP de la cepa Clon 13 de LCMV (GenBank No. de Acceso ABC96002.1; GI:86440166)

<400> 21

```

Met Ser Leu Ser Lys Glu Val Lys Ser Phe Gln Trp Thr Gln Ala Leu
1           5           10           15

```

```

Arg Arg Glu Leu Gln Ser Phe Thr Ser Asp Val Lys Ala Ala Val Ile
          20           25           30

```

```

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

```

```

Asn Val Gln Arg Ile Met Arg Lys Glu Lys Arg Asp Asp Lys Asp Leu
          50           55           60

```

```

Gln Arg Leu Arg Ser Leu Asn Gln Thr Val His Ser Leu Val Asp Leu

```

# ES 2 934 698 T3

65		70		75		80									
Lys	Ser	Thr	Ser	Lys	Lys	Asn	Val	Leu	Lys	Val	Gly	Arg	Leu	Ser	Ala
			85						90					95	
Glu	Glu	Leu	Met	Ser	Leu	Ala	Ala	Asp	Leu	Glu	Lys	Leu	Lys	Ala	Lys
			100					105					110		
Ile	Met	Arg	Ser	Glu	Arg	Pro	Gln	Ala	Ser	Gly	Val	Tyr	Met	Gly	Asn
	115						120					125			
Leu	Thr	Thr	Gln	Gln	Leu	Asp	Gln	Arg	Ser	Gln	Ile	Leu	Gln	Ile	Val
	130						135				140				
Gly	Met	Arg	Lys	Pro	Gln	Gln	Gly	Ala	Ser	Gly	Val	Val	Arg	Val	Trp
145					150					155					160
Asp	Val	Lys	Asp	Ser	Ser	Leu	Leu	Asn	Asn	Gln	Phe	Gly	Thr	Met	Pro
			165						170					175	
Ser	Leu	Thr	Met	Ala	Cys	Met	Ala	Lys	Gln	Ser	Gln	Thr	Pro	Leu	Asn
			180					185					190		
Asp	Val	Val	Gln	Ala	Leu	Thr	Asp	Leu	Gly	Leu	Leu	Tyr	Thr	Val	Lys
		195					200					205			
Tyr	Pro	Asn	Leu	Asn	Asp	Leu	Glu	Arg	Leu	Lys	Asp	Lys	His	Pro	Val
	210					215					220				
Leu	Gly	Val	Ile	Thr	Glu	Gln	Gln	Ser	Ser	Ile	Asn	Ile	Ser	Gly	Tyr
225					230					235					240
Asn	Phe	Ser	Leu	Gly	Ala	Ala	Val	Lys	Ala	Gly	Ala	Ala	Leu	Leu	Asp
				245					250					255	
Gly	Gly	Asn	Met	Leu	Glu	Ser	Ile	Leu	Ile	Lys	Pro	Ser	Asn	Ser	Glu
			260					265					270		
Asp	Leu	Leu	Lys	Ala	Val	Leu	Gly	Ala	Lys	Arg	Lys	Leu	Asn	Met	Phe
	275						280					285			
Val	Ser	Asp	Gln	Val	Gly	Asp	Arg	Asn	Pro	Tyr	Glu	Asn	Ile	Leu	Tyr
	290					295					300				
Lys	Val	Cys	Leu	Ser	Gly	Glu	Gly	Trp	Pro	Tyr	Ile	Ala	Cys	Arg	Thr
305					310					315					320

# ES 2 934 698 T3

Ser Ile Val Gly Arg Ala Trp Glu Asn Thr Thr Ile Asp Leu Thr Ser  
325 330 335

Glu Lys Pro Ala Val Asn Ser Pro Arg Pro Ala Pro Gly Ala Ala Gly  
340 345 350

Pro Pro Gln Val Gly Leu Ser Tyr Ser Gln Thr Met Leu Leu Lys Asp  
355 360 365

Leu Met Gly Gly Ile Asp Pro Asn Ala Pro Thr Trp Ile Asp Ile Glu  
370 375 380

Gly Arg Phe Asn Asp Pro Val Glu Ile Ala Ile Phe Gln Pro Gln Asn  
385 390 395 400

Gly Gln Phe Ile His Phe Tyr Arg Glu Pro Val Asp Gln Lys Gln Phe  
405 410 415

Lys Gln Asp Ser Lys Tyr Ser His Gly Met Asp Leu Ala Asp Leu Phe  
420 425 430

Asn Ala Gln Pro Gly Leu Thr Ser Ser Val Ile Gly Ala Leu Pro Gln  
435 440 445

Gly Met Val Leu Ser Cys Gln Gly Ser Asp Asp Ile Arg Lys Leu Leu  
450 455 460

Asp Ser Gln Asn Arg Lys Asp Ile Lys Leu Ile Asp Val Glu Met Thr  
465 470 475 480

Arg Glu Ala Ser Arg Glu Tyr Glu Asp Lys Val Trp Asp Lys Tyr Gly  
485 490 495

Trp Leu Cys Lys Met His Thr Gly Ile Val Arg Asp Lys Lys Lys Lys  
500 505 510

Glu Ile Thr Pro His Cys Ala Leu Met Asp Cys Ile Ile Phe Glu Ser  
515 520 525

Ala Ser Lys Ala Arg Leu Pro Asp Leu Lys Thr Val His Asn Ile Leu  
530 535 540

Pro His Asp Leu Ile Phe Arg Gly Pro Asn Val Val Thr Leu  
545 550 555

<210> 22

<211> 498

5 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

10 <223> Proteína GP de la cepa Clon 13 de LCMV (GenBank No. de Acceso ABC96001.2; GI:116563462)

<400> 22

# ES 2 934 698 T3

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

# ES 2 934 698 T3

Tyr Gln Tyr Leu Ile Ile Gln Asn Arg Thr Trp Glu Asn His Cys Thr  
 225 230 235 240  
 Tyr Ala Gly Pro Phe Gly Met Ser Arg Ile Leu Leu Ser Gln Glu Lys  
 245 250 255  
 Thr Lys Phe Leu Thr Arg Arg Leu Ala Gly Thr Phe Thr Trp Thr Leu  
 260 265 270  
 Ser Asp Ser Ser Gly Val Glu Asn Pro Gly Gly Tyr Cys Leu Thr Lys  
 275 280 285  
 Trp Met Ile Leu Ala Ala Glu Leu Lys Cys Phe Gly Asn Thr Ala Val  
 290 295 300  
 Ala Lys Cys Asn Val Asn His Asp Glu Glu Phe Cys Asp Met Leu Arg  
 305 310 315 320  
 Leu Ile Asp Tyr Asn Lys Ala Ala Leu Ser Lys Phe Lys Glu Asp Val  
 325 330 335  
 Glu Ser Ala Leu His Leu Phe Lys Thr Thr Val Asn Ser Leu Ile Ser  
 340 345 350  
 Asp Gln Leu Leu Met Arg Asn His Leu Arg Asp Leu Met Gly Val Pro  
 355 360 365  
 Tyr Cys Asn Tyr Ser Lys Phe Trp Tyr Leu Glu His Ala Lys Thr Gly  
 370 375 380  
 Glu Thr Ser Val Pro Lys Cys Trp Leu Val Thr Asn Gly Ser Tyr Leu  
 385 390 395 400  
 Asn Glu Thr His Phe Ser Asp Gln Ile Glu Gln Glu Ala Asp Asn Met  
 405 410 415  
 Ile Thr Glu Met Leu Arg Lys Asp Tyr Ile Lys Arg Gln Gly Ser Thr  
 420 425 430  
 Pro Leu Ala Leu Met Asp Leu Leu Met Phe Ser Thr Ser Ala Tyr Leu  
 435 440 445  
 Val Ser Ile Phe Leu His Leu Val Lys Ile Pro Thr His Arg His Ile  
 450 455 460  
 Lys Gly Gly Ser Cys Pro Lys Pro His Arg Leu Thr Asn Lys Gly Ile  
 465 470 475 480  
 Cys Ser Cys Gly Ala Phe Lys Val Pro Gly Val Lys Thr Val Trp Lys  
 485 490 495

Arg Arg

<210> 23

<211> 2210

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Proteína L de la cepa Clon 13 de LCMV (GenBank No. de Acceso ABC96004.1; GI:86440169)

5

&lt;400&gt; 23

Met Asp Glu Ile Ile Ser Glu Leu Arg Glu Leu Cys Leu Asn Tyr Ile  
 1 5 10 15

Glu Gln Asp Glu Arg Leu Ser Arg Gln Lys Leu Asn Phe Leu Gly Gln  
 20 25 30

Arg Glu Pro Arg Met Val Leu Ile Glu Gly Leu Lys Leu Leu Ser Arg  
 35 40 45

Cys Ile Glu Ile Asp Ser Ala Asp Lys Ser Gly Cys Thr His Asn His  
 50 55 60

Asp Asp Lys Ser Val Glu Thr Ile Leu Val Glu Ser Gly Ile Val Cys  
 65 70 75 80

Pro Gly Leu Pro Leu Ile Ile Pro Asp Gly Tyr Lys Leu Ile Asp Asn  
 85 90 95

Ser Leu Ile Leu Leu Glu Cys Phe Val Arg Ser Thr Pro Ala Ser Phe  
 100 105 110

Glu Lys Lys Phe Ile Glu Asp Thr Asn Lys Leu Ala Cys Ile Arg Glu  
 115 120 125

Asp Leu Ala Val Ala Gly Val Thr Leu Val Pro Ile Val Asp Gly Arg  
 130 135 140

Cys Asp Tyr Asp Asn Ser Phe Met Pro Glu Trp Ala Asn Phe Lys Phe  
 145 150 155 160

Arg Asp Leu Leu Phe Lys Leu Leu Glu Tyr Ser Asn Gln Asn Glu Lys  
 165 170 175

# ES 2 934 698 T3

Val	Phe	Glu	Glu	Ser	Glu	Tyr	Phe	Arg	Leu	Cys	Glu	Ser	Leu	Lys	Thr	180	185	190	
Thr	Ile	Asp	Lys	Arg	Ser	Gly	Met	Asp	Ser	Met	Lys	Ile	Leu	Lys	Asp	195	200	205	
Ala	Arg	Ser	Thr	His	Asn	Asp	Glu	Ile	Met	Arg	Met	Cys	His	Glu	Gly	210	215	220	
Ile	Asn	Pro	Asn	Met	Ser	Cys	Asp	Asp	Val	Val	Phe	Gly	Ile	Asn	Ser	225	230	235	240
Leu	Phe	Ser	Arg	Phe	Arg	Arg	Asp	Leu	Glu	Ser	Gly	Lys	Leu	Lys	Arg	245	250	255	
Asn	Phe	Gln	Lys	Val	Asn	Pro	Glu	Gly	Leu	Ile	Lys	Glu	Phe	Ser	Glu	260	265	270	
Leu	Tyr	Glu	Asn	Leu	Ala	Asp	Ser	Asp	Asp	Ile	Leu	Thr	Leu	Ser	Arg	275	280	285	
Glu	Ala	Val	Glu	Ser	Cys	Pro	Leu	Met	Arg	Phe	Ile	Thr	Ala	Glu	Thr	290	295	300	
His	Gly	His	Glu	Arg	Gly	Ser	Glu	Thr	Ser	Thr	Glu	Tyr	Glu	Arg	Leu	305	310	315	320
Leu	Ser	Met	Leu	Asn	Lys	Val	Lys	Ser	Leu	Lys	Leu	Leu	Asn	Thr	Arg	325	330	335	
Arg	Arg	Gln	Leu	Leu	Asn	Leu	Asp	Val	Leu	Cys	Leu	Ser	Ser	Leu	Ile	340	345	350	
Lys	Gln	Ser	Lys	Phe	Lys	Gly	Leu	Lys	Asn	Asp	Lys	His	Trp	Val	Gly	355	360	365	
Cys	Cys	Tyr	Ser	Ser	Val	Asn	Asp	Arg	Leu	Val	Ser	Phe	His	Ser	Thr	370	375	380	
Lys	Glu	Glu	Phe	Ile	Arg	Leu	Leu	Arg	Asn	Arg	Lys	Lys	Ser	Lys	Val	385	390	395	400
Phe	Arg	Lys	Val	Ser	Phe	Glu	Glu	Leu	Phe	Arg	Ala	Ser	Ile	Ser	Glu	405	410	415	
Phe	Ile	Ala	Lys	Ile	Gln	Lys	Cys	Leu	Leu	Val	Val	Gly	Leu	Ser	Phe				



# ES 2 934 698 T3

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

# ES 2 934 698 T3

Lys Thr Ile Phe Gly Thr Gly Glu Lys Val Leu Leu Ser Ala Lys Phe  
 675 680 685  
 Lys Phe Met Leu Asn Val Ser Tyr Leu Cys His Leu Ile Thr Lys Glu  
 690 695 700  
 Thr Pro Asp Arg Leu Thr Asp Gln Ile Lys Cys Phe Glu Lys Phe Phe  
 705 710 715 720  
 Glu Pro Lys Ser Gln Phe Gly Phe Phe Val Asn Pro Lys Glu Ala Ile  
 725 730 735  
 Thr Pro Glu Glu Glu Cys Val Phe Tyr Glu Gln Met Lys Arg Phe Thr  
 740 745 750  
 Ser Lys Glu Ile Asp Cys Gln His Thr Thr Pro Gly Val Asn Leu Glu  
 755 760 765  
 Ala Phe Ser Leu Met Val Ser Ser Phe Asn Asn Gly Thr Leu Ile Phe  
 770 775 780  
 Lys Gly Glu Lys Lys Leu Asn Ser Leu Asp Pro Met Thr Asn Ser Gly  
 785 790 795 800  
 Cys Ala Thr Ala Leu Asp Leu Ala Ser Asn Lys Ser Val Val Val Asn  
 805 810 815  
 Lys His Leu Asn Gly Glu Arg Leu Leu Glu Tyr Asp Phe Asn Lys Leu  
 820 825 830  
 Leu Val Ser Ala Val Ser Gln Ile Thr Glu Ser Phe Val Arg Lys Gln  
 835 840 845  
 Lys Tyr Lys Leu Ser His Ser Asp Tyr Glu Tyr Lys Val Ser Lys Leu  
 850 855 860  
 Val Ser Arg Leu Val Ile Gly Ser Lys Gly Glu Glu Thr Gly Arg Ser  
 865 870 875 880  
 Glu Asp Asn Leu Ala Glu Ile Cys Phe Asp Gly Glu Glu Glu Thr Ser  
 885 890 895  
 Phe Phe Lys Ser Leu Glu Glu Lys Val Asn Thr Thr Ile Ala Arg Tyr  
 900 905 910  
 Arg Arg Gly Arg Arg Ala Asn Asp Lys Gly Asp Gly Glu Lys Leu Thr  
 915 920 925

# ES 2 934 698 T3

Asn Thr Lys Gly Leu His His Leu Gln Leu Ile Leu Thr Gly Lys Met		
930	935	940
Ala His Leu Arg Lys Val Ile Leu Ser Glu Ile Ser Phe His Leu Val		
945	950	955 960
Glu Asp Phe Asp Pro Ser Cys Leu Thr Asn Asp Asp Met Lys Phe Ile		
	965	970 975
Cys Glu Ala Val Glu Gly Ser Thr Glu Leu Ser Pro Leu Tyr Phe Thr		
	980	985 990
Ser Val Ile Lys Asp Gln Cys Gly Leu Asp Glu Met Ala Lys Asn Leu		
	995	1000 1005
Cys Arg Lys Phe Phe Ser Glu Asn Asp Trp Phe Ser Cys Met Lys		
1010	1015	1020
Met Ile Leu Leu Gln Met Asn Ala Asn Ala Tyr Ser Gly Lys Tyr		
1025	1030	1035
Arg His Met Gln Arg Gln Gly Leu Asn Phe Lys Phe Asp Trp Asp		
1040	1045	1050
Lys Leu Glu Glu Asp Val Arg Ile Ser Glu Arg Glu Ser Asn Ser		
1055	1060	1065
Glu Ser Leu Ser Lys Ala Leu Ser Leu Thr Gln Cys Met Ser Ala		
1070	1075	1080
Ala Leu Lys Asn Leu Cys Phe Tyr Ser Glu Glu Ser Pro Thr Ser		
1085	1090	1095
Tyr Thr Ser Val Gly Pro Asp Ser Gly Arg Leu Lys Phe Ala Leu		
1100	1105	1110
Ser Tyr Lys Glu Gln Val Gly Gly Asn Arg Glu Leu Tyr Ile Gly		
1115	1120	1125
Asp Leu Arg Thr Lys Met Phe Thr Arg Leu Ile Glu Asp Tyr Phe		
1130	1135	1140
Glu Ser Phe Ser Ser Phe Phe Ser Gly Ser Cys Leu Asn Asn Asp		
1145	1150	1155
Lys Glu Phe Glu Asn Ala Ile Leu Ser Met Thr Ile Asn Val Arg		
1160	1165	1170

# ES 2 934 698 T3

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

# ES 2 934 698 T3

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

# ES 2 934 698 T3

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

# ES 2 934 698 T3

Pro	Phe	Gln	Ser	Phe	Val	Ser	Lys	Val	Val	Asn	Lys	Asn	Val	Glu
1880						1885					1890			
Arg	Pro	Met	Phe	Arg	Asn	Asp	Leu	Gln	Phe	Gly	Phe	Gly	Trp	Phe
1895						1900					1905			
Ser	Tyr	Arg	Met	Gly	Asp	Val	Val	Cys	Asn	Ala	Ala	Met	Leu	Ile
1910						1915					1920			
Arg	Gln	Gly	Leu	Thr	Asn	Pro	Lys	Ala	Phe	Lys	Ser	Leu	Lys	Asp
1925						1930					1935			
Leu	Trp	Asp	Tyr	Met	Leu	Asn	Tyr	Thr	Lys	Gly	Val	Leu	Glu	Phe
1940						1945					1950			
Ser	Ile	Ser	Val	Asp	Phe	Thr	His	Asn	Gln	Asn	Asn	Thr	Asp	Cys
1955						1960					1965			
Leu	Arg	Lys	Phe	Ser	Leu	Ile	Phe	Leu	Val	Arg	Cys	Gln	Leu	Gln
1970						1975					1980			
Asn	Pro	Gly	Val	Ala	Glu	Leu	Leu	Ser	Cys	Ser	His	Leu	Phe	Lys
1985						1990					1995			
Gly	Glu	Ile	Asp	Arg	Arg	Met	Leu	Asp	Glu	Cys	Leu	His	Leu	Leu
2000						2005					2010			
Arg	Thr	Asp	Ser	Val	Phe	Lys	Val	Asn	Asp	Gly	Val	Phe	Asp	Ile
2015						2020					2025			
Arg	Ser	Glu	Glu	Phe	Glu	Asp	Tyr	Met	Glu	Asp	Pro	Leu	Ile	Leu
2030						2035					2040			
Gly	Asp	Ser	Leu	Glu	Leu	Glu	Leu	Leu	Gly	Ser	Lys	Arg	Ile	Leu
2045						2050					2055			
Asp	Gly	Ile	Arg	Ser	Ile	Asp	Phe	Glu	Arg	Val	Gly	Pro	Glu	Trp
2060						2065					2070			
Glu	Pro	Val	Pro	Leu	Thr	Val	Lys	Met	Gly	Ala	Leu	Phe	Glu	Gly
2075						2080					2085			
Arg	Asn	Leu	Val	Gln	Asn	Ile	Ile	Val	Lys	Leu	Glu	Thr	Lys	Asp
2090						2095					2100			
Met	Lys	Val	Phe	Leu	Ala	Gly	Leu	Glu	Gly	Tyr	Glu	Lys	Ile	Ser
2105						2110					2115			

# ES 2 934 698 T3

Asp Val Leu Gly Asn Leu Phe Leu His Arg Phe Arg Thr Gly Glu  
2120 2125 2130

His Leu Leu Gly Ser Glu Ile Ser Val Ile Leu Gln Glu Leu Cys  
2135 2140 2145

Ile Asp Arg Ser Ile Leu Leu Ile Pro Leu Ser Leu Leu Pro Asp  
2150 2155 2160

Trp Phe Ala Phe Lys Asp Cys Arg Leu Cys Phe Ser Lys Ser Arg  
2165 2170 2175

Ser Thr Leu Met Tyr Glu Thr Val Gly Gly Arg Phe Arg Leu Lys  
2180 2185 2190

Gly Arg Ser Cys Asp Asp Trp Leu Gly Gly Ser Val Ala Glu Asp  
2195 2200 2205

Ile Asp  
2210

<210> 24

<211> 90

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Proteína Z de la cepa Clon 13 de LCMV (GenBank

No. de Acceso. ABC96003.1; GI:86440168)

<400> 24

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

Arg Ala Glu Ile Leu Pro Asp Thr Thr Tyr Leu Gly Pro Leu Ser Cys  
20 25 30

Lys Ser Cys Trp Gln Lys Phe Asp Ser Leu Val Arg Cys His Asp His  
35 40 45

Tyr Leu Cys Arg His Cys Leu Asn Leu Leu Leu Ser Val Ser Asp Arg  
50 55 60

Cys Pro Leu Cys Lys Tyr Pro Leu Pro Thr Arg Leu Lys Ile Ser Thr  
65 70 75 80

Ala Pro Ser Ser Pro Pro Pro Tyr Glu Glu  
85 90

<210> 25

<211> 498

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Proteína GP de la cepa WE de LCMV

<400> 25



# ES 2 934 698 T3

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

# ES 2 934 698 T3

Gly Trp Ala Gly Ser Asp Gly Lys Thr Thr Trp Cys Ser Gln Thr Ser  
 210 215 220  
 Tyr Gln Tyr Leu Ile Ile Gln Asn Arg Thr Trp Glu Asn His Cys Arg  
 225 230 235 240  
 Tyr Ala Gly Pro Phe Gly Met Ser Arg Ile Leu Phe Ala Gln Glu Lys  
 245 250 255  
 Thr Lys Phe Leu Thr Arg Arg Leu Ala Gly Thr Phe Thr Trp Thr Leu  
 260 265 270  
 Ser Asp Ser Ser Gly Val Glu Asn Pro Gly Gly Tyr Cys Leu Thr Lys  
 275 280 285  
 Trp Met Ile Leu Ala Ala Glu Leu Lys Cys Phe Gly Asn Thr Ala Val  
 290 295 300  
 Ala Lys Cys Asn Val Asn His Asp Glu Glu Phe Cys Asp Met Leu Arg  
 305 310 315 320  
 Leu Ile Asp Tyr Asn Lys Ala Ala Leu Ser Lys Phe Lys Gln Asp Val  
 325 330 335  
 Glu Ser Ala Leu His Val Phe Lys Thr Thr Val Asn Ser Leu Ile Ser  
 340 345 350  
 Asp Gln Leu Leu Met Arg Asn His Leu Arg Asp Leu Met Gly Val Pro  
 355 360 365  
 Tyr Cys Asn Tyr Ser Lys Phe Trp Tyr Leu Glu His Ala Lys Thr Gly  
 370 375 380  
 Glu Thr Ser Val Pro Lys Cys Trp Leu Val Thr Asn Gly Ser Tyr Leu  
 385 390 395 400  
 Asn Glu Thr His Phe Ser Asp Gln Ile Glu Gln Glu Ala Asp Asn Met  
 405 410 415  
 Ile Thr Glu Met Leu Arg Lys Asp Tyr Ile Lys Arg Gln Gly Ser Thr  
 420 425 430  
 Pro Leu Ala Leu Met Asp Leu Leu Met Phe Ser Thr Ser Ala Tyr Leu  
 435 440 445  
 Ile Ser Ile Phe Leu His Leu Val Lys Ile Pro Thr His Arg His Ile  
 450 455 460  
 Lys Gly Gly Ser Cys Pro Lys Pro His Arg Leu Thr Asn Lys Gly Ile  
 465 470 475 480  
 Cys Ser Cys Gly Ala Phe Lys Val Pro Gly Val Lys Thr Ile Trp Lys  
 485 490 495

Arg Arg

<210> 26

<211> 450

<212> ADN  
<213> Secuencia Artificial

<220>

5 <223> Antígeno HBe del HBV (GenBank No. de Acceso E15688.1; GI: 5710371)

<400> 26

atggacattg acacgtataa agaatttgga gctactgtgg agttactctc gtttttgcct	60
tctgacttct ttccttccgt cagagatctc ctagacaccg cctcagctct gtatcgagaa	120
gccttagagt ctccctgagca ttgctcacct caccatactg cactcaggca agccattctc	180
tgctgggggg aattgatgac tctagctacc tgggtgggta ataatttgga agatccagca	240
tccagggatc tagtagtcaa ttatgttaat actaacaagg gtttaaagat caggcaacta	300
ttgtggtttc atatatcttg ccttactttt ggaagagaga ctgtacttga atatttggtc	360
tctttcggag tgtggattcg cactcctcca gcctatagac caccaaagtc ccctatctta	420
tcaacacttc cggaaactac tggtgtttaa	450

**REIVINDICACIONES**

1. Un vector viral de arnavirus infeccioso, en donde un marco de lectura abierto de arnavirus se elimina y se reemplaza por una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en:

a. una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína HBc del HBV o un fragmento antigénico de la misma;

5 b. una secuencia de nucleótidos que codifica una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigénicos de las mismas; y

c. una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma;

en donde el vector viral es capaz de provocar una respuesta de células T contra la proteína HBc del HBV, la fusión de proteínas HBs y HBc del HBV, la proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma.

10 2. El vector viral de la reivindicación 1, en donde

(i) la proteína HBc o el fragmento antigénico de la misma comprende una secuencia de aminoácidos que es 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntico a una secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 2;

15 (ii) la fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o sus fragmentos antigénicos comprende una secuencia de aminoácidos que es 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntico a una secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 3; o

20 (iii) la proteína pre-S2/S o el fragmento antigénico de la misma comprende una secuencia de aminoácidos que es 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntico a una secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO : 1.

3. El vector viral de la reivindicación 1, que comprende al menos dos o al menos tres de:

a. una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína HBc del HBV o un fragmento antigénico de la misma;

25 b. una secuencia de nucleótidos que codifica una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigénicos de las mismas; y

c. una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma;

opcionalmente en donde la expresión de las secuencias de nucleótidos produce un complejo proteico antigénico que provoca títulos más elevados de anticuerpos neutralizantes que la expresión de los componentes del complejo proteico individualmente.

30

4. El vector viral de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el arnavirus es:

(i) virus de la coriomeningitis linfocítica;

(ii) deficiente en replicación y está modificado para contener un genoma con la capacidad de amplificar y expresar su información genética en células infectadas pero incapaz de producir partículas adicionales de progenie infecciosas en células normales, no modificadas genéticamente;

35

(iii) bisegmentado y deficiente en replicación; o

(iv) tri-segmentado y competente para la replicación.

5. El vector viral de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el marco de lectura abierto que codifica la glicoproteína (GP) del arnavirus se elimina o se inactiva funcionalmente.

40 6. El vector viral de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde la información genómica que codifica el vector viral de arnavirus infeccioso se deriva del virus de la coriomeningitis linfocítica o del virus Pichinde.

en donde opcionalmente el virus de la coriomeningitis linfocítica es la cepa Clon 13 del virus de la coriomeningitis linfocítica o la cepa MP del virus de la coriomeningitis linfocítica.

45 7. El vector viral de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde el vector viral comprende un segmento genómico, en donde el segmento genómico comprende:

(i) una secuencia de nucleótidos que es al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, al menos 99% o 100% idéntica a la secuencia de nucleótidos 1639 a 3315 de SEQ ID NO: 11 o nucleótidos 1640 a 3316 de SEQ ID NO: 12; o

5 (ii) una secuencia de nucleótidos que codifica un producto de expresión cuya secuencia de aminoácidos es al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, al menos 99 %, o 100 % idéntica a la secuencia de aminoácidos codificada por los nucleótidos 1639 a 3315 de SEQ ID NO: 11 o los nucleótidos 1640 a 3316 de SEQ ID NO: 12.

8. El vector viral de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde el crecimiento o la infectividad del arnavirus no se ven afectados por la secuencia de nucleótidos.

10 9. El vector viral de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde el arnavirus es un vector viral de arnavirus infeccioso, deficiente en replicación modificado para contener un genoma con la capacidad de amplificar y expresar su información genética en células infectadas, pero incapaz de producir partículas de progenie infecciosas adicionales en células normales, no modificadas genéticamente y en donde la administración del vector viral de arnavirus a un sujeto induce una respuesta inmunitaria de larga duración contra la proteína HBc del HBV, la fusión de proteínas HBs y HBc del HBV, la proteína pre-S2/S del HBV, o un fragmento antigénico de la misma, opcionalmente en donde

15 (i) la respuesta inmunitaria de larga duración induce un título de anticuerpos detectables contra la proteína HBc del HBV, la fusión de proteínas HBs y HBc del HBV, la proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma; o

20 (ii) la respuesta inmunitaria de larga duración induce un título de anticuerpos detectables contra la proteína HBc del HBV, la fusión de proteínas HBs y HBc del HBV, la proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma durante al menos un mínimo de 4 semanas;

opcionalmente en donde la respuesta inmunitaria de larga duración aumenta el título de anticuerpos contra la proteína HBc del HBV, la fusión de proteínas HBs y HBc del HBV, la proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma en al menos 100%, al menos 200%, al menos 300%, al menos 400%, al menos 500% o al menos 1000%.

25 10. Una composición farmacéutica, composición inmunogénica o vacuna que comprende el vector viral de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

11. Un vector viral como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, o una composición farmacéutica, una composición inmunogénica o una vacuna como se define en la reivindicación 10, para uso en un método para tratar o prevenir una infección por el virus de la hepatitis B en un paciente.

30 12. Un ácido nucleico aislado, en donde el ácido nucleico comprende un segmento genómico de arnavirus, en donde se elimina o inactiva funcionalmente un marco de lectura abierto del segmento genómico y en donde el segmento genómico comprende uno o más de:

a. una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína HBc del HBV o un fragmento antigénico de la misma;

35 b. una secuencia de nucleótidos que codifica una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigénicos de las mismas; o

c. una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma;

en donde un vector viral que comprende el segmento genómico de arnavirus es capaz de provocar una respuesta de células T contra la proteína HBc del HBV, la fusión de proteínas HBs y HBc del HBV, la proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma; opcionalmente, en donde el segmento genómico es el segmento corto, en donde se elimina el marco de lectura abierto que codifica la glicoproteína (GP).

40

13. Un ADNc del segmento genómico de arnavirus como se define en la reivindicación 12.

14. Un método *in vitro* para generar un vector viral de arnavirus infeccioso, deficiente en replicación que comprende:

a. transfectar en una célula huésped el ADNc de la reivindicación 13;

b. mantener la célula huésped bajo condiciones adecuadas para la formación de virus; y

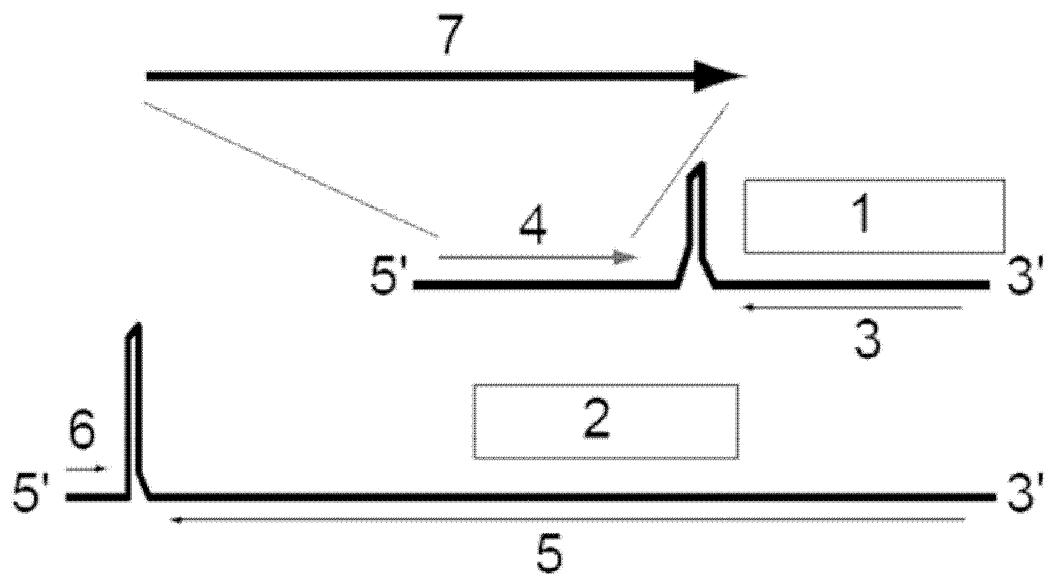
45 c. recolectar el vector viral arnavirus infeccioso, deficiente en replicación;

en donde la célula huésped expresa el marco de lectura abierto del segmento genómico que se elimina o inactiva funcionalmente;

opcionalmente en donde el método comprende además en la etapa a. transfectar en la célula huésped: un ADNc de un segundo segmento genómico de arnavirus, un ácido nucleico que comprende el ORF de proteína L y/o un ácido nucleico que comprende el ORF de NP.

50

15. Una composición farmacéutica que comprende un primer vector viral de arenavirus infeccioso, deficiente en replicación modificado para contener un genoma con la capacidad de amplificar y expresar su información genética en células infectadas pero incapaz de producir partículas de progenie infecciosas adicionales en células normales, no modificadas genéticamente, en donde un marco de lectura abierto de arenavirus se elimina y se reemplaza por una primera secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en:
- a. una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína HBc del HBV o un fragmento antigénico de la misma;
  - b. una secuencia de nucleótidos que codifica una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigénicos de las mismas; y
  - c. una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma;
- y un segundo vector viral de arenavirus infeccioso, deficiente en replicación, modificado para contener un genoma con la capacidad de amplificar y expresar su información genética en células infectadas pero incapaz de producir partículas de progenie infecciosas adicionales en células normales, no modificadas genéticamente, en donde un marco de lectura abierta de arenavirus se elimina y se reemplaza por una segunda secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en:
- a. una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína HBc del HBV o un fragmento antigénico de la misma;
  - b. una secuencia de nucleótidos que codifica una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigénicos de las mismas; y
  - c. una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma;
- en donde la primera y la segunda secuencia de nucleótidos son diferentes; en donde el primer vector viral y el segundo vector viral son capaces de provocar una respuesta de células T contra la proteína HBc del HBV, la fusión de proteínas HBs y HBc del HBV, la proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma.
16. El vector viral de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, o la composición farmacéutica, composición inmunogénica o vacuna de la reivindicación 10, o la composición farmacéutica de la reivindicación 15, en donde el vector viral, composición farmacéutica, composición inmunogénica o vacuna son adecuados para administración intramuscular o administración intravenosa.



**Fig. 1**

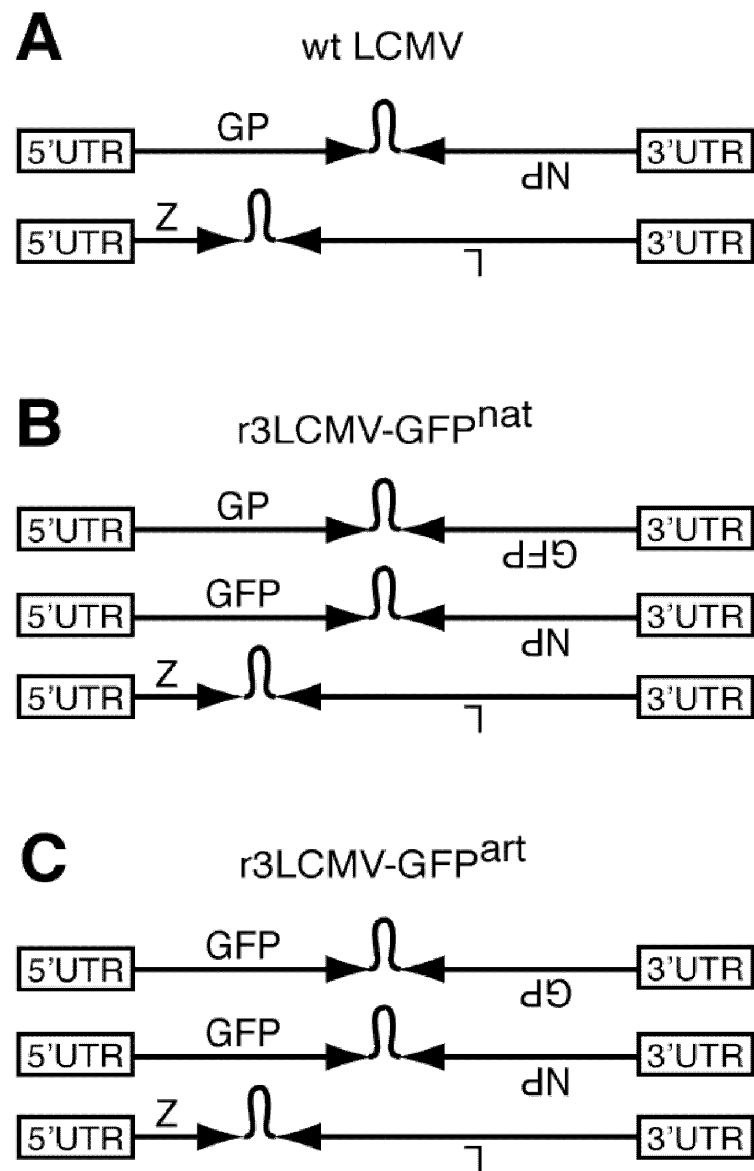


Fig. 2A- 2C



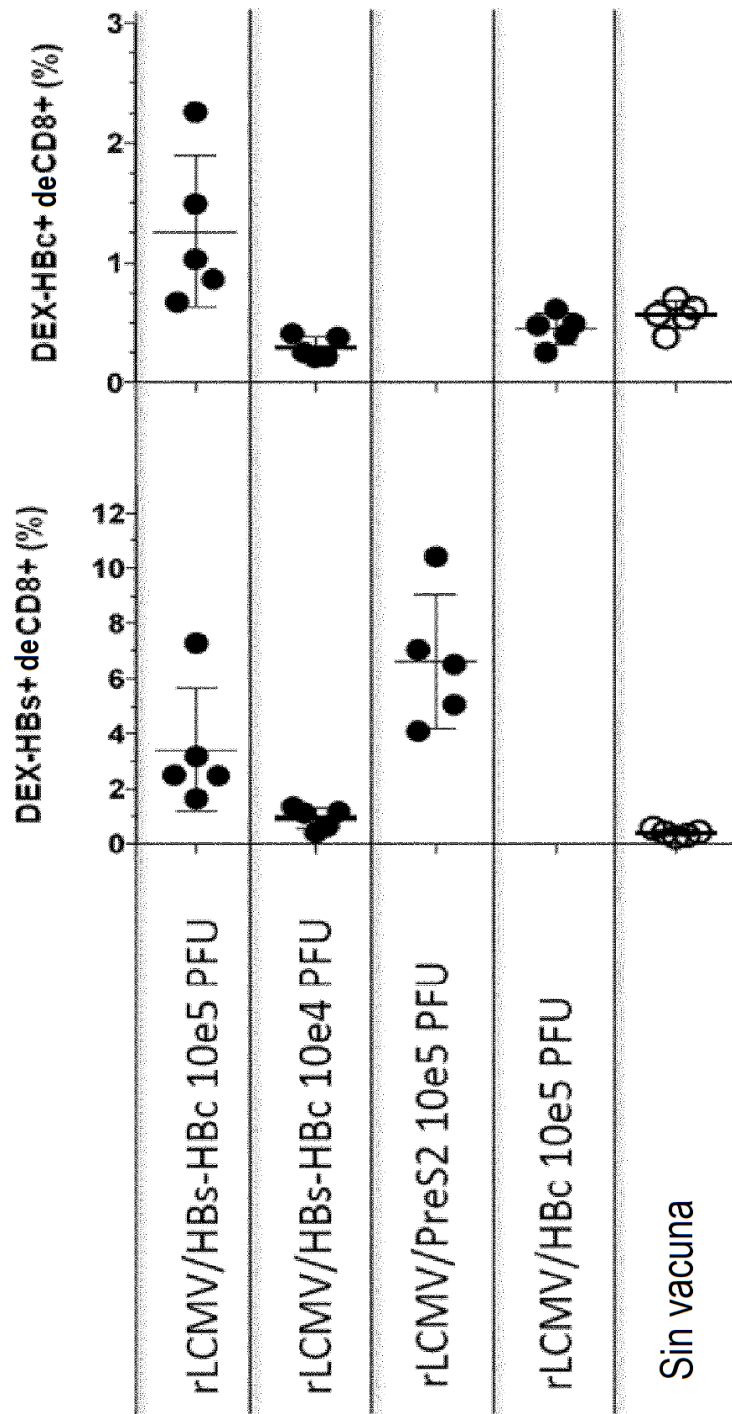
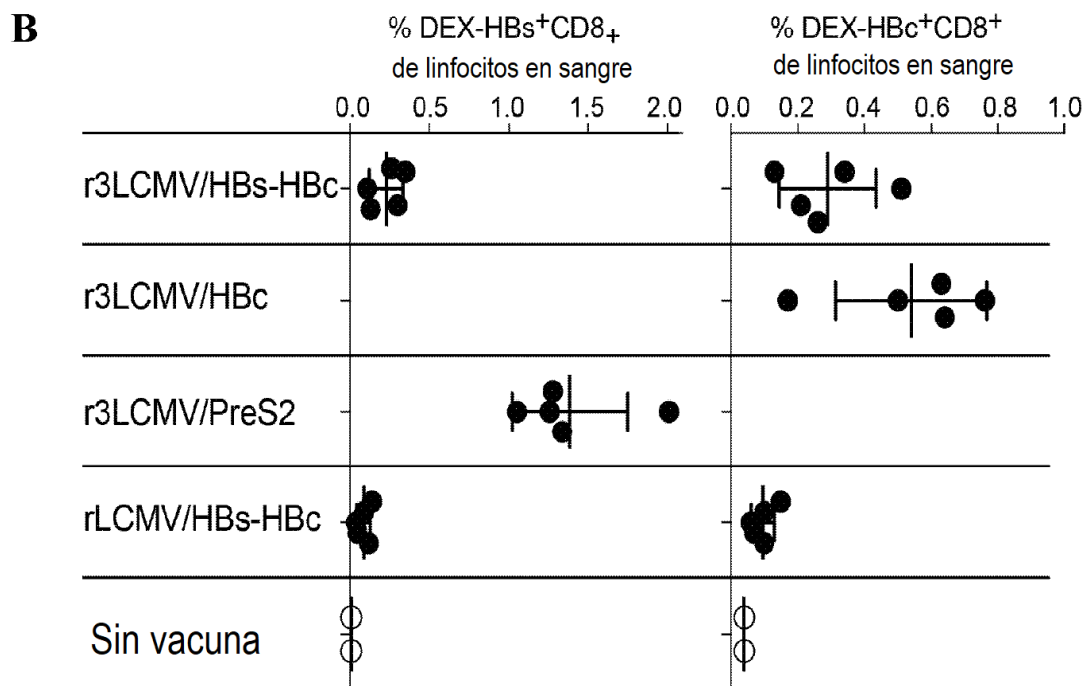
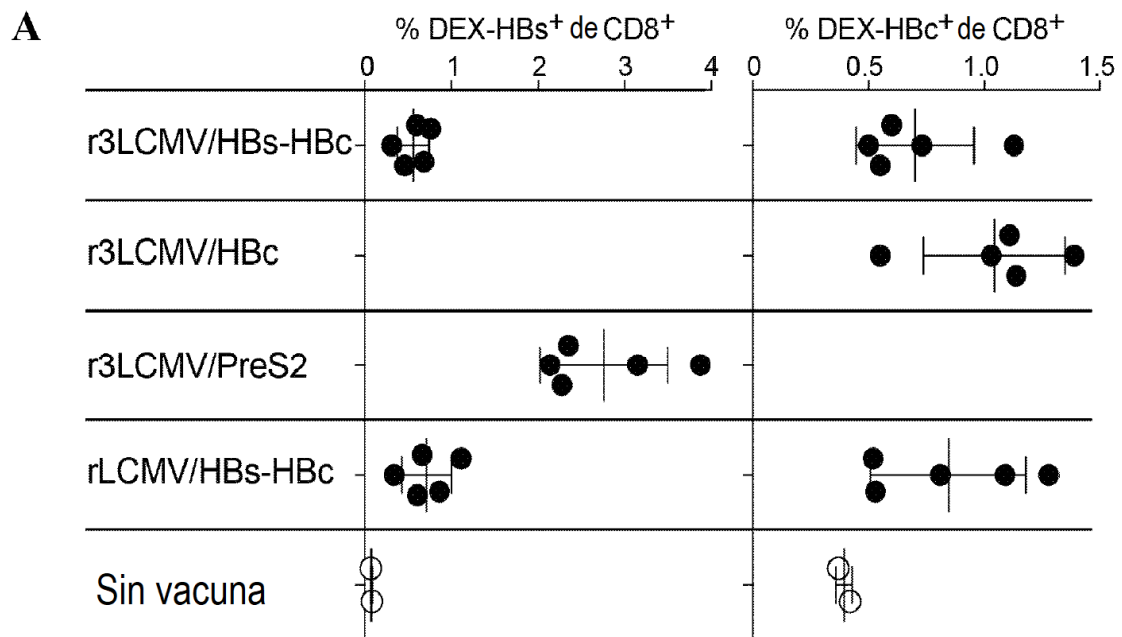


Fig. 3



**Fig. 4A - 4B**