

(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 Infectious 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-a 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.

35 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 % 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 (Couillin 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.

45 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.

50 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).

55 En el primer aspecto, la invención proporciona un vector viral de arenavirus infeccioso, en donde se elimina un marco de lectura abierto de arenavirus 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
- 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.

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:

10 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.

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:

35 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;

45 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 arenavirus en el contexto de la invención, o el arenavirus comprendido en la composición farmacéutica de la invención, significa el vector viral arenavirus.

### 3. SUMARIO DE LA INVENCIÓN

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

- 10 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 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)).

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

En ciertas realizaciones, en la presente memoria se proporciona un vector viral de arenavirus, en donde se elimina un marco de lectura abierto de arenavirus 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 arenavirus es deficiente en replicación. En ciertas realizaciones, el vector viral de arenavirus 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

35 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 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 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 arenavirus infeccioso es competente para la replicación y capaz de producir más partículas de progenie infecciosas en células normales, no modificadas genéticamente.

40 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 antigenicos 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 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.

10 La proteína HBe o el fragmento antigenico 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.

15 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 antigenico de la misma;
- b. una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína HBc del HBV o un fragmento antigenico de la misma; y
- c. una secuencia de nucleótidos que codifica una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigenicos de las mismas; y

25 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 antigenico 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 antigenico de la misma;
- b. una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína HBc del HBV o un fragmento antigenico de la misma; y
- c. una secuencia de nucleótidos que codifica una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigenicos 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 antigenico de la misma.

30 35 En ciertas realizaciones, un marco de lectura abierto (ORF) del arenavirus 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 arenavirus 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 45 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 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 arenavirus 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 %, 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:

- 20 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:

- 30 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 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)).

- 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 arenavirus que expresan un antígeno de HBV o un fragmento del mismo. En una realización más específica, cada vector viral de arenavirus expresa un antígeno de HBV diferente o un fragmento del mismo. En otras realizaciones, cada vector viral de arenavirus 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 arenavirus, cada uno de los cuales expresa un antígeno de HBV diferente o un fragmento del mismo. 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)).
- 15 En ciertas realizaciones, el arenavirus 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 arenavirus infeccioso, en donde se elimina un marco de lectura abierto de arenavirus y se reemplaza por una secuencia de nucleótidos que codifica una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigenicos de las mismas. En realizaciones específicas, el arenavirus es el virus de la coriomeningitis linfocítica. En realizaciones específicas, el marco de lectura abierto que 20 codifica la glicoproteína del arenavirus 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 25 elimina un marco de lectura abierto de arenavirus y se reemplaza por una secuencia de nucleótidos que codifica una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigenicos 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-γ	interferón-γ
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-α	factor de necrosis tumoral-a
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.

5 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 epítopo derivado de la proteína HBs del HBV.

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

SEQ ID NO: 10 es la secuencia de aminoácidos de un epítopo 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 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).

40 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.

45 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 INVENCIÓN

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.

- 5 10 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);
- 15 es capaz de replicar su genoma y expresar su información genética; y

15 20 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.

35 40 45 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.

50 55 60 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 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 la Sección 6.2 se proporciona una descripción detallada de los antígenos descritos en la presente memoria.

10 En ciertas realizaciones, los arenavirus 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 arenavirus descritos en la presente memoria. En ciertas realizaciones, los arenavirus 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 arenavirus deficientes en replicación. En ciertos aspectos, una partícula de arenavirus 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; 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 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; yc) un plásmido de expresión que codifica la proteína GP de LCMV (o una línea celular que expresa la proteína GP de LCMV).

45 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 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 un 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 arenavirus 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 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, 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 arenavirus 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 arenavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o un fragmento del mismo provoca una respuesta de células T. En otras realizaciones, el arenavirus 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 arenavirus 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 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 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 arenavirus 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 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 algunas realizaciones, el arenavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o un fragmento del mismo provoca una respuesta de células T CD8+. En otras realizaciones, el arenavirus 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 arenavirus 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 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, el arenavirus 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 arenavirus 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 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 otras realizaciones, dos o más arenavirus infecciosos que expresan un antígeno del HBV provocan títulos elevados de anticuerpos neutralizantes. En una realización más específica, dos o más arenavirus infecciosos que expresan un antígeno del HBV provocan títulos más elevados de anticuerpos neutralizantes que un arenavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o un fragmento del mismo. 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 otra realización, el arenavirus infeccioso que expresa dos, tres, cuatro, cinco o más antígenos de HBV provoca títulos más elevados de anticuerpos neutralizantes que un arenavirus infeccioso que expresa un antígeno de HBV o

un fragmento del mismo. 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)).

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

- 5 Los arenavirus 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 arenavirus genéticamente modificado se puede generar como se 10 describe en la Sección 6.3.

El genoma del arenavirus 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 arenavirus deficiente en replicación

- 15 En ciertas realizaciones, el vector de arenavirus es un vector de arenavirus bisegmentado, deficiente en replicación. En ciertas realizaciones, el vector de arenavirus es un vector de arenavirus trisegmentado deficiente en replicación. Los arenavirus 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 20 respuestas inmunitarias.
- 20 Los vectores de arenavirus 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 arenavirus y la inmunosupresión en la infección por arenavirus 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 arenavirus 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 30 animales. Por lo tanto, la supresión de la replicación de los vectores de arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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 50 nucleico que codifica un antígeno del HBV se transcribe a partir de uno de los promotores de arenavirus 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 arenavirus, 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 arenavirus 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 arenavirus. En otra realización específica, se eliminan dos ORF y se reemplazan con un ORF heterólogo de un organismo distinto de un arenavirus. 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 arenavirus. 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 arenavirus.

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 arenavirus. 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 arenavirus. Por lo tanto, en ciertas realizaciones, la partícula de arenavirus 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 arenavirus.

En ciertas realizaciones, para uso con las composiciones y métodos proporcionados en la presente memoria, hay una partícula de arenavirus 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 arenavirus. 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 arenavirus. 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 arenavirus. 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 arenavirus. 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 arenavirus. Por lo tanto, en ciertas realizaciones, la partícula de arenavirus 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 arenavirus.

Por lo tanto, en ciertas realizaciones, la partícula de arenavirus trisegmentada para uso con las composiciones y métodos proporcionados en la presente memoria comprende una partícula de arenavirus 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 arenavirus.

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 arenavirus 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.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

En ciertas realizaciones, se describe en la presente memoria una partícula de arenavirus 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;

10 y donde la partícula de arenavirus 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 arenavirus infeccioso deficiente en replicación está trisegmentado.

**(b) Vectores de arenavirus trisegmentados competentes para la replicación**

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

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

25 (iv) un segmento S, en donde el ORF que codifica la GP está bajo el control de una UTR 3' de arenavirus; (v) un segmento S, en donde el ORF que codifica la proteína L está bajo el control de una UTR 3' de arenavirus; (vi) un segmento S, en donde el ORF que codifica la proteína Z está bajo el control de una UTR 3' de arenavirus; (vii) un segmento L, en donde el ORF que codifica la GP está bajo el control de una UTR 5' de arenavirus; (viii) un segmento L, en donde el ORF que codifica la proteína L está bajo el control de una UTR 5' de arenavirus; (ix) un segmento L, en donde el ORF que codifica la GP está bajo el control de una UTR 3' de arenavirus; (x) un segmento L, en donde el ORF que codifica la NP está bajo el control de una UTR 3' de arenavirus; y (xi) un segmento L, en donde el ORF que codifica la proteína Z está bajo el control de una UTR 3' de arenavirus.

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

35 Para su uso con las composiciones y métodos, en la presente memoria se proporcionan partículas de arenavirus 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 arenavirus trisegmentada que comprende un segmento L y dos segmentos S o dos segmentos L y un segmento S. En ciertas realizaciones, la partícula de arenavirus trisegmentada

40 no se recomienda en una partícula de arenavirus bisegmentada competente para la replicación. En realizaciones específicas, la partícula de arenavirus trisegmentada comprende un ORF en una posición distinta de la posición de tipo salvaje del ORF. En otra realización específica más, la partícula de arenavirus trisegmentada comprende los cuatro ORF de arenavirus. Por lo tanto, en ciertas realizaciones, la partícula de arenavirus trisegmentada es

45 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 arenavirus bisegmentada competente para la replicación. En comparación, la Figura 2A muestra el vector LCMV bisegmentado de tipo salvaje.

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

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

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).

5 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 la UTR 3' del segmento o segmentos S o del segmento o segmentos L.

10 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.

15 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 25  $10^4$  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.

20 30 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'.

35 40 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.

45 50 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.

55 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 arenavirus, en donde el ORF que codifica la NP está bajo el control de una UTR 5' de arenavirus;

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

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

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

10 En ciertas realizaciones, la partícula de arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus trisegmentada que comprende un segmento L y dos segmentos S, donde la recombinación intersegmentaria de los dos segmentos S en el genoma de arenavirus trisegmentado no da como resultado una replicación. -partícula viral bisegmentada competente y anula la actividad del promotor arenaviral (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 arenavirus 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 arenavirus; la Posición 2 está bajo el control de una UTR 3' del segmento S de arenavirus; la Posición 3 está bajo el control de una UTR 5' del segmento S de arenavirus; Posición 4 bajo el control de una UTR 3' del segmento S de arenavirus; la Posición 5 está bajo el control de una UTR 5' del segmento L de arenavirus; la Posición 6 está bajo el control de una UTR 3' del segmento L de arenavirus.

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 arenavirus; el IGR entre la posición tres y cuatro puede ser un segmento S de arenavirus o un IGR de segmento L; y el IGR entre la posición cinco y seis puede ser un IGR del segmento L de arenavirus. En una realización

5 específica, el IGR entre la posición uno y la posición dos puede ser un IGR del segmento S de arenavirus; el IGR entre la posición tres y cuatro puede ser un IGR del segmento S de arenavirus; y el IGR entre la posición cinco y seis puede ser un IGR del segmento L de arenavirus. En ciertas realizaciones, también son posibles otras combinaciones. Por ejemplo, una partícula de arenavirus trisegmentada que comprende un segmento L y dos segmentos S, en donde la recombinación intersegmentaria de los dos segmentos S en el genoma de arenavirus trisegmentado no da como resultado una partícula viral bisegmentada con capacidad de replicación y anula la actividad del promotor arenaviral (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 arenavirus 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 arenavirus trisegmentada que comprende un segmento L y dos segmentos S no da como resultado una partícula viral bisegmentada competente para la replicación.

15 En un aspecto, para su uso con las composiciones y métodos, se proporciona en la presente memoria una partícula de arenavirus trisegmentada que comprende dos segmentos L y un segmento S. En ciertas realizaciones, la propagación de la partícula de arenavirus 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 arenavirus 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, o 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 arenavirus trisegmentada. En otras realizaciones, la propagación de la partícula de arenavirus 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.

20 30 En ciertas realizaciones, la recombinación intersegmentaria de los dos segmentos L 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'), donde cada UTR que forma un extremo del genoma es una secuencia repetida invertida del otro extremo del mismo genoma.

35 40 45 En ciertas realizaciones, la partícula de arenavirus trisegmentada que comprende dos segmentos L y un segmento 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 dos segmentos L y un segmento S se ha modificado para llevar 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 dos segmentos L y un segmento 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 L 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 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 arenavirus;
- 50 (ii) un segmento L, en donde el ORF que codifica NP está bajo el control de una UTR 5' de arenavirus;

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

- 5 En ciertas realizaciones, la partícula de arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus trisegmentada que comprende dos segmentos L y un segmento S, donde la recombinación intersegmentaria de los dos segmentos L en el genoma de arenavirus trisegmentado no da como resultado una partícula viral bisegmentada competente para la replicación y anula la actividad del promotor arenaviral (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, se podrían predecir combinaciones similares para generar una partícula de arenavirus formada por dos UTR 5' en lugar de una UTR 3' y una UTR 5'.
- 15

Tabla 2A

Partícula de arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus; la posición 2 está bajo el control de

Partícula de arenavirus 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 arenavirus; la posición 3 está bajo el control de un segmento UTR 5' de arenavirus L; la posición 4 está bajo el control de una UTR 3' del segmento L de arenavirus; la posición 5 está bajo el control de una UTR 5' del segmento S de arenavirus; la posición 6 está bajo el control de una UTR 3' del segmento S de arenavirus.

\* 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 arenavirus; el IGR entre la posición tres y cuatro puede ser un segmento S de arenavirus o un IGR de segmento L; y el IGR entre la posición cinco y seis puede ser un IGR del segmento S de arenavirus. En una realización

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

10 En ciertas realizaciones, la recombinación intersegmentaria de un segmento L y un segmento S de la partícula de arenavirus 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 arenavirus trisegmentada que comprende dos segmentos L y un segmento S no da como resultado una partícula viral bisegmentada competente para la replicación.

15 En ciertas realizaciones, la partícula de arenavirus trisegmentada como se describe en la presente memoria es una partícula de arenavirus infecciosa y competente para la replicación. En realizaciones específicas, la partícula de arenavirus descrita en la presente memoria está atenuada. En una realización particular, la partícula de arenavirus trisegmentada se atenua 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 patogénicos. Dichos virus atenuados pueden usarse como una composición inmunogénica. 20 En otras realizaciones, la partícula de arenavirus es infecciosa pero incapaz de producir descendencia infecciosa adicional en células que no se complementan.

25 En ciertas realizaciones, el segmento genómico de arenavirus y la partícula de arenavirus respectiva o la partícula de arenavirus trisegmentada pueden comprender un ORF heterólogo. En otras realizaciones, el segmento genómico de arenavirus y la partícula de arenavirus respectiva o la partícula de arenavirus 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).

30 En ciertas realizaciones, el segmento genómico de arenavirus, la partícula de arenavirus o la partícula de arenavirus trisegmentada puede comprender uno o más ORF heterólogos o uno o más genes de interés. En otras realizaciones, el segmento genómico de arenavirus, la partícula de arenavirus o la partícula de arenavirus 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 arenavirus o la partícula de arenavirus 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).

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

## 6.2 Antígenos del HBV

40 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 transcripto.

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**

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**

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.

35 (d) **Proteínas de fusión HBs y HBc**

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.

45 (e) **antígenos de la proteína HBe**

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 antigeníco 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 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  
10 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 polimerasa dependiente de ARN viral, la ARN polimerasa I celular, la ARN polimerasa II o la ARN polimerasa III, como  
15 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 antigenícos 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 de ácido nucleico que codifican un fragmento antigeníco 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.

- 35 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 antigeníco 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.

- 40 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 antigeníco de HBs. 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 antígenos que incluyen, pero no se limitan a, HBs o un fragmento de HBs.

- 45 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.

- 50 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 antigeníco de la misma, la proteína HBc o un fragmento antigeníco 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, 5 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 10 No. WO 2009/083210 (Número de solicitud PCT/EP2008/010994) y la Publicación de Solicitud de Patente Internacional No. WO 2014/140301 (Número 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 20 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 25 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 30 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 puromicina, 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 35 transcritos de genes virales, por un sitio de entrada al ribosoma interno, como el del virus de la encefalomielitis, 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 transfecan con los plásmidos de complementación usando cualquiera de las estrategias comúnmente usadas, como protocolos 40 basados en liposomas con fosfato de calcio 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 subclonian 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. 45 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, 50 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 55 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 60

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

Para la recuperación del vector de arenavirus, 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, polI 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 arenavirus) 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 arenavirus antes de su uso. Luego, el título infeccioso de la preparación del vector de arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus. 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 arenavirus 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. Despues 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 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 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 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.

5 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 %, 10 97 %, 98 %, al menos 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22.

15 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.

20 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.

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

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

30 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.

35 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.

40 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.

45 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.

50 En ciertas realizaciones, las células huésped se mantienen en cultivo y se transfecstan 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.

55 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 arenavirus 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 subclonian 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 cassetes de expresión impulsados por ARN polimerasa I, cassetes impulsados por ARN polimerasa II o cassetes 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 arenavirus 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 arenavirus trisegmentado, se prevén los siguientes procedimientos. Primer día: las células, normalmente con una confluencia del 80 % en placas de pocillos M6, se transfecan 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 arenavirus) 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 arenavirus antes de su uso. El título infeccioso de la preparación del vector de arenavirus 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 arenavirus 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 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 una realización, se describe en la presente memoria una secuencia de ácido nucleico que codifica el segmento genómico corto (segmento S) de un arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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 de arenavirus 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.
- 10 En otra realización, en la presente memoria se proporciona un ácido nucleico que comprende un segmento genómico de arenavirus 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 En otra realización, en la presente memoria se proporciona un ácido nucleico que comprende un segmento genómico de arenavirus 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 En otra realización, en la presente memoria se proporciona un ácido nucleico que comprende un segmento genómico de arenavirus 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 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 arenavirus 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 arenavirus, a saber, un segmento L y un segmento S, de un arenavirus infeccioso descrito en la presente memoria. Tal sistema de vector puede comprender (en una o más moléculas de ADN separadas):
- 30 Un segmento genómico de arenavirus S que está modificado de tal manera que una partícula de arenavirus que lleva este segmento genómico S modificado no puede producir partículas de virus de progenie infecciosas y un segmento genómico de arenavirus L que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica (en sentido o antisentido) un antígeno de HBV;
- 35 Un segmento genómico de arenavirus L que se modifica de tal manera que una partícula de arenavirus que lleva este segmento genómico L modificado no puede producir partículas de virus de progenie infecciosas y un segmento genómico de arenavirus S que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica en (sentido o antisentido) un antígeno del HBV;
- 40 Un segmento genómico S de arenavirus que está modificado de tal manera que una partícula de arenavirus que lleva este segmento genómico S modificado no puede producir partículas de virus de progenie infecciosas y en donde el segmento genómico S de arenavirus comprende una secuencia de nucleótidos que codifica (en sentido o antisentido) un antígeno de HBV y que comprende un segmento genómico de arenavirus L de tipo salvaje; o
- 45 Un segmento genómico de arenavirus L que está modificado de tal manera que una partícula de arenavirus que lleva este segmento genómico L modificado no puede producir partículas de virus de progenie infecciosas y en donde el segmento genómico de arenavirus L comprende una secuencia de nucleótidos que codifica (en sentido o antisentido) un antígeno de HBV y que comprende un segmento genómico de arenavirus S de tipo salvaje.
- 50 En el contexto de la invención, en la presente memoria se proporciona una secuencia de ácido nucleico que comprende un segmento genómico de arenavirus (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 antigenicos de las mismas;

5 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, la fusión de proteínas HBs y HBc, o un fragmento antigenico de las mismas.

En ciertas realizaciones, en la presente memoria se proporciona una secuencia de ácido nucleico que comprende un segmento genómico de arenavirus (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).

10 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 arenavirus 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.

15 En otras realizaciones, la célula puede comprender una secuencia de ácido nucleico que comprende el segmento genómico corto (segmento S) de un arenavirus 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 antigenico de la misma.

20 En otras realizaciones, una célula puede comprender una secuencia de ácido nucleico que comprende el segmento genómico corto (segmento S) de un arenavirus 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 antigenico de la misma.

25 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 arenavirus 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 antigenico de la misma.

30 En otras realizaciones, una célula puede comprender una secuencia de ácido nucleico que comprende el segmento genómico corto (segmento S) de un arenavirus 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.

35 En otras realizaciones, una célula puede comprender una secuencia de ácido nucleico que comprende el segmento genómico corto (segmento S) de un arenavirus 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.

40 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.

45 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.
- 15 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.
- 20 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, la célula huésped se cultiva en medio de cultivo celular.
- 25 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.
- 30 **6.5 Métodos de uso**
- En la presente memoria se proporcionan vectores virales de arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus infecciosos que expresan un antígeno del HBV como se proporciona presente o una composición del mismo. En ciertas realizaciones, los arenavirus infecciosos son deficientes en replicación. En ciertas realizaciones, los arenavirus 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 arenavirus 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.
- 35 En otra realización, los métodos para inducir una respuesta inmunitaria contra el HBV en un sujeto comprenden administrar al sujeto un arenavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o una composición del mismo.
- 40 En otra realización, los sujetos a los que se administra un arenavirus 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 arenavirus 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.
- 45 En otra realización, los sujetos a los que se administra un arenavirus 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 arenavirus 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.
- 50 En otra realización, los sujetos a los que se administra un arenavirus 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
- 55 En otra realización, los sujetos a los que se administra un arenavirus 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

- 5 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.
- 10 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.
- 15 10 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.
- 15 En otra realización, los sujetos a los que se administra un arenavirus 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.
- 20 20 En otra realización, los sujetos a los que se administra un arenavirus 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.
- 25 25 En otra realización, los sujetos a los que se administra un arenavirus 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.
- 30 30 En otra realización, los sujetos a los que se administra un arenavirus 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 arenavirus 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.
- 35 35 En otra realización, un arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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.
- 40 50 En otra realización, un arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV descrito en la presente
- 55

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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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-γ y TNF-α plurifuncionales (el IFN-γ es producido por células T CD4+ y T CD8+ y TNF-α es producido por células T CD4+) de gran magnitud para tratar o prevenir una infección por HBV.

En otra realización, la administración de un arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o una composición del mismo reduce los niveles de HBeAg en la sangre. En ciertas realizaciones, la administración de un arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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., Czernik 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 arenavirus 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:

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

30 y en donde el arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus infeccioso que expresa un antígeno de HBV como se describe en la presente memoria.

40 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 arenavirus 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 arenavirus infecciosos que expresan un antígeno de HBV como se describe en la presente memoria.

45 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 arenavirus infecciosos que expresan un antígeno de HBV como se describe en la presente memoria.

50 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 arenavirus 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 arenavirus infeccioso que expresa un antígeno de HBV descrito en la presente memoria.

55 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 arenavirus 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 arenavirus infecciosos que expresan un antígeno de HBV descrito en la presente memoria.

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

5 En otra realización, la administración de un arenavirus 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 arenavirus infeccioso que expresa un antígeno de HBV reduce la mortalidad de recién nacidos con infección congénita de HBV.

10 En otra realización, la administración de uno o más arenavirus 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 arenavirus infecciosos que expresan un antígeno del HBV reduce la mortalidad de recién nacidos con infección congénita por HBV.

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

## 20 **6.6 Composiciones, Administración y Dosisificación**

La invención además se refiere a vacunas, composiciones inmunogénicas y composiciones farmacéuticas que comprenden un arenavirus 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.

25 En otra realización, en la presente memoria se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden un arenavirus 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 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)).

30 En ciertas realizaciones, en la presente memoria se proporcionan composiciones inmunogénicas que comprenden un vector de arenavirus (o una combinación de diferentes vectores de arenavirus) 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 arenavirus infecciosa, pero cuando el compuesto se administra solo no genera una respuesta inmunitaria a la partícula arenavirus infecciosa. En algunas realizaciones, el adyuvante genera una respuesta inmunitaria a la partícula de arenavirus 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 imidazoquinolalina (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, díclorodifluorometano, triclorofluorometano, díclorotetrafluoroetano, 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 arenavirus infeccioso primero o segundo es deficiente en replicación. En ciertas realizaciones, los arenavirus infecciosos primero y segundo están bisegmentados. En ciertas realizaciones, los arenavirus infecciosos primero y segundo están trisegmentados. En ciertas realizaciones, el arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus que expresan un antígeno de HBV como se describe en la presente memoria. En una realización específica, los dos constructos de vector de arenavirus expresan un antígeno de HBV diferente.
- 15 En ciertas realizaciones, los métodos para tratar y/o prevenir una infección comprenden administrar dos o más constructos de vector de arenavirus 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 arenavirus que expresan un antígeno de HBV como se describe en la presente memoria. En ciertas realizaciones, el constructo de vector de arenavirus puede basarse en LCMV.
- 20 En ciertas realizaciones, los métodos para tratar y/o prevenir una infección comprenden administrar dos o más constructos de vector de arenavirus, 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 arenavirus, 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 arenavirus puede basarse en LCMV.
- 25 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)).
- 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S 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.
- En una realización específica, los métodos para tratar y/o prevenir una infección en un sujeto comprenden administrar secuencialmente al sujeto un primer arenavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma y un segundo arenavirus infeccioso que expresa una proteína HBs 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 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 HBs 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 secuencialmente al sujeto un primer arenavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S 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 antigenicos de las mismas.

15 En una realización específica, los métodos para tratar y/o prevenir una infección en un sujeto comprenden administrar secuencialmente 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 pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma.

20 En una realización específica, los métodos para tratar y/o prevenir una infección en un sujeto comprenden administrar secuencialmente al sujeto un primer arenavirus infeccioso que expresa una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigenicos de las mismas y un segundo arenavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma.

25 En una realización específica, los métodos para tratar y/o prevenir una infección en un sujeto comprenden administrar secuencialmente al sujeto un primer arenavirus infeccioso que expresa una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigenicos de las mismas y un segundo arenavirus infeccioso que expresa una proteína HBe del HBV o un fragmento antigénico de la misma.

30 En una realización específica, los métodos para tratar y/o prevenir una infección en un sujeto comprenden administrar al sujeto un primer arenavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S 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.

35 En una realización específica, los métodos para tratar y/o prevenir una infección en un sujeto comprenden 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 fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigenicos de las mismas.

40 En una realización específica, los métodos para tratar y/o prevenir una infección en un sujeto comprenden 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 antigenicos de las mismas.

45 En una realización específica, los métodos para tratar y/o prevenir una infección en un sujeto comprenden 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.

50 En una realización específica, los métodos para tratar y/o prevenir una infección en un sujeto comprenden 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.

En una realización específica, los métodos para tratar y/o prevenir una infección en un sujeto comprenden administrar

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

o solo la fusión de proteínas HBs y HBc del HBV. En otra realización, administrar un primer arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento de la misma, o una proteína HBe del HBV provocar una respuesta de células T CD8+ mayor que la administración de un solo arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento de la misma o una proteína HBe del HBV provocar títulos más elevados de anticuerpos neutralizantes que la administración de un solo arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV como se describe en la presente memoria se administra antes o después del segundo arenavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV como se describe en la presente memoria. Por ejemplo, el primer arenavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV se administra alrededor de 30-60 minutos antes o después de la primera administración del segundo arenavirus infeccioso.

En otra realización, el primer arenavirus infeccioso que expresa un antígeno de vacuna se administra antes que el segundo arenavirus 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 arenavirus infeccioso y el segundo arenavirus infeccioso.

En otra realización, se administran dos arenavirus 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 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 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 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

5 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

10 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.

40 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.

45 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.

55 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 arenavirus infeccioso y posteriormente de un segundo vector de arenavirus 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 arenavirus, 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 arenavirus infeccioso y el segundo arenavirus infeccioso son homólogos. En ciertas realizaciones, el primer arenavirus infeccioso y el segundo arenavirus infeccioso son heterólogos.

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

En ciertas realizaciones específicas, el primer arenavirus infeccioso se deriva de LCMV y el segundo arenavirus infeccioso se deriva de LCMV. En ciertas realizaciones específicas, el primer arenavirus infeccioso se deriva del LCMV y el segundo arenavirus infeccioso se deriva del virus Junín. En ciertas realizaciones específicas, el primer arenavirus infeccioso se deriva del virus Junín y el segundo arenavirus infeccioso se deriva del virus Junín. En ciertas realizaciones específicas, el primer arenavirus infeccioso se deriva del virus Junín y el segundo arenavirus 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 arenavirus infeccioso se administra primero como "principal" y un segundo arenavirus infeccioso se administra como "refuerzo". Los vectores de arenavirus infecciosos primero y segundo pueden expresar los mismos o diferentes antígenos de HBV. En ciertas realizaciones específicas, la administración "principal" se realiza con un arenavirus infeccioso derivado del LCMV, y el "refuerzo" se realiza con un arenavirus infeccioso derivado del virus Junín. En ciertas realizaciones específicas, la administración "principal" se realiza con un arenavirus infeccioso derivado del virus Junín, y el "refuerzo" se realiza con un arenavirus infeccioso derivado del LCMV.

En ciertas realizaciones, la administración de un primer arenavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o un fragmento del mismo, seguido de la administración de un segundo arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus, en donde los dos o más constructos de vector de arenavirus 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 arenavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o un fragmento del mismo y un segundo arenavirus 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 arenavirus infeccioso que expresa un antígeno del HBV o un fragmento del mismo y un segundo arenavirus infeccioso homólogo que expresa un antígeno del HBV o un fragmento del mismo.
- En ciertas realizaciones específicas, el primer arenavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV es LCMV, y el segundo arenavirus infeccioso heterólogo que expresa una proteína pre-S2/S del HBV es el virus Junín. En ciertas realizaciones específicas, el primer arenavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV es el virus Junín, y el segundo arenavirus infeccioso heterólogo que expresa una proteína pre-S2/S del HBV es LCMV.
- 10 En ciertas realizaciones específicas, el primer arenavirus infeccioso que expresa una proteína HBc del HBV es LCMV, y el segundo arenavirus infeccioso heterólogo que expresa una proteína HBc del HBV es el virus Junín. En ciertas realizaciones específicas, el primer arenavirus infeccioso que expresa una proteína HBc del HBV es el virus Junín, y el segundo arenavirus infeccioso heterólogo que expresa una proteína HBc del HBV es el LCMV.
- 15 En ciertas realizaciones específicas, el primer arenavirus infeccioso que expresa una proteína de fusión HBs y HBc del HBV es LCMV, y el segundo arenavirus infeccioso heterólogo que expresa una proteína de fusión HBs y HBc del HBV es el virus Junín. En ciertas realizaciones específicas, el primer arenavirus infeccioso que expresa una proteína de fusión HBs y HBc del HBV es el virus Junín, y el segundo arenavirus infeccioso heterólogo que expresa una proteína de fusión HBs y HBc del HBV es el LCMV.
- 20 En ciertas realizaciones específicas, la administración de un primer arenavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV y un segundo arenavirus 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 arenavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV y un segundo arenavirus infeccioso homólogo que expresa proteína pre-S2/S del HBV. En ciertas realizaciones específicas, la administración de un primer arenavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV y un segundo arenavirus 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 arenavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV y un segundo arenavirus infeccioso homólogo que expresa una proteína pre-S2/S del HBV.
- 25 30 En ciertas realizaciones específicas, la administración de un primer arenavirus infeccioso que expresa una proteína HBc del HBV y un segundo arenavirus infeccioso heterólogo que expresa una proteína HBc del HBV provoca una mayor respuesta de células T CD8+ que la administración de un primer arenavirus infeccioso que expresa una proteína HBc del HBV y un segundo arenavirus infeccioso homólogo que expresa una proteína HBc del HBV. En ciertas realizaciones específicas, la administración de un primer arenavirus infeccioso que expresa una proteína HBc del HBV y un segundo arenavirus 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 arenavirus infeccioso que expresa una proteína HBc del HBV y un segundo arenavirus infeccioso homólogo que expresa una proteína HBc del HBV.
- 35 40 En ciertas realizaciones específicas, la administración de un primer arenavirus infeccioso que expresa una proteína de fusión HBs y HBc del HBV y un segundo arenavirus 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 arenavirus infeccioso que expresa una proteína de fusión HBs y HBc del HBV y un segundo arenavirus infeccioso homólogo que expresa la proteína de fusión HBs y HBc del HBV. En ciertas realizaciones específicas, la administración de un primer arenavirus infeccioso que expresa una proteína de fusión HBs y HBc del HBV y un segundo arenavirus 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 arenavirus infeccioso que expresa una proteína de fusión HBs y HBc del HBV y un segundo arenavirus infeccioso homólogo que expresa una proteína de fusión HBs y HBc del HBV.
- 45 50 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 arenavirus, en donde los dos o más constructos de vector de arenavirus 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 arenavirus 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

5 selección 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 arenavirus 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.

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

15 En otra realización, el primer arenavirus infeccioso que expresa un antígeno de vacuna se administra antes que el segundo arenavirus 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 arenavirus infeccioso y el segundo arenavirus infeccioso.

20 En otra realización, se administran dos arenavirus 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.

25 En otra realización, los sujetos a los que se administran 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 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.

30 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.

35 En otra realización, dichos dos o más arenavirus 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.

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

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

## 6.8 (b) Composiciones

50 La invención además se refiere a vacunas, composiciones inmunogénicas y composiciones farmacéuticas que comprenden un arenavirus 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.

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

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 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 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:

- 5 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
- 10 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 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. El antígeno del HBV puede ser, pero no se limita a:

- 15 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 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus que expresan un antígeno del HBV como se describe en la presente memoria. En una realización específica, los dos constructos de vector de arenavirus expresan un antígeno de HBV.

En ciertas realizaciones, en la presente memoria se proporcionan composiciones que comprenden dos o más constructos de vectores de arenavirus 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 arenavirus que expresan un antígeno del HBV como se describe en la presente memoria. En ciertas realizaciones, el arenavirus 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))).

45 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 arenavirus 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 arenavirus 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 arenavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma, y una segunda composición de arenavirus 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 arenavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma y un segundo arenavirus 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 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 HBs del HBV o un fragmento antigénico de la misma.
- 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 arenavirus infeccioso que expresa una proteína HBc 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.
- 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 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 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 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 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 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 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 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 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 arenavirus infeccioso que expresa una proteína pre-S2/S 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 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 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

5 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 arenavirus 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.

10 En otra realización, las composiciones son adecuadas para 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 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 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.

15 En otra realización, las composiciones son adecuadas para administrar a un sujeto preadolescente 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.

20 En otra realización, dos o más composiciones de arenavirus 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.

25 En otra realización, dos o más composiciones de arenavirus 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 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.

30 En otra realización, dos o más composiciones de arenavirus 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.

35 40 En otra realización, proporcionada en la presente memoria, la invención proporciona una composición de vacuna que comprende una combinación sinérgica de dos o más arenavirus infecciosos deficientes en replicación que expresan un antígeno del HBV.

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

## 6.9 Ensayos

50 **Ensayo para medir la infectividad del vector Arenavirus** Puede usarse cualquier ensayo conocido por el experto en la técnica para medir la infectividad de una preparación de vector de arenavirus. 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).

55 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

5 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.

10 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 15 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 20 (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 25 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 30 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 35 título neutralizante.

**qPCR** Los genomas de ARN de LCMV se aislan 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) 40 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 log10 de un fragmento de ARN transcrita *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.

45 **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 enfrian 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 50 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).

55 **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 tetramero 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 tetramero 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 tetramero 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., Czernik 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.

5 **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 Ghaneh S.A. et al., *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*. 2001; 8:628-63).  
10 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. Despues 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.

15 **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.

20 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 confluente 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.

25 **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., Mandy 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.

30 **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.

35 **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).

40 50 Además, se puede realizar la transferencia Western (como se describe en [00415]).

45 **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.

50 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.

10 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 arenavirus 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 25 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., Bourgine et al., 2012, *Virology* 430(1):10-9).

- 30 35 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

- 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	ATGCAGTGGAATTCCACAACCTCCACCAAACCTCT GCAAGATCCCAGAGTGAGAGGCCTGTATTCCT GCTGGTGGCTCCAGTTCAGGAACAGTCAACCTG TTCTGACCACTGCCTCTCCCTGTATCAATCTTCT CCAGGATTGGGACCCCTGCTCTGAACATGGAGAA CATCACATCAGGATTCTGGGACCCCTTGTGT TGCAGGCAGGGTTTCTTGTGACAAGAACATCCTC ACAATCCCTCAGAGTCTGGACTCTTGGTGGACTTC TCTCAATTCTGGGGAAACCACAGTGTGTCTG GCCAAAATTCTCAGTCCCCAACCTCCAATCACTCA CCAACCTCTTGTCCACTTGTCTGGTACAG ATGGATGTGTCTGAGGAGATTCAATCTTGTCT TCATCCTGCTGCTGTGCCTCATCTTGTGTTG TTCTGGACTATCAAGGAATGTTGCCAGTTGTCT CTGATTCCAGGATCCTCAACAACCAGCACTGGAC CATGCAGGACCTGCATGACCACTGCTCAAGGAAC CTCAATGTATCCCTCCTGTTGCTGCACCAAACCTT
		CAGATGGAAATTGCACCTGCATTCCCACATCCCAC TCCTGGCTTTGGAAAATTCTTGGAGTGGC CTCAGCCAGATTCTCCTGGCTCAGTTGCTGGTGC CATTGTTCACTGGTTGTTGGCTTCCCCACT GTTTGGCTTCAGTGAATTGGATGATGTGGTATTG GGGGCCAAGTCTGTACAGCATCTGAGTCCCTTT TGCCCTGTTGCCAATTCTTGTCTTGGTCT ACATTAA

2	secuencia de nucleótidos del ORF HBc del HBV	ATGGACATTGACCCTTACAAAGAATTGGAGCAA CTGTGGAGTTGCTCCCTTTGCCTCTGACTCT TTCCTTCAGTGAGAGATCTTCTTGACACTGCCTCA GCTCTGTACAGGAAAGCCTGGAGTCTCCTGAGC ATTGTTCACCTCACCACTGCACTCAGGCAAGC AATTCTTGCTGGGGAACTCATGACTCTGGCA ACCTGGGTGGGTGTCATTGGAAGATCCAGCCT CAAGAGACCTTGTGGTCAGTTATGTCAACACAAA CATGGGCCTGAAGTTCAGGCAACTCTGTGGTTTC ACATTCTTGTCACTTTGGAAAGAGAAACAGTC ATTGAGTATTGGTGTCTTGGAGTGTGGATCAG GACTCCTCCAGCTTACAGACCACCAAATGCCCA ATCCTGTCAACACTCCAGAGACCACGTGTCAG AAGAAGAGGCAGGTCCCCCAGAAGAAGAACTCC CTCACCAAGAAGAAGAAGGTCTCAATCTCCAGA AGGAGAAGATCTCAATCAAGGAAATCTCAATGTT AG
3	secuencia de nucleótidos del ORF de la proteína de fusión HBs-HBc del HBV	ATGGGGCAGAATCTTCCACCAGCAATCCTCTGGGATTCTT TCCAGACCACCAGTTGGATCCAGCCTTCAGAGCAAACACTG CAAATCCAGATTGGGACTTCAATCCCAACAAGGACACCTGG CCAGATGCCAACAAAGGTGGGAGCTGGAGCATTGGGTGGAGCCCTC TTTCACCCCACCCCATGGAGGCCTTGGGGTGGAGCCCTC

# ES 2 934 698 T3

	AGGCTCAGGCATTCTGCAAACCTTGCCAGCAAATCCACCT CCTGCCTCCACCAACAGGCAGTCAGGAAGGCAGCCACCCC TCTGTCTCCACCTTGAGAAACACTCATCCTCAGGCCATGC AGTCCAATTCCACAACCTCCACCAAACCTGCAAGATCCC AGAGTGAGAGGCCTGTATTCCTGCTGGTGGCTCCAGTTC AGGAACAGTCAACCCTGTTCTGACCACTGCCTCTCCCTGT CATCAATCTTCTCCAGGATTGGGACCCCTGCTCTGAACATG GAGAACATCACATCAGGATTGGGACCCCTTGTGTT GCAGGCAGGGTTTCTTGTGACAAGAACCTCACAATCC CTCAGAGTCTGGACTCTGGTGGACTTCTCTCAATTCTG GGGGAACACAGTGTGCTTGGCCAAAATTCTCAGTCCCC AACCTCCAATCACTCACCAACCTCTGTCCTCAACTGTC CTGGTTACAGATGGATGTGCTGAGGAGATTCATCATCTC CTCTTCATCCTGCTGCTGTCCTCATCTTGTGTTGTTCT TCTGGACTATCAAGGAATGTTGCCAGTTGTCCTCTGATTC CAGGATCCTCAACAACCAGCACTGGACCATGCAGGACCTGC ATGACCACTGCTCAAGGAACCTCAATGTATCCCTCCTGTT CTGCACCAACCTCAGATGAAATTGCACCTGCATCCCC TCCCACATCCTGGCTTGGAAAATTCTTGGAGTGG GCCTCAGCCAGATTCTCCTGGCTCAGTTGCTGGTGCCT TGTCAGTGGTTGTTGGCTTCCCCACTGTTGGCTTT CAGTGATTGGATGATGTGGTATTGGGGCCAAGTCTGTAC AGCATCTTGAGTCCCTTTGCCTCTGTCCTGCAATTCTT TTGTCTTGGTCTACATTATGGACATTGACCTTACAAAG AATTGGAGCAACTGTGGAGTTGCTCTCCTTTCCT GACTTCTTCCTTCAGTGAGAGATCTTCTTGACACTGCCTC AGCTCTGTACAGGGAAGCCTGGAGTCTCCTGAGCATTGTT CACCTCACCAACTGCACTCAGGCAAGCAATTCTTGTGG GGGAACTCATGACTCTGGCAACCTGGTGGTGTCAATT GGAAGATCCAGCCTCAAGAGACCTTGTGGTCAGTTATGTCA ACACAAACATGGGCCTGAAGTTCAGGCAACTCTGTGGTT
--	---

		CACATTCTGTCTACTTGGAAAGAGAACAGTCATTGA GTATTGGTGTCTTGGAGTGTGGATCAGGACTCCTCCAG CTTACAGACCACCAATGCCCAATCCTGTCAACACTCCA GAGACCACTGTTGTCAGAAGAAGAGGCAGGTCCCCAGAAG AAGAACTCCCTCACCAAGAAGAAGAAGGTCTCAATCTCCA GAAGGAGAAGATCTCAATCAAGGAACTCAATGTTAG
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).	GCGCACCGGGATCCTAGGCTTTGGATTGCGCT TTCCTCTAGATCAACTGGGTGTCAGGCCATCCT ACAGAAGGATGGGCAGAACATCTTCCACCAGCAA TCCTCTGGGATTCTTCCAGACCACCAAGTGGATC CAGCCTTCAGAGCAAACACTGCAAATCCAGATTG GGACTTCAATCCAAACAAGGACACCTGGCCAGAT GCCAACAAAGGTGGAGCTGGAGCATTTGGGCTGG GTTTCACCCCACCCATGGAGGCCTTTGGGTGG AGCCCTCAGGCTCAGGGCATTCTGCAAACATTGCC AGCAAATCCACCTCCTGCCTCCACCAACAGGCAG TCAGGAAGGCAGCCCACCCCTGTCTCCACCTT GAGAACACTCATCCTCAGGCCATGCAGTGGAAAT TCCACAAACCTCCACCAAACACTGCAAGATCCCA GAGTGAAGAGGCCTGTATTCCTGCTGGTGGCTCC AGTCAGGAACAGTCAACCCCTGTCTGACCAACTG CCTCTCCCTGTCAATCTCTCCAGGATTGGG GACCCCTGCTCTGAACATGGAGAACATCACATCAG GATTCCCTGGGACCCCTTGTGTGCAGGCAGGG TTTTCTTGTGACAAGAACATCCTCACAATCCCTCA GAGTCTGGACTCTGGTGGACTTCTCTCAATTTC TGGGGGGAAACCACAGTGTGTCTGGCCAAAATTC TCAGTCCCCAACCTCCAATCACTCACCAACCTCTT GTCCTCCAACCTGTCTGGTTACAGATGGATGTGT CTGAGGAGATTCATCATCTTCCCTTTCATCCTGCT

	GCTGTGCCTCATCTTCTTGTGGTTCTTCTGGACTA TCAAGGAATGTTGCCAGTTGTCCTCTGATTCCAG GATCCTCAACAAACCAGCACTGGACCATGCAGGAC CTGCATGACCACTGCTCAAGGAACCTCAATGTAT CCCTCCTGTTGCTGCACCAAACCTCAGATGGAAA TTGCACCTGCATTCCCATCCCATCATCCTGGGCTT TTGGAAAATTCCCTTGGAGTGGCCTCAGCCAG ATTCTCCTGGCTCAGTTGCTGGTGCCTTGGCTT AGTGGTTGTTGGGCTTCCCCACTGTTGGCTT TCAGTGATTGGATGATGTGGTATTGGGGGCAA GTCTGTACAGCATTTGAGTCCTTGCCTCTG TTGCCAATTTCCTTGTCTTGGCTACATTATG GACATTGACCCCTACAAAGAATTGGAGCAACTG TGGAGTTGCTCTCCTTTGCCTCTGACTCTTTC CTTCAGTGAGAGATCTTCTTGACACTGCCTCAGCT CTGTACAGGGAAGCCTGGAGTCTCCTGAGCATT GTTCACCTCACCACACTGCACTCAGGCAAGCAAT TCTTGCTGGGGAACTCATGACTCTGGCAACCT GGGTGGGTGTCAATTGGAAGAGATCCAGCCTCAAG AGACCTTGTGGTCAGTTATGTCAACACAAACATG GGCCTGAAGTTCAGGCAACTCTGTGGTTCACAT TTCTTGCTCACTTTGGAAGAGAAACAGTCATTG AGTATTGGTGTCTTGGAGTGTGGATCAGGACT CCTCCAGCTTACAGACCACCAATGCCCAATCCT GTCAACACTCCAGAGACCCTGTCAGAAGA AGAGGCAGGTCCCCAGAAGAAGAACTCCCTCAC CAAGAAGAAGAAGGTCTCAATCTCCAGAAGGAG AAGATCTCAATCAAGGGAATCTCAATGTTAGAGA ACAGCGCCTCCCTGACTCTCACCTCGAAAGAGG TGGAGAGTCAGGGAGGCCAGAGGGCTTAGAGT GTCACAAACATTGGCCTCTAAAAATTAGGTCA
--	---

	<p>GTGGCAGAATGTTGAACAGTTTCAGATCTGG      GAGCCTGCTTGGAGGCGCTTCAAAAATGATG      CAGTCCATGAGTGCACAGTGCAGGGTATCTCTT      CTTCTTTGTCCTACTATTCCAGTATGCATCTT      ACACAACCAGCCATATTGTCCCACACTTATCTT      CATACTCCCTCGAAGCTTCCCTGGTCATTCAACA      TCGATAAGCTTAATGTCCTCCTATTGTGAGTC      CAGAAGCTTCTGATGTCATCGGAGCCTGACAG      CTTAGAACCATCCCCCTCGGAAGAGCACCTATAA      CTGACGAGGTCAACCCGGTTGCGCATTGAAGAG      GTCGGCAAGATCCATGCCGTGAGTACTTGGAA      TCTTGCTGAATTGTTTGATCAACGGGTTCCCT      GTAAAAGTGTATGAACGTCCCCTTCTGGTTGG      AAAATTGCTATTCCACTGGATCATTAAATCTACC      CTCAATGTCAATCCATGTAGGAGCGTTGGGTCA      ATTCCCTCCATGAGGTCTTTAAAAGCATTGTCTG      GCTGTAGCTTAAGCCCACCTGAGGTGGACCTGCT      GCTCCAGGCCTGGCTGGTGAGTTGACTGCAG      GTTTCTCGCTTGTGAGATCAATTGTTGTGTTTCCC      ATGCTCTCCCCACAATCGATGTTCTACAAGCTATG      TATGGCCATCCTCACCTGAAAGGCAAACCTTATA      GAGGATGTTTCATAAGGGTCTGTCCCCAACTT      GGTCTGAAACAAACATGTTGAGTTCTCTGGCC      CCGAGAACTGCCTCAAGAGATCCTCGCTGTTGCT      TGGCTTGATCAAAATTGACTCTAACATGTTACCCC      CATCCAACAGGGCTGCCCTGCCTTCACGGCAGC      ACCAAGACTAAAGTTAGCCAGAAATGTTGATG      CTGGACTGCTGTTCAAGTGTGACCCCCAGAACTG      GGTGCTTGTCTTCAGCCTTCAAGATCATTAAGA      TTTGGATACTGACTGTGAAAGCAAGCCAAGGT      CTGTGAGCGCTTGTACAACGTCATTGAGCGGAGT</p>
--	---

		CTGTGACTGTTGGCCATACAAGCCATAGTTAGAC TTGGCATTGTGCCAAATTGATTGTTCAAAAGTGAT GAGTCTTCACATCCCAAACCTCTTACCCACACCCT TGCACCCCTGCTGAGGGCTTCTCATCCCAACTATCT GTAGGATCTGAGATCTTGGTCTAGTTGCTGTGTT GTTAAGTTCCCCATATATACCCCTGAAGCCTGGGG CCTTCAGACCTCATGATCTTGGCCTTCAGCTTCT CAAGGTCAAGCCGAAGAGACATCAGTTCTTCTGC ACTGAGCCTCCCCACTTCAAAACATTCTTCTTG ATGTTGACTTAAATCCACAAGAGAATGTACAGT CTGGTTGAGACTTCTGAGTCTCTGTAGGTCTTGT CATCTCTTTTCCCTCATGATCCTCTGAACAT TGCTGACCTCAGAGAAGTCCAACCCATTAGAAG GTTGGTTGCATCCTTAATGACAGCAGCCTCACAT CTGATGTGAAGCTCTGCAATTCTCTTCAATGCT TGCCTCATTGGAAGCTCTTAACCTCCTAGACAA GGACATCTTGTGCTCAATGGTTCTCAAGACAAA TGCCTGCAATCAAATGCCTAGGATCCACTGTGCG
5	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	GCGCACCGGGGATCCTAGGCTTTGGATTGCGCTTCCTC TAGATCAACTGGGTGTCAGGCCCTATCCTACAGAAGGATGG ACATTGACCCCTACAAAGAATTGGAGCAACTGTGGAGTTG CTCTCCTTTGCCTCTGACTTCTTCCCTCAGTGAGAGA TCTTCTGACACTGCCTCAGCTCTGTACAGGGAAGCCTGG AGTCTCCTGAGCATTGTTCACCTCACCACACTGCACTCAGG CAAGCAATTCTTGCTGGGGGAACTCATGACTCTGGCAAC CTGGGTGGGTGTCATTGGAGATCCAGCCTCAAGAGACC TTGTGGTCAGTTATGTCAACACAAACATGGCCTGAAGTTC AGGCAACTCTTGTGGTTCACATTCTGTCACTTTGG AAGAGAAACAGTCATTGAGTATTGGTCTTTGGAGTGT GGATCAGGACTCCTCCAGCTTACAGACCACCAAATGCCCA ATCCTGTCAACACTTCCAGAGACCACTGTTGTCAGAAGAAG

## ES 2 934 698 T3

	<p>la secuencia de ARN).</p> <p>AGGCAGGTCCCCAGAAGAAGAACTCCCTCACCAAGAAGAA      GAAGGTCTCAATCTCCAGAAGGAGAAGATCTCAATCAAGG      GAATCTCAATGTTAGAGAACAGCGCCTCCCTGACTCTCCAC      CTCGAAAGAGGTGGAGAGTCAGGGAGGCCAGAGGGTCTTA      GAGTGTACAACATTGGCCTCTAAAATTAGGTATGTG      GCAGAATGTTGTGAACAGTTTCAGATCTGGGAGCCTTGCT      TTGGAGGCCTTCAAAAATGATGCAGTCATGAGTCACA      GTGCGGGGTGATCTCTTCTTGTCCCTACTATT      CAGTATGCATCTTACACAACCAGCCATATTGTCCCACACT      TTATCTCATACTCCCTCGAAGCTCCCTGGTCATTCAAC      ATCGATAAGCTTAATGTCCTCCTATTGTGAGTCAGAA      GCTTCTGATGTCATCGGAGCCTGACAGCTTAGAACCATC      CCTGCGGAAGAGCACCTATAACTGACGAGGTCAACCCGGG      TTGCGCATTGAAGAGGTGGCAAGATCCATGCCGTGTGAGT      ACTTGAATCTGCTTGAATTGTTTGATCAACGGTTCC      CTGTAAGTGTATGAACTGCCGTTCTGTGGTTGGAAAAT      TGCTATTCCACTGGATCATTAAATCTACCCCTCAATGTC      TCCATGTAGGAGCGTGGGTCAATTCCCTCCATGAGGTCT      TTTAAAAGCATTGTCTGGCTGTAGCTTAAGCCCACCTGAGG      TGGACCTGCTGCCAGGCGCTGGCCTGGGTGAGTTGACTG      CAGGTTCTCGTTGTGAGATCAATTGTTGTGTTCCAT      GCTCTCCCCACAATCGATGTTACAAGCTATGTATGCCA      TCCTCACCTGAAAGGAAACTTATAGAGGATGTTCCAT      AAGGGTTCTGTCCTGAGAATGCTGAAACAAACATGTTG      AGTTTCTCTGGCCCCGAGAACTGCCTCAAGAGATCCTC      GCTGTTGCTGGCTTGATCAAAATTGACTCTAACATGTTAC      CCCATCCAACAGGGCTGCCCTGCCTCACGGCAGCACCA      AGACTAAAGTTATAGCCAGAAATGTTGATGCTGGACTGCTG      TTCAGTGTGACCCCCAGAACACTGGGTGCTTGTCTTCAGCC      TTTCAAGATCATTAAAGATTGGACTTGACTGTGAAAGC      AAGCCAAGGTCTGTGAGCGCTTGTACAACGTCATTGAGCGG</p>
--	--

		AGTCTGTGACTGTTGGCCATACAAGCCATAGTTAGACTTG GCATTGTGCCAAATTGATTGTTAAAAGTGTGAGTCTTTC ACATCCCAAACCTTACCAACACCACCTGCACCCCTGCTGAGG CTTTCTCATCCAACTATCTGTAGGATCTGAGATCTTGGT CTAGTTGCTGTGTTAAGTTCCCCATATATACCCCTGAA GCCTGGGGCCTTCAGACCTCATGATCTGGCCTTCAGCTT CTCAAGGTCAAGCCGCAAGAGACATCAGTTCTCTGCACTGA GCCTCCCCACTTCAAAACATTCTTCTTGATGTTGACTTT AAATCCACAAGAGAATGTACAGTCTGGTTGAGACTTCTGAG TCTCTGTAGGTCTTGTCATCTCTCTTCCCTCATGA TCCTCTGAACATTGCTGACCTCAGAGAAGTCCAACCCATT AGAAGGTTGGTTGCATCCTTAATGACAGCAGCCTCACATC TGATGTGAAGCTCTGCAATTCTCTCAATGCTTGCCTCC ATTGGAAGCTCTTAACTCCTTAGACAAGGACATCTGTTG CTCAATGGTTCTCAAGACAAATGCGCAATCAAATGCCTAG GATCCACTGTGCG
6	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).	GCGCACCGGGGATCCTAGGCTTTGGATTGCGCT TTCCTCTAGATCAACTGGGTGTCAGGCCCTATCCT ACAGAAGGATGCAGTGGATTCCACAACCTTCCA CCAAACTCTGCAAGATCCCAGAGTGAGAGGCCCTG TATTCCTGCTGGTGGCTCCAGTTCAAGAACAGT CAACCCTGTTCTGACCACTGCCTCTCCCTGTCT CAATCTCTCCAGGATTGGGGACCTGCTCTGAAC ATGGAGAACATCACATCAGGATTCCCTGGGACCC TTCTTGTGTTGCAGGCAGGGTTTCTGTTGACA AGAACCTCACAATCCCTCAGAGTCTGGACTCTG GTGGACTTCTCTCAATTCTGGGGGAACCACAG TGTGTCTGGCCAAAATTCTCAGTCCCCAACCTCC AATCACTCACCAACCTCTTGTCCCTCAAACCTG TGGTTACAGATGGATGTGTCTGAGGAGATTCA ATCTTCCCTTTCATCCTGCTGCTGTGCCTCATCTC

	TTGTTGGTCTTCTGGACTATCAAGGAATGTTGCC AGTTTGTCCCTCTGATTCCAGGATCCTCAACAAACCA GCACTGGACCATGCAGGACCTGCATGACCACTGC TCAAGGAACCTCAATGTATCCCTCCTGTTGCTGCA CCAAACCTTCAGATGGAAATTGCACCTGCATTCCC ATCCCCATCATCCTGGGCTTTGGAAAATTCCCTTTG GGAGTGGGCCTCAGCCAGATTCTCCTGGCTCAGTT TGCTGGTGCCATTGTTCAAGTGGTTGTTGGGCTT TCCCCCACTGTTGGCTTCAGTGATTGGATGAT GTGGTATTGGGGGCCAAGTCTGTACAGCATCTTG AGTCCCCTTTGCCTCTGTTGCCAATTCTTTGT CTTGGGTCTACATTAAAGAACAGGCCCTCCCTG ACTCTCCACCTCGAAAGAGGTGGAGAGTCAGGGA GGCCCAGAGGGTCTTAGAGTGTACAAACATTGG GCCTCTAAAAATTAGGTATGTGGCAGAATGTTG TGAACAGTTTCAGATCTGGAGCCTGCTTGGA GGCGCTTCAAAAATGATGCAGTCCATGAGTGCA CAGTGCAGGGTGATCTCTTCTTCTTGTCCCTT ACTATTCCAGTATGCATCTTACACAACCAGCCATA TTTGTCCCACACTTATCTTCATACTCCCTCGAAG CTTCCCTGGTCATTCAACATCGATAAGCTTAATG TCCTTCCTATTTGTGAGTCCAGAAGCTTCTGAT GTCATCGGAGCCTGACAGCTAGAACCATCCCCT GCGGAAGAGCACCTATAACTGACGAGGTCAACCC GGGTTGCGCATTGAAGAGGTGGCAAGATCCATG CCGTGTGAGTACTTGAATCTGCTTGAATTGTT TTGATCAACGGGTTCCCTGTAAAAGTGTATGAAC GCCCGTTCTGTGGTGGAAAATTGCTATTCCACT GGATCATTAAATCTACCCCTCAATGTCAATCCATGT AGGAGCGTTGGGTCAATTCCCTCCATGAGGTCTT TTAAAAGCATTGTCTGGCTGTAGCTTAAGCCCACC
--	---

	TGAGGTGGACCTGCTGCTCCAGGCCTGGCCTGG GTGAGTTGACTGCAGGTTCTCGCTTGAGATCA ATTGTTGTGTTCCCATGCTCTCCCCACAATCGA TGTCTACAAGCTATGTATGCCATCCTCACCTG AAAGGCAAACCTTATAGAGGATGTTTCATAAGG GTTCCTGTCCCCAACTGGTCTGAAACAAACATGT TGAGTTTCTCTGGCCCCGAGAACTGCCTTCAAG AGATCCTCGCTGTTGCTTGGCTTGATCAAATTGA CTCTAACATGTTACCCCCATCCAACAGGGCTGCC CTGCCTTCACGGCAGCACCAAGACTAAAGTTATA GCCAGAAATGTTGATGCTGGACTGCTGTTAGTG ATGACCCCCAGAACTGGGTGCTTGTCTTCAGCCT TTCAAGATCATTAAGATTGGATACTTGAUTGTGT AAAGCAAGCCAAGGTCTGTGAGCGCTTGTACAAC GTCATTGAGCGGAGTCTGTGACTGTTGGCCATAC AAGCCATAGTTAGACTTGGCATTGTGCCAAATTG ATTGTTCAAAAGTGTGAGTCTTCACATCCCCAA CTCTTACACACCACTTGCACCCCTGCTGAGGCTT CTCATCCCAACTATCTGTAGGATCTGAGATCTTG GTCTAGTTGCTGTGTTGTTAAGTTCCCATATATA CCCCTGAAGCCTGGGCCTTCAGACCTCATGATC TTGGCCTTCAGCTTCTCAAGGTCAAGGCAGCCGAAGAG ACATCAGTTCTGCACGTGACTGAGCCTCCCCACTTC AAAACATTCTTCTTGATGTTGACTTTAAATCCAC AAGAGAATGTACAGTCTGGTGAGACTTGTGAGT CTCTGTAGGTCTTGTCACTCTCTTCCCTC ATGATCCTCTGAACATTGCTGACCTCAGAGAAGT CCAACCCATTCAAGGGTGGTGATCCTTAATG ACAGCAGCCTTCACATCTGATGTGAAGCTCTGCA ATTCTCTTCTCAATGCTTGCCTCATTGGAAGCTC TTAACTCCTTAGACAAGGACATCTTGTGCTCAA
	TGGTTTCTCAAGACAAATGCGCAATCAAATGCCT AGGATCCACTGTGCG

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>GGCACCAGGGATCCTAGCGTTAGTGCCTG      TTTGGTGCACAACTTCTCGTGGCTGAGGCTGTCAGA      AGTGGACCTGGCTGATAGCGATGGGTCAAGGCAA      GTCCAGAGAGGAGAAAGGCACCAATAGTACAAA      CAGGGCCGAAATCCTACCAAGATACCACCTATCTT      GCCCCTTAAGCTGCAAATCTTGTGGCAGAAATT      TGACAGCTGGTAAGATGCCATGACCACTACCTTT      GCAGGCAGTGTAAACCTCTGCTGTCAGTATCC      GACAGGTGTCCTTTGTAAATATCCATTACCAAC      CAGATTGAAGATATCAACAGCCCCAAGCTCTCCA      CCTCCCTACGAAGAGTAACACCGTCCGGCCCCGG      CCCCGACAAACAGCCCAGCACAAGGAAACCGCAC      GTCaCCCAACGCACACAGACACAGCACCCACAC      AGAACACGCACACACACACACACACACAC      CGCACGCGCCCCCACCACCGGGGGGGCGCCCCCCC      CCGGGGGGGCGGCCCCCGGGAGCCGGGGCGAG      CCCCACGGAGATGCCATCAGTCATGTCCTCGG      CCACCGACCCGCCcAGCCAATCGTCGCAGGACCTC      CCCTGAGTCTAACCTGCCCCCCTGCTGTCATA      CATCAAAGTGCTCCTAGATTGCTAAAACAAAGT      CTGCAATCCTAAAGCGAACCAAGTCTGGCAAAA      GCGACAGTGAATCAGCAGAAATAGATCTGTCTAT      ACATAGTTCTGGAGGATTACACTTATCTCTGAAC      CCAACAAATGTTACCCAGTTCTGAATCGATGCAG      GAAGAGGTTCCAAGGACATCACTAATCTTCAT      AGCCCTCAAGTCCTGCTAGAAAGACTTCATGTC      TTGGTCTCCAGCTCACAATGATATTGGACAAG      GTTTCTCCTCAAAAAGGGCACCCATCTTACAG</p>
---	--	---

	TCAGTGGCACAGGCTCCCACTCAGGTCCAACCTCTC TCAAAGTCAATAGATCTAATCCCATCCAGTATTCT TTTGGAGCCAAACAACACTCAAGCTCAAGAGAATCA CCAAGTATCAAGGGATCTTCCATGTAATCCTCAA ACTCTTCAGATCTGATATCAAAGACACCATCGTTC ACCTTGAAGACAGAGTCTGTCCTCAGTAAGTGGA GGCATTCATCCAACATTCTTCTATCTATCTCACCC TTAAAGAGGTGAGAGCATGATAAAAGTTCAGCCA CACCTGGATTCTGTAATTGGCACCTAACCAAGAA TATCAATGAAAATTCCTTAAACAGTCAGTATTAT TCTGATTGTGCGTAAAGTCCACTGAAATTGAAAAA CTCCAATACCCCTTTGTGTAGTTGAGCATGTAGT CCACACAGATCCTTAAGGATTAAATGCCTTG TTTGTCAAGGCCCTGCCTAATCAACATGGCAGCATT ACACACAAACATCTCCCATTGGTAAGAGAACAC CCAAAACCAAACTGCAAATCATTCTAAACATAG GCCTCTCCACATTTGTTCAACCACCTTGAGACA AATGATTGAAAGGGGCCAGTGCCTCAGCACCAT CTTCAGATGGCATCATTCTTATGAGGGAACCAT GAAAAATTGCCTAATGTCCTGGTTGCAACAA ATTCTGAACAAATGATTCAAATACACCTGTTT AAGAAGTTCTGCAGACATCCCTCGTCTAACAA CAAATTCAACCAGACTGGAGTCAGAACAGAACAGT ATGAGAATTGGCAAGGTCAAGAACAGAACAGT GTAATGTTCATCCCTTCCACTAACACATGAG AAATGAGTGACAAGGATTCTGAGTTAATATCAAT TAAAACACAGAGGTCAAGGAATTAAATTCTGGGA CTCCACCTCATGTTTTGAGCTCATGTCAGACAT AAATGGAAGAAGCTGATCCTCAAAGATCTTGGGA TATAGCCGCCTCACAGATTGAATCACTGGTTCAA ATTCACTTGTCCAGTAGCCTTGAGCTCTCAG
--	---

	GCTTTCTTGTACATAATCACATGGGTTAAGTGC TTAAGAGTTAGGTTCTCACTGTTATTCTTCCCTTG GTCGGTTCTGCTAGGACCCAAACACCCAACTCAA AAGAGTTGCTCAATGAAATACAAATGTAGTCCC AAGAAGAGGCCTTAAAGGCATATATGATCACGG TGGGCTTCTGGATGAGACTGTTGTCACAAATGTA CAGCGTTATACCATCCCGATTGCAAACCTTGTCA CATGATCATCTGTGGTTAGATCCTCAAGCAGCTT TTGATATACAGATTTCCCTATTTGTTCTCACA CACCTGCTCCTAGAGTTTGCAAAGGCCTATAAA GCCAGATGAGATACAACACTCTGAAAGCTGACTTG TTGATTGCTTCTGACAGCAGCTCTGTGCACCCCT TGTGAATTTACTACAAAGTTGTTCTGGAGTGTCT TGATCAATGATGGATTCTTCCTCTGGAAAGTC ATCACTGATGGATAAACCAACCTTTGTCTAAAC CATCCTTAATGGGAACATTCAATTCAAAC AGTTAACATCTGCTAACTGATTCAAGATCTTCTCA AGACCGAGGAGGTCTCCAATTGAAGAATGGCCT CCttttATCTCTGTTAAATAGGTCTAAGAAAAATT CTTCATTAAATTCAACCATTGGAGCTTATGATGC AGTTTCTTACAAGCTTCTTACAACCTTGTTCA TTAGGACACAGTCCTCAATGAGTCTTGTATTCT GTAACCTCTAGAACCATCCAGCCAATCTTCACAT CAGTGTGTTATTCAAGTAAATGGATCCAAAGG GAAATTGGCATACTTGTGAGGTCCAGTGTCTCC TTTGGATACTATTAACCTAGGGAGACTGGACGCC ATTGCGATGGCTTGATCTGCAATTGTATCTATTG TTTCACAAAGTTGATGTGGCTTTACACTGACA TTGTGTAGCGCTGCAGATACAAACTTGTGAGAA GAGGGACTCCTCCCCCATACATAGAATCTAGA TTAAATTCTGCAGCGAACCTCCCAGCCACACTTT
--	--

	TTGGGCTGATAAATTGTTAACAGCCGCTCAGA TGAGATTGGAATTCCAACAGGACAAGGGACTTCCT CCGGATCACTTACAACCAGGTCACTCAGCCTCCTA TCAAATAAAGTGATCTGATCATCACTGATGTGTA AGCCTCTGGTCTTCGCCAAAGATAACACCAATG CAGTAGTTGATGAAACCTCTCGCTAAGCAAACCAT AGAAGTCAGAAGCATTATGCAAGATTCCCTGCC CATATCAATAAGGCTGGATATATGGGATGGCACT ATCCCCATTCAAAATATTGCTGAAAATTCTCTC AGTAACAGTTGTTCTGAACCCCTGAGAAGTTTA GCTTCGACTTGACATATGATTTCATCATTGCATT ACAACAGGAAAGGGGACCTCGACAAGCTTATGCA TGTGCCAAGTTAACAAAGTGCTAACATGATCTTC CCGGAACGCACATACTGGTCATCACCTAGTTGA GATTGTTAGAACATTAAGAACAAAAATGGGCA CATCATTGGTCCCCATTGCTGTGATCCATACTAT AGTTAACAGGAGCCTGAAAAGAAACTTGAAAAAGA CTCAAAATAATCTTCTATTAACCTTGTGAACATT TTGTCCTCAAATCTCAATATAGAGTTCTCTATT CCCCAACCTGCTTTATAAGATAGTGCAAATT CAGCCTCCAGAGTCAGGACCTACTGAGGTGTAT GATGTTGGTGATTCTCTGAGTAGAACAGACAGATT TTCAAAAGCAGCACTCATAACATTgTGTCAACGACA GAGCTTACTAAGGGACTCAGAATTACTTCCCTC TCACTGATTCTCACGTCTTCCAGTTGTCCCA GTCAAATTGAAATTCAAGCCTTGCCTTGCATAT GCCTGTATTCCCTGAGTACGCATTGCATT TGCAACAGAACATCTTCAATGCAAGAAAACCAAT CATTCTCAGAAAAGAACATTCTACAAAGGTTTTT
--	---

	<p>         GCCATCTCATCGAGGCCACACTGATCTTAATGAC          TGAGGTGAAATACAAAGGTGACAGCTCTGTGGAA          CCCTCAACAGCCTCACAGATAAATTTCATGTCATC          ATTGGTTAGACATGATGGGTCAAAGTCTTCTACTA          AATGGAAAGATATTCTGACAAGATAACTTTCTT          AAGTGAGCCATCTCCCTGTTAGAATAAGCTGTA          AATGATGTAGTCCTTGTATTGTAAGTTTCTC          CATCTCCTTGTCTGGCCCTACCTCTCTGT          ACCGTGCTATTGTGGTGTGACCTTCTCGAGA          CTTTGAAGAAGCTTGTCTCTCTCCATCAA          ACATATTCTGCCAGGTTGTCTCCGATCTCCCTG          TCTCTCTCCCTGGAACCGATGACCAATCTAGAG          ACTAACTTGGAAACTTATATTCAAGTCTGAGTG          GCTCAACTTAACTTTGTTTCTTACGAAACTCTC          CGTAATTGACTCACAGCACTAACAGCAATTGT          TAAAGTCATATTCCAGAAGTCGTTCTCCATTAGA          TGCTTATTAACCACCACTTTGTTACTAGCAAG          ATCTAATGCTGTCGCACATCCAGAGTTAGTCATGG          GATCTAGGCTGTTAGCTCTCTCCTTGAAA          ATTAAAGTGCCGTTAAATGAAGACACCATTA          GGCTAAAGGCTTCCAGATTAACACCTGGAGTTGT          ATGCTGACAGTCATTTCTTACTAGTGAATCTCT          TCATTGCTCATAGAACACACATTCTCCTCAGGA          GTGATTGCTCCTGGGTTGACAAAAAAACCAA          ATTGACTTTGGCTCAAAGAACCTTCAAAACAT          TTTATCTGATCTGTTAGCCTGTCAGGGTCTCCTT          TGTGATCAAATGACACAGGTATGACACATTCAAC          ATAAATTAAATTGCACTCAACAAACACCTTCTC          ACCAGTACCAAAATAGTTTATTAGGAATCTA          AGCAGCTTATAACACCACCTCTCAGCAGGTGTGAT          CAGATCCTCCCTCAACTTATCCATTAATGATGTAG       </p>
--	---

	ATGAAAAATCTGACACTATTGCCATCACCAAATA TCTGACACTCTGTACCTGCTTTGATTCTCTTTGT TGGGTTGGTGAGCATTAGCAACAAATAGGGCCTC AGTGCAACCTCAATGTCGGTGAGACAGTCTTCA AATCAGGACATGATCTAATCCATGAAATCATGAT GTCTATCATATTGTATAAGACCTCATCTGAAAAAA TTGGTAAAAAGAACCTTTAGGATCTGCATAGAA GGAAATTAAATGACCATCCGGGCCTGTATGGAG TAGCACCTTGAAGATTCTCCAGTCTCTGGTATAA TAGGTGGTATTCTTCAGAGTCCAGTTTATTACTT GGCAAAACACTTCTTGCATTCTACCACCTGATAT CTCACAGACCCATTGATTTGCCTTAGTCTAGC AACTGAGCTAGTTTCATACTGTTGTTAAGGCCA GACAAACAGATGATAATCTCTCAGGCTCTGTAT GTTCTCAGCTGCTCTGCTGGGTTGAAATTGT AATCTCAAACCTCGTATAATACATTATCGGTGA GCTCCAATTTCATAAAGTTCTCAAATTCACTGAA TGGTATGTGGCATTCTGCTCAAGGTGTTAGACAG GTCCTGAATGCTCGAAACTCAGTCCCACCACTAA CAGGCATTTGAATTTGCAATGAACACTCACTAA TAGAtGCCCTAAACAATTCTCAAAAGACACCTT CTAAACACCTTGACTTTCTATTCTCAAAAG TCTAATGAACCTCTTACTGCTGTGAAAGCTTA CCAGCCTATCATTCAACTACTATAGCAACAACCC ACCCAGTGTATCAATGAGGAAAGACACAAAACAT CCAGATTTAACAACTGTCTCCTCTAGTATTCAAC AGTTCAAACACTTGACTTGTAAACATAGAGAG GAGCCTCTCATATTCACTGCTAGTCTCACTCCCC TTCTGTGCCATGGGTCTCTGCAGTTATGAATCTC ATCAAAGGACAGGATTGACTGCCTCCCTGCTTA
--	---

		ATGTTAAGATATCATCACTATCAGCAAGGTTTCA TAGAGCTCAGAGAATTCCCTGATCAAGCCTTCAG GGTTTACTTCTGAAAGTTCTCTTAATTCCAC TTTCTAAATCTCTTCTAAACCTGCTGAAAAGAGAG TTTATTCCAAAAACACATCATCACAGCTCATGTT GGGGTTGATGCCTCGTGGCACATCCTCATAATTT CATCATTGTGAGTTGACCTCGCATTTCAGAATT TTCATAGAGTCCATACCGGAGCGCTTGTGATAGT AGTCTTCAGGGACTCACAGAGTCTAAAATATTCA GACTCTCAAAGACTTCTCATTTGGTTAGAATA CTCCAAAAGTTGAATAAAAGGTCTCTAAATTG AAGTTTGCCCACTCTGGCATAAAACTATTATCATA ATCACAAACGACCATCTACTATTGGAACTAATGTG ACACCCGCAACAGCAAGGTCTTCCCTGATGCATG CCAATTGTTAGTGCCTCTATAAATTCTCTCA AAACTGGCTGGaGtGCTCCTAACAAAACACTCAAG AAGAATGAGAGAATTGTCTATCAGTTGTAACCA TCAGGAATGATAAGTGGTAGTCCTGGGCATACAA TTCCAGACTCCACCAAAATTGTTCCACAGACTTA TCGTCGTGGTTGTGTGCAGCCACTTTGTCTGC ACTGTCTATTCAATGCAGCGTGACAGCAACTTGA GTCCTCAATCAGAACCAATTCTGGGTTCCCTTGT CCCAGAAAGTTGAGTTCTGCCTGACAACCTCTC ATCCTGTTCTATATAGTTAACATAACTCTCTCA ATTCTGAGATGATTTCATCCATTGCGCATCAAAAAA GCCTAGGATCCTCGGTGCG
8	secuencia de aminoácidos de un epítopo derivado de la proteína HBs del HBV	VWLSVIWM
9	secuencia de aminoácidos de un epítopo derivado de la proteína HBs del HBV	IPQSLDSWWTSI
10	secuencia de aminoácidos de un epítopo 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>	<pre> CGCACCGGGGATCCTAGGCTTTGGATTGCGCTTCCTC TAGATCAACTGGGTGTCAGGCCCTATCCTACAGAAGGATG GGTCAGATTGTGACAATGTTGAGGCTCTGCCTCACATCA TCGATGAGGTGATCAACATTGTCAATTGTGCTTATCGT GATCACGGGTATCAAGGCTGTCTACAATTGCCCACCTGT GGGATATTGCATTGATCAGTTCTACTTCTGGCTGGCA GGTCCTGTGGCATGTACGGTCTTAAGGGACCCGACATT CAAAGGAGTTACCAATTAAAGTCAGTGGAGTTGATATG TCACATCTGAACCTGACCATGCCAACGCATGTCAGCCA ACAACCTCCCACCATTACATCAGTATGGGACTTCTGGACT AGAATTGACCTTCACCAATGATTCCATCATCAGTCACAAC TTTGCAATCTGACCTCTGCCTCAACAAAAAGACCTTG ACCACACACTCATGAGTATAGTTCGAGCCTACACCTCAG TATCAGAGGAACTCCAACATATAAGGCAGTATCCTGCGAC TTCAACAATGGCATAACCATCCAATACAACATTGACATTCT CAGATCGACAAAGTGCTCAGAGCCAGTGTAGAACCTTCAG AGGTAGAGTCCTAGATATGTTAGAACTGCCTTCGGGGGG AAATACATGAGGAGTGGCTGGGCTGGACAGGCTCAGATG GCAAGACCACCTGGTAGCCAGACGAGTTACCAATACCT GATTATACAAAATAGAACCTGGGAAAACCACACTGCACATAT GCAGGTCTTGGATGTCCAGGATTCTCCTTCCAAG AGAAGACTAAGTTCTTCACTAGGAGACTAGCGGGCACATT CACCTGGACTTGTCAACTCAGGGTGGAGAATCCA </pre>
----	--	--

## ES 2 934 698 T3

		GGTGGTTATTGCCTGACCAAATGGATGATTCTTGCTGCAG AGCTTAAGTHTTCGGGAACACAGCAGTGCAGAAATGCAA TGTAAATCATGATGCCAATTCTGTGACATGCTGCGACTA ATTGACTACAACAAGGCTGCTTGAGTAAGTTCAAAGAGG ACGTAGAATCTGCCTTGCACATTATTCAAAACAACAGTGAA TTCTTGATTCAGATCAACTACTGATGAGGAACCACTTG AGAGATCTGATGGGGTGCCATATTGCAATTACTCAAAGT TTTGGTACCTAGAACATGCAAAGACCGCGAAACTAGTGT CCCCAAGTGCTGGCTTGTACCAATGGTTCTTACTTAAAT GAGACCCACTTCAGTGATCAAATCGAACAGGAAGCCGATA ACATGATTACAGAGATTTGAGGAAGGATTACATAAAGAG GCAGGGGAGTACCCCCCTAGCATTGATGGACCTCTGATG TTTCCACATCTGCATATCTAGTCAGCATCTTCCTGCACC TTGTCAAATACCAACACACAGGCACATAAAAGGTGGCTC ATGTCAAAGCCACACCGATTAACCAACAAAGGAATTGT AGTTGTGGTGCATTTAAGGTGCCTGGTGTAAAAACCGTCT GGAAAAGACGCTGAAGAACAGCGCCTCCCTGACTCTCAC CTCGAAAGAGGTGGAGAGTCAGGGAGGCCAGAGGGTCTT AGAGTGTACAACATTGGCCTCTAAAAATTAGGTATG TGGCAGAATGTTGTGAACAGTTTCAGATCTGGGAGCCTT GCTTTGGAGGCCTTCAAAATGATGCAGTCATGAGTG CACAGTGCGGGGTGTATCTCTTCTTGTCCCTTAC TATTCCAGTATGCATCTTACACAACCAGCCATATTGTCC CACACTTGTCTTCATACTCCCTCGAAGCTCCCTGGTCA TTTCAACATCGATAAGCTTAATGTCCTCCATTCTGTGA GTCCAGAAGCTTCTGATGTCATCGGAGCCTTGACAGCTT AGAACCATCCCTCGGAAAGAGCACCTATAACTGACGAGG TCAACCCGGGTTGCGCATTGAAGAGGTGGCAAGATCCAT GCCGTGTGAGTACTTGAATCTTGCTTGAATTGTTTGA TCAACGGGTTCCCTGTAAGTGTATGAACGGCCATTAAATCT GTGGTTGGAAAATTGCTATTCCACTGGATCATTAAATCT
--	--	---

## ES 2 934 698 T3

	ACCCCTCAATGTCAATCCATGTAGGAGCGTTGGGTCAATT CCTCCCATGAGGTCTTTAAAAGCATTGTCGGCTGTAGC TTAAGCCCACCTGAGGTGGACCTGCTGCTCCAGGCCTGG CCTGGGTGAATTGACTGCAGGTTCTCGCTGTGAGATCA ATTGTTGTGTTCCATGCTCTCCCCACAATCGATGTTC TACAAGCTATGTATGCCATCCTCACCTGAAAGGCAAAC TTTATAGAGGATGTTTCATAAGGGTCTGTCCCCAACT TGGTCTGAAACAAACATGTTGAGTTCTCTGGCCCCGA GAAC TG CTT CAAGAGGT CTC GCT GTT GCT GG CTT GAT CAA AATTGACTCTAACATGTTACCCCCATCCAACAGGGCT GCC CTC GCTT CACGG CAGC ACCA AGACTAAAGTTATAGC CAGAAATGTTGATGCTGGACTGCTGTTCAAGATCATTA CAGAACTGGGTGCTTGCTTCAAGATGATGACCCCC AGATTGGATACTGACTGTTGAGCAAGCCAAGGTCTG TGAGCGCTTGTACAACGTCAATTGAGCGGAGTCTGTGACTG TTTGGCCATACAAGCCATAGTTAGACTGGCATTGTGCCA AATTGATTGTTAAAAGTGTGAGCTTTCACATCCAAA CTCTTACCAACCACTGCACCCCTGCTGAGGCTTCTCAT CCCAACTATCTGTAGGATCTGAGATCTTGGTCTAGTTGC TGTGTTGTTAAGTCCCCATATACCCCTGAAGCCTGGG GCCTTCAGACCTCATGATCTGGCCTTCAGCTCTCAAG GTCAGCCGCAAGAGACATCAGTTCTCTGCACTGAGCCTC CCCACTTCAAAACATTCTTGTGACTGTTAAAT CCACAAGAGAATGTACAGTCTGGTTGAGACTTCTGAGTCT CTGTAGGTCTTGTCACTCTCTTCCCTCATGATC CTCTGAACATTGCTGACCTCAGAGAAGTCCAACCCATTCA GAAGGTTGGTTGCATCCTTAATGACAGCAGCCTCACATC TGATGTGAAGCTCTGCAATTCTCTCAATGCTTGCCTC CATTGGAAGCTTTCAACTTCCTTAGACAAGGACATCTTGT TGCTCAATGGTTCTCAAGACAAATGCGCAATCAAATGCC TAGGATCCACTGTGCG
--	--

12	clon 13 segmento S del virus de la	<p>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>GCGCACCGGGATCCTAGGCTTTGGATTGCGCTTCCT  CTAGATCAACTGGGTGTCAAGGCCCTATCCTACAGAAGGAT  GGGTCAAGATTGTGACAATGTTGAGGCTCTGCCTCACATC  ATCGATGAGGTGATCAACATTGTCAATTGTGCTTATCG  TGATCACGGGTATCAAGGCTGTCTACAATTGCCACCTG  TGGGATATTGCATTGATCAGTTCTACTTCTGGCTGGC  AGGTCTGTGGCATGTACGGCTTAAGGGACCCGACATT  ACAAAGGAGTTACCAATTAAAGTCAGTGGAGTTGATAT  GTCACATCTGAACCTGACCATGCCAACGCATGTTCAGCC  AACAACTCCCACCATTACATCAGTATGGGACTTCTGGAC  TAGAATTGACCTTCACCAATGATCCATCATCAGTCACAA  CTTTGCAATCTGACCTCTGCCTCAACAAAAGACCTT  GACCACACACTCATGAGTATAGTTCGAGCCTACACCTCA  GTATCAGAGGAACTCCAACATAAGGCAGTATCCTGCGA  CTTCAACAATGGCATAACCATCCAATACAACATTGACATT  TCAGATGCACAAAGTGCTCAGGCCAGTGTAGAACCTTC  GAGGTAGAGTCCTAGATATGTTAGAACTGCCTCGGGGG  GAAATACATGAGGAGTGGCTGGGCTGGACAGGCTCAGAT  GGCAAGACCACCTGGTAGCCAGACGAGTTACCAATACC  TGATTATACAAATAGAACCTGGAAAACCACACTGCACATA  TGCAGGTCTTGGATGTCCAGGATTCTCCTTCCAA  GAGAAGACTAAGTCCTCACTAGGAGACTAGCGGGCACAT  TCACCTGGACTTGTCAACTTCAGGGGTGGAGAATCC  AGGTGGTTATTGCCTGACCAATGGATGATTCTGCTGCA  GAGCTTAAGTGTTCGGAACACAGCAGTTGCGAAATGCA  ATGTAATCATGATGAAGAATTCTGTGACATGCTGCGACT  AATTGACTACAACAAGGCTGCTTGAGTAAGTTCAAAGAG  GACGTAGAATCTGCCTGCACTTATTCAAACACAGTGA  ATTCTTGATTCAGATCAACTACTGATGAGGAACCACT  GAGAGATCTGATGGGGTGCCATATTGCAATTACTCAAAG  TTTGGTACCTAGAACATGCAAAGACCGGGCAAACAGTG</p>
----	------------------------------------	---

# ES 2 934 698 T3

		TCCCCAAGTGCTGGCTGTCACCAATGGTCTTACTTAAA TGAGACCCACTTCAGTGACCAAATCGAACAGGAAGCCGAT AACATGATTACAGAGATGTTGAGGAAGGATTACATAAAGA GGCAGGGGAGTACCCCCCTAGCATTGATGGACCTTCTGAT GTTTCCACATCTGCATATCTAGTCAGCATCTCCTGCAC CTTGTCAAAATACCAACACACAGGCACATAAAAGGTGGCT CATGTCCAAGCCACACCGATTAACCAACAAAGGAATTG TAGTTGTGGTGCATTTAAGGTGCCTGGTGTAAAAACCGTC TGGAAAAGACGCTGAAGAACAGCGCCTCCCTGACTCTCCA CCTCGAAAGAGGTGGAGAGTCAGGGAGGCCAGAGGGTCT TAGAGTGTACAACATTGGCCTCTAAAATTAGGTCA GTGGCAGAATGTTGTGAACAGTTTCAGATCTGGGAGCCT TGCTTGGAGGCCTTCAAAATGATGCGAGTCCATGAGT GCACAGTGCAGGGTGATCTCTTCTTCTTTGTCCCTTA CTATTCCAGTATGCATCTTACACAACCAGCCATATTGTC CCACACTTTGTCTTCATACTCCCTCGAAGCTCCCTGGTC ATTCAACATCGATAAGCTTAATGTCCTCCTATTCTGTG AGTCCAGAACGCTTCTGATGTATCGGAGCCTGACAGCT TAGAACCATCCCTGCGGAAGAGCACCTATAACTGACGAG GTCAACCCGGTTGCGCATTGAAGAGGTGGCAAGATCCA TGCCGTGTGAGTACTTGAATCTGCTGAATTGTTTG ATCAACGGGTTCCCTGTAAGTGTATGAACGTCCCGTTC TGTGGTTGAAAATTGCTATTCCACTGGATCATTAATC TACCCCTCAATGTCAATCCATGTAGGAGCGTTGGGTCAAT TCCTCCCATGAGGTCTTTAAAAGCATTGTCGCTGGCTGTAG CTTAAGCCCACCTGAGGTGGACCTGCTGCTCCAGGCCTG GCCTGGGTGAATTGACTGCAGGTTCTCGCTTGAGATC AATTGTTGTGTTTCCCATGCTCTCCCACAATCGATGTT CTACAAGCTATGTATGCCATCCTCACCTGAAAGGCAA CTTATAGAGGATGTTTCATAAGGGTCTGTCCCCAAC TTGGTCTGAAACAAACATGTTGAGTTCTCTGGCCCCG
--	--	---

## ES 2 934 698 T3

		<pre> AGAACTGCCCTCAAGAGGTCTCGCTGTTGCTGGCTTGA TCAAAATTGACTCTAACATGTTACCCCCATCCAACAGGGC TGCCCTGCCCTCACGGCAGCACCAAGACTAAAGTTATAG CCAGAAATGTTGATGCTGGACTGCTGTTAGTGATGACCC CCAGAACTGGGTGCTTGTCTTCAGCCTTCAAGATCATT AAGATTGGATACTTGACTGTGTAAAGCAAGCCAAGGTCT GTGAGCGCTTGTACAACGTCATTGAGCGGAGTCTGTGACT GTTGGCCATACAAGCCATAGTTAGACTTGGCATTGTGCC AAATTGATTGTTCAAAAGTGATGAGTCTTCACATCCAA ACTCTTACCAACACCACCTGCACCCCTGCTGAGGCTTCTCA TCCCAACTATCTGTAGGATCTGAGATCTTGGTCTAGTTG CTGTGTTGTTAAGTTCCCCATATACCCCTGAAGCCTGG GGCCTTCAGACCTCATGATCTTGGCCTCAGCTCTCAA GGTCAGCCGCAAGAGACATCAGTTCTGCACGTGAGCCT CCCCACTTCAAAACATTCTTCTTGATGTTGACTTTAAA TCCACAAGAGAATGTACAGTCTGGTTGAGACTTCTGAGTC TCTGTAGGTCTTGTACATCTCTCTTCCCTCATGAT CCTCTGAACATTGCTGACCTCAGAGAAGTCCAACCCATTG AGAAGGTTGGTTGCATCCTTAATGACAGCAGCCTCACAT CTGATGTGAAGCTCTGCAATTCTCTCAATGCTTGCCTG CCATTGGAAGCTTTAACTCCTTAGACAAGGACATCTTG TTGCTCAATGGTTCTCAAGACAAATGCGCAATCAAATGC CTAGGATCCACTGTGCG </pre>
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;	<pre> GCGCACCGGGATCCTAGGCATTTGTTGCGCATTGTTG TGTGTTATTGTTGCACAGCCCTTCATCGTGGGACCTTCA CAAACAAACCAACCACCCAGCCATGGGCCAAGGCAAGTCC AAAGAGGGAAGGGATGCCAGCAATACGAGCAGAGCTGAAA TTCTGCCAGACACCACCTATCTCGGACCTCTGAACGCTGCAA GTCATGCTGGCAGAGATTGACAGTTAGTCAGATGCCAT GACCACTATCTCTGCAGACACTGCCTGAACCTCCTGCTGT CAGTCTCCGACAGGTGCCCTCTGCAAACATCCATTGCC </pre>

## ES 2 934 698 T3

	<p>sin embargo, el intercambio de todas las timidinas ("T") en SEQ ID NO: 13 por uridinas ("U") proporciona la secuencia de ARN).</p>	<p>AACCAAACTGAAAATATCCACGGCCCCAAGCTCTCCACCC CCTTACGAGGAGTGACGCCCGAGCCCCAACACCGACACA AGGAGGCCACCAACACAACGCCAACACGGAACACACACA CACACACCCACACACACATCCACACACACACGCGCCCCACA ACGGGGGCGCCCCCCCCGGGGTGGCCCCCGGGTGCTCGG GCGGAGCCCACGGAGAGGCCAATTAGTCATCTCGA CCACCGACTTGGTCAGCCAGTCATCACAGGACTTGCCCTT AAGTCTGTACTTGCCCACAACACTGTTCATACATCACCGTG TTCTTGACTTACTGAAACATAGCCTACAGTCTTGAAAG TGAACCAGTCAGGCACAAGTGACAGCGGTACCAAGTACAAT GGATCTATCTACACAACTCTGGAGAATTGTGCTAATT TCCGACCCCTGTAGATGCTCACCAAGTTCTGAATCGATGTA GAAGAAGGCTCCCAAGGACGTCAAAATTCCATAACC CTCGAGCTTGCCAAGAAAACACTCTCATATCCTGGTCTCC AGTTTCACAACGATGTTCTGAACAAGGCTTCTCCCTCAA AAAGAGCACCCATTCTCACAGTCAGGGCACAGGCTCCCA TTCAGGCCAATCCTCTCAAAATCAAGGGATCTGATCCCG TCCAGTATTTCTTGAGCCTATCAGCTCAAGCTCAAGAG AGTCACCGAGTATCAGGGGTCTCCATATAGTCCTCAA CTCTTCAGACCTAATGTCAAAACACCACGTTCACCTG AAGATAGAGTCTGATCTCACAGGTGGAGGCATTGTCCA AGAACCTCTGTCCACCTCACCTTAAAGAGGTGAGAGCA TGATAGGAACCTCAGCTACACCTGGACCTTGTAACCTGGCAC TTCACTAAAAAGATCAATGAAAACCTCTCAAACAATCAG TGTATTCTGGTTGTGAGTGAAATCTACTGTAATTGAGAA CTCTAGCACTCCCTGTATTATTATCATGTAATCCCAC AAGTTCTCAAAGACTTGAATGCCTTGGATTGTCAAGC CTTGTGATTAGCATGGCAGCATTGCACACAATATCTCC CAATCGGTAAGAGAACCATCCAAATCCAAATTGCAAGTCA TTCTAACATGGGCCTCTCCATATTTGTTCACTACTT TTAAGATGAATGATTGGAAAGGCCCAATGCTTCAGCGCC</p>
--	---	--

# ES 2 934 698 T3

		ATCTTCAGATGGCATCATGTCTTATGAGGGAACCATGAA AAACTCCTAGAGTCTGCTTGTGCTACAAATTCTCGTA CAAATGACTCAAATACACTGTTAAAAGTTTGCA GACATCCCTGTACTAACGACAAATTCAACAAGGCTT GAGTCAGAGCGCTGATGGAAATTACAAGATCAGAAAATA GAACAGTGTAGTGTTCGTCCTCTTCCACTTAACATACATG AGAAAATGAGCGATAAAAGATTCTGAATTGATATCGATCAAT ACGCAAAGGTCAAGGAATTGATTCTGGACTCCATCTCA TGTGTTTGAGCTCATATCAGACATGAAGGGAAGCAGCTG ATCTTCATAGATTTAGGGTACAATCGCCTCACAGATTGG ATTACATGGTTAAACTTATCTTGTCCCTCAGTAGCCTTG AACTCTCAGGCTTCCTGCTACATAATCACATGGTTCAA GTGCTTGAGGCTTGAGCTTCCCTCATTCTCCCTTCACA GGTTCAAGACCCAAACACCCAACTCAAAGGAATTAC TCAGTGAGATGCAAATATAGTCCAAAGGAGGGCCTCAA GAGACTGATGTGGTCGCAGTGAGCTCTGGATGACTTGC CTGTCACAAATGTACAACATTATGCCATCATGTCTGTGGA TTGCTGTACATGCGCATCCATAGCTAGATCCTCAAGCAC TTTCTAAATGTATAGATTGTCCCTATTTTATTCTCACA CATCTACTTCCAAAGTTTGCAAAGACCTATAAAGCCTG ATGAGATGCAACTTGAAGGCTGACTTATTGATTGCTTC TGACAGCAACTTCTGTGCACCTCTTGTGAACTTACTGCAG AGCTTGTCTGGAGTGTCTTGATTAATGATGGATTCTT CCTCTGGAAAGTCATTACTGATGGATAAACCACTTCTG CCTCAAGACCATTCTTAATGGGAACAACCTATTCAAATTC AGCCAATTATGTTGCCAATTGACTTAGATCCTCTTGA GGCCAAGGATGTTCCAACTGAAGAATGGCTTCCTTT ATCCCATTGAAGAGGTCTAAGAAGAATTCTTCATTGAAC TCACCATTCTTGAGCTTATGATGTAGTCTCCTTACAAGCC TTCTCATGACCTTCGTTCACTAGGACACAATTCTCAAT AAGCCTTGGATTCTGTAACCTCTAGAGCCATCCAACCAA
--	--	--

# ES 2 934 698 T3

	TCCTTGACATCAGTATTAGTGTAAAGCAAAATGGGTCCA AGGGAAAGTGGCATATTTAAGAGGTCTAATGTTCTCTT CTGGATGCAGTTACCAATGAAACTGGAACACCATTGCA ACAGCTTGATCGGCAATTGTATCTATTGTTACAGAGTT GGTGTGGCTCTTACACTAACGTTGTGTAATGCTGCTGA CACAAATTTGTTAAAAGTGGACCTCTTCCCCCACACA TAAAATCTGGATTTAAATTCTGCAGCAAATGCCAACCA CACTTTCGGACTGATGAACTTGTTAAGCAAGCCACTCAA ATGAGAATGAAATTCCAGCAATACAAGGACTCCTCAGGG TCACTATCAACCAGTTCACTCAATCTCCTATCAAATAAGG TGATCTGATCATCACTGATGTGTAAGATTCTGGTCTCTC ACCAAAATGACACCGATAACAATAATTGAATCTCTCA CTGATTAAGCCGTAAAAGTCAGAGGCATTATGTAAGATTC CCTGTCCCAGTCATGAGACTGCTTATATGGGAAGGCAC TATTCTAATTCAAATATTCTGAAAGATTCTTCAGTC ACAGTTGTCTCTGAACCCCTAAGAAGTTCACTGTTGATT TGATATATGATTCATCATTGCATTCAACACAGGAAAGG GACCTCAACAAGTTGTGCATGTGCCAAGTTAATAAGGTG CTGATATGATCCTTCCGGAACGCACATACTGGTCATCAC CCAGTTGAGATTTGAAGGAGCATTAAAACAAAAATGG GCACATCATTGGCCCCATTGCTATGATCCATACTGTAG TTCAACAACCCCTCTCGCACATTGATGGTCATTGATAGAA TTGCATTTCAAATTCTTGTCAATTGTTAAGCATGAACC TGAGAAGAAGCTAGAAAAAGACTCAAATAATCCTCTATC AATCTTGTAACATTGGTCTCAAATCCCAATATAAA GTTCTCTGTTCTCCAACCTGCTTTGTATGATAACGC AAACTCAACCTCCGGAATCAGGACCAACTGAAGTGTAT GACGTTGGTACTCCTCTGAGTAAAACATAATTCTTAA AAGCAGCACTCATGCATTTGTCAATGATAGAGCCTTACT TAGAGACTCAGAATTACTTCCCTTCACTAATTCTAACAA TCTTCTCTAGTTGTCCCAGTCAAACATTGAAATTCAAGAC
--	---

# ES 2 934 698 T3

	CTTGTCTTGATGTGCCTGTATTCCTGAGTATGCATT TGCATTCATTGCAGTAGAATCATTTACACGAAAAC CAATCACCCCTGTAAAAACTTCCTGCAGAGGTTTG CCATTCATCCAGACCACATTGTTCTTGACAGCTGAAGT GAAATACAATGGTGACAGTCTGTAGAAGTTCAATAGCC TCACAGATAAATTCATGTCATCATTGGTGAGACAAGATG GGTCAAAATCTTCCACAAGATGAAAAGAAATTCTGATAA GATGACCTCCTTAAATATGCCATTACCTGACAATATA GTCTGAAGGTGATGCAATCCTTGTATTTCAAACCCCA CCTCATTTCCTTCATTGGTCTTGCCTTTCATA CCGCTTATTGTGGAGTTGACCTATCTCTAAATTCTG AAGAAAATTGTCCTTCTCCCCATCAAAGCATATGTCG CTGAGTCACCTCTAGTTCCCAGCTCTGTTCTTCTG GCCGATAACCAATCTAGAGACCAACTTGAAACCTTGAC TCGTAATCTGAGTGGTCAATTGTAATTCTGCTTCTCA TGAAGCTCTGTGATCTGACTCACAGCACTAACAGCAA TTTGTAAAATCATACTCTAGGAGCCCTTCAATTAA TGTGTTAACAAACCAACTTTGCTGGCAAGGTCTA ATGCTGTTGCACACCCAGAGTTAGTCATGGGATCCAAGCT ATTGAGCCTTCTCCCTTGAAAATCAAAGTGCCTTG TTGAATGAGGACACCACATGCTAAAGGCCAGATTGA CACCTGGGTTGTGCGCTGACAGTCACACTCTTCCAGT GAACTTCTCATTGGTCATAAAAAACACACTCTCCTCA GGGGTGATTGACTCTTAGGGTTAACAAAGAAGCCAAACT CACTTTAGGCTCAAAGAATTCTCAAAGCATTAAATTG ATCTGTCAGCCTATCAGGGTTCTTGATTAAATGA CACAGGTATGACACATCAACATGAACATTGAACTTGC TCAACAGTACCTTCACCAGTCCAAAAACAGTTGAT CAAAATCTGAGCAATTGTACACTACTTCTCAGCAGGT GTGATCAAATCCTCCTCAACTTGTCCATCAATGATGTGG ATGAGAAGTCTGAGACAATGGCCATCACTAAATACCTAAT
--	--

# ES 2 934 698 T3

		<p>GT TTTGAACCTGTTTGATTCCCTTTGGGGTTGGTG AGCATGAGTAATAATAGGGTTCTCAATGCAATCTCAACAT CATCAATGCTGCCTCAAGTCAGGACATGATCTGATCCA TGAGATCATGGTGTCAATCATGTTGTGCAACACTTCATCT GAGAAGATTGGTAAAAGAACCTTTGGGTCTGCATAAA AAGAGATTAGATGCCATTGGACCTTGATAGAATAACA CCTGAGGATTCTCCAGTCTTGATACAGCAGGTGATAT TCCTCAGAGTCCAATTTATCACTGGCAAACACCTCTT TACATTCCACCACTTGATACCTTACAGAGCCAATTGGTT TTGTCTTAATCTAGCAACTGAACCTGTTCTACTGTT GTCAAAGCTAGACAGACAGATGACAATCTTCAAACAT GCATGTTCTTAATTGTTCCGTATTAGGCTGGAAATCATA ATCTCAAACTTGTATAATACATTATAGGATGAGTCCG GACCTCATGAAATTCTCAAACACTCAATAAAATGGTATGTGGC ACTCATGCTCAAGATGTTCAGACAGACCATAGTGCCAAA ACTAAGTCCCACCACTGACAAGCACCTTGAACCTTAAA ATGAACCTTATGGATGTTCTAAACAAATCCTCAAGAG ATACCTTCTATACGCCCTTGACTTCTCTGTTCTTAG AAGTCTGATGAACCTCCCTGGTCTATGAAAGCTCACC AACCTATCATTACACACTCCATAGCAACAACCAACCCAGT GCTTATCATTGGACCCCTTGAGTTAGACTGTTGAT CAACGAAGAGAGACACAAGACATCCAAATTCACTGTT CTCCTCTGGTCTCAATAATTAAACTTTAACTTTGAT TCAACATAGAGAGGAGCCTCTCATAACTCAGTGCTAGTCTC ACTCCTCTCTCATAACCATGGGTATCTGCTGTGATAAAT CTCATCAAAGGACAGGATTCAACTGCCTCCTGCTTAGTG CTGAAATGTCATCACTGTCAGCAAGAGTCTCATAAGCTC AGAGAATTCTTAATTAAATTCCGGGTTGATTTCTGA AAACTCCTCTGAGCTCCCAGTTCCAAGTCTTCTAA ACCTGCTGTAAAGGGAGTTATGCCAAGAACACATCATC GCAGTTCATGTTGGGTTGACACCATCATGGCACATTTC</p>
--	--	--

		ATAATTCATCATTGTGAAATGATCTGCATCTTCAGA TTTCATAGAGTCTATACCGGAACGCTTATCAACAGTG CTTGAGAGATTGCAAAGTCTGAAGTACTCAGATTCTCA AAGACTTCTCATCTGGCTAGAATACTCTAAAAGTTAA ACAGAAGGTCTGAACCTGAAATTACCCACTCTGGCAT AAAGCTGTTATCATAATCACACCGACCATCCACTATTGG ACCAATGTGATAACCGCAATGGCAAGGTCTCTTGATAC AGGCTAGTTATTGGTGTCTCTATAAATTCTCTCAAA ACTAGCTGGTGTGCTCTAACGAAGCACTCAAGAAGAATG AGGAAATTGTCATCAGTTATAACCACAGGAATGATCA AAGGCAGTCCCAGGACACAACTCCAGACTCTATTAGAAT TGCCTCAACAGATTTATCATCATGGTTGTATGCAGCCG CTCTTGTCACTGTCTATCTCTATAACACGCGACAAAA GTTGAGTCCCTCTATCAATACCATTCTGGTTCTCTTG CCCTAAAAAGTTGAGCTCTGCCTTGACAACCTCTCATCT TGTTCTATGTGGTTAACGACAACCTCTCAACTCCGAAA TAGCCTCATCCATTGCGCATCAAAAGCCTAGGATCCTCG GTGCG
14	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.)	CGCACCGGGGATCCTAGGCTTTTGATTGCGCTTCC AGCTCCGTCTGTGGAGAATGGGCAAATTGTGACGATG TTTGAGGCTCTGCCTCACATCATTGATGAGGTCAATT ACGTTGTCATTATCGTGCTTATTATCATCACGAGCAT AAAGC TGTGTACAATTGCCACCTGCGGGATACTGCATTGATC AGCTTCTTTCTGGCTGGCAGGTCTGTGGAATGTATG GTCTTGATGGCCTGACATTACAAAGGGTTACCGATT CAAGTCAGGGAGTTGACATGTCTAACCTAACCTGACG ATGCCAATGCATGTTGGCAAACAACTCCCATCATTATA TAAGTATGGGACTTCTGGATTGGAGTTAACCTCACAAA TGACTCCATCATCACCCACAACCTTTGTAATCTGACTT GCCCTCAACAAGAGGACTTTGACCACACACTATGAGTA TAGTCTCAAGTCTGCACCTCAGCATTAGAGGGTCCCCAG

# ES 2 934 698 T3

	CTACAAAGCAGTGTCTGTATTAAACAATGGCATCACTATTCAATACAACCTGTCATTTCTAATGCACAGAGCGCTCTGAGTCAATGTAAGACCTCAGGGGGAGAGTCCTGGATATGTTCAGAACTGCTTTGGAGGAAAGTACATGAGGAGTGGCTGGGCTGGACAGGTTCAGATGGCAAGACTACTTGGTGCAGCCAGACAAACTACCAATATCTGATTATAACAAAACAGGACTTGGGAAAACCACTGCAGGTACGCAGGCCCTTCGGAATGTCTAGAATTCTCTCGCTCAAGAAAAGACAAGGTTCTAACTAGAAGGCTTGCAAGGCACATTCACTGGACTTTATCAGACTCATCAGGAGTGGAGAATCCAGGTGGTTACTGCTTGACCAAGTGGATGATCCTCGCTGCAGAGCTCAAGTGGATTCAGACGCTGTTGACCAACAGCTGTTGCAAAGTGCAATGTAAATCATGATGAAGAGTTCTGTGATATGCTACGACTGATTGATTACAACAAGGCTGCTTGAGTAAATTCAAAGAAGATGTAGAATCCGCTCTACATCTGTTCAAGACAACAGTGAATTCTTGATTCTGATCACTGTTGATGAGAAATCACCTAAGAGACTTGATGGAGTGCCATACTGCAATTACTCGAAATTCTGGTATCTAGAGCATGCAAAGACTGGTGAGACTAGTGTCCCCAAGTGCTGGCTTGTCAAGCAATGGTCTTGAATGAAACCCATTCAGCGACCAAATTGAGCAGGAAGCAGATAATATGATCACAGAAATGCTGAGAAAGGACTACATAAAAGGCAAGGGAGTACCCCTCTAGCCTTGATGGATCTATTGATGTTCTACATCAGCATATTGATCAGCATCTTCTGCATCTGTGAGGATACCAACACACAGACACATAAAGGGGGCTCATGCCAAAACCACATCGGTTAACCGAAGGGAAATCTGTAGTTGTGGTGCATTAAAATGACCGAGGTGTGGAAACCACCTGGAAAAGACGCTGAACAGCAGCGCTCCCTGACTCACCACCTCGAAAGAGGTGGTAGCAGGGAGGCCAGAGGGCTTAGAGTGTACGACATTGAGCTCTGAAGATTAGGTATGTGGTAGGATATTGTGGACAGTTTCAGGTGGGGAGCCTGGCCTTGGAGGCGCTTCAAGATGATAACAGTCCATGAGTGCACAGTGTGGGTGACCT
--	--

# ES 2 934 698 T3

	CTTCCTTTCTTGTCCCTCACTATTCCAGTGTGCATCTT GCATAGCCAGCCATATTGTCCCAGACTTGTCCCTCATAT TCTCTTGAAGCTTCTTAGTCATCTCAACATCGATGAGCT TAATGTCTCTCTGTTTGTGAATCTAGGAGTTCTGAT GTCATCAGATCCCTGACAACCTAGGACCATTCCCTGTGGA AGAGCACCTATTACTGAAGATGTCAGCCCAGGTTGTGCAT TGAAGAGGTCAAGGTCCATGCCATGTGAGTATTGGA GTCCTGCTTGAATTGTTTGTAGCTGGTTCTCTATAG AAATGTATGTACTGCCATTCTGTGGCTGAAATATTGCTA TTTCTACCGGGTCAATTAAATCTGCCCTCAATGTCAATCCA TGTAGGAGCGTTAGGGTCAATACCTCCATGAGGTCTTC AGCAACATTGTTGGCTGTAGCTTAAGCCCACCTGAGGTG GGCCCGCTGCCCAAGGCCTGGTTGGGTGAGTTGCCAT AGGCCTCTCATTGTCAGATCAATTGTTGTGTTCTCCAT GCTCTCCCTACAACCTGATGTTCTACAAGCTATGTATGCC ACCCCTCCCTGAAAGACAGACTTGTAGAGGATGTTCTC GTAAGGATTCTGTCTCCAACCTGATCAGAAACAAACATG TTGAGTTCTTCTGGCCCCAAGAACTGCTTCAGGAGAT CCTCACTGTTGCTGGCTTAATTAAGATGGATTCCAACAT GTTACCCCCATCTAACAAAGGCTGCCCTGCTTCACAGCA GCACCGAGACTGAAATTGTAGCCAGATATGTTGATGCTAG ACTGCTGCTCAGTGATGACTCCAAAGACTGGGTGCTTGTC TTTCAGCCTTCAAGGTCACTTAGGTTGGGTACTTGACT GTGAAAGCAGCCCAAGGTCTGTGAGTGCTGCACACGT CATTGAGTGAGGTTGTGATTGTTGCCATACAAGCCAT TGTAAAGCTTGGCATTGTGCCAATTGATTGTTCAGAAGT GATGAGTCCTCACATCCCAGACCCCTCACCAACACCATTG CACTCTGCTGAGGTCTCCTCATTCCAACCATTTGCAGAAT CTGAGATCTTGGTCAAGCTGTTGCTGTTAAGTTCCCC ATGTAGACTCCAGAAGTTAGAGGCCTTCAGACCTCATGA TTTAGCCTTCAGTTTCAAGGTCAAGGTCAAGCTGCAAGGGACAT
--	---

		CAGTTCTTCTGCACTAAGCCTCCCTACTTTAGAACATTC TTTTTGATGTTGACTTTAGGTCCACAAGGGAATACACAG TTTGGTTGAGGCTTCTGAGTCTCTGTAAATCTTGTCACTC CCTCTTCTCTTCCTCATGATCCTCTGAACATTGCTCACC TCAGAGAAGTCTAATCCATTAGAAGGCTGGTGGCATCCT TGATCACAGCAGCTTCACATCTGATGTGAAGCCTTGAAG CTCTCTCCTCAATGCCTGGGTCCATTGAAAGCTTTAACT TCTTGGACAGAGACATTTGTCACTCAGTGGATTTCAA GTCAAATGCGCAATCAAAATGCCTAGGATCCACTGTGCG
15	secuencia de aminoácidos de la proteína NP de la cepa MP de LCMV	MSLSKEVKSFQWTQALRRELQGFTSDVKAIVIKDATSLLN GLDFSEVSNVQRIMRKEKRDDKDLQRLRSILNQTVYSLVDL KSTSKKNVLKVGRSLAELMSLAADLEKLAKIMRSERPL TSGVYMGNLTAQQLDQRSQILQMVGMRRPQQSANGVVRW DVKDSSLNNQFGTMPSLTMACMAKQSQTSLNDVVQALTD LGLLYTVKYPNLSLDERLKDHPVVLGVITEQQSSINISGY NFSLGAAVKAGAALLDGGNMLESILIKPSNSEDLKAVLG AKKKLNMFVSDQVGDRNPYENILYKVCLSSEGWPYIACRT SVVGRAWENTTIDLTNERPMANSPKPAPGAAGPPQVGLSY SQTMLLKDLMGgidPNAPTWIDIEGRFNDPVEIAIFQPQN GQYIHFYREPTDQKQFKQDSKYSHGMDLADLFNAQPGLTS SVIGALPQGMVLSCQGSDDIRKLLDSQNRDRIKLIDVEMT KEASREYEDKVWDKYGWLCMHTGIVRDKKKKEVTPHCAL MDCIIFESASKARLPDLKTVHNILPHDLIFRGPNVVTL
16	secuencia de aminoácidos de la proteína GP de la cepa MP de LCMV	MGQIVTMFEALPHIIDEVINIVIIVLIIITSIKAVYNFAT CGILALISFLFLAGRSCGMYGLDGPDIYKGVYRFKSVEFD MSYLNLTMPNACSAANSHHYISMGTSGLELTFTNDSIITH NFCNLTSALNKRTFDHTLMSIVSSLHLSIRGVPSYKAVSC DFNNGITIQYNLSFSNAQSALSQCKTFRGRVLDMFRTAEG GKYMRSRGWGTGSDGKTTWCSQTNYQYLIIQNRTWENHCR YAGPFGMSRILFAQEKTRFLTRRLAGTFTWTLSDSSGVEN PGGYCLTKWMILAAELKCFGNTAVAKCNVNHDEEFCDMLR

		LIDYNKAALSKFKEDVESALHLFTTVNSLISDQLLMRNH LRDLMGVPCNYSKFWYLEHAKTGETSPKCWLVSNGSYL NETHFSDQIEQEADNMITEMLRKDYIKRQGSTPLALMDLL MFSTSAYLISIFLHLVRIPTHRHIKGGSCKPHRLTSKGI CSCGAFKVPGVETTWKRR
17	secuencia de aminoácidos de la proteína L de la cepa MP de LCMV	MDEAISELRELCLNHIEQDERLSRQKLNFLGQREPRMVLI EGLKLLSRCIEIDSADKSGCIHNHDDKSVEAILIESGIVC PGLPLIIPDGYKLIDNSLILLECFVRSTPASFEKKFIEDT NKLACIKEDLAIAGITLVPIVDGRCDYDNSFMPEWVNFKF RDLLFKLLEYSSQDEKVFESEYFRLCESLKTVDKRSGI DSMKILKDARSFHNDIMKMCHDGVPNPNMNCDDVVLGINS LYSRFRDLETGKLKRSFQKINPGNLIKEFSELYETLADS DDISALSKEAVESCPLMRFITADTHGYERGSETSTEYERL LSMLNKVKSLKLLNTRRRQLLNLDVLCLSSLIKQSKLKGS KNDKHWVGCCYGSVNDRLVSFHSTKEEFIRLLRNRRKSKA YRKVSLEDLFRTSINEFILKVQRCLSVVGLSGHYGLSEH LEHECHIPIEFENFMRSGTHPIMYYTKFEDYDFQPNTEQ LRNMHSLKRLSSVCLALTNSMKTSSVARLRQNQLGSVRYQ VVECKEVFCQVIKLDSEEHLLYQKTGESSRCYSIQGPNG HLISFYADPKRFFLPIFSDVLHNIMDTMISWIRSCPDLK DSIDDVETALRTLMLTNPTKRNQKQVNIRYLVMAIV SDFSSTSLSMDKLKEDLITPAEKVVYKLLRFLIKTVFGTGE KVLLSAFKFMLNVSYLCHLITKETPDRLTDQIKCFEKFF EPKSEFGFFVNPKESITPEEECVFYDQMKKFTGKEVDCQR TTPGVNLEAFSMMVSSFNNGTLIFKGEKRLNSLDPMTNSG CATALDLASNKSVVVNKHNGERLLEYDFNKLLVSAVSQI TESFMRKQKYKLNHSDYEKVSKLVSRLVIGSKETEAGKL EGDSADICFDGEEETSFFKNLEDKVNSTIKRERSKKTNE GENEVGFENTKGLHHLQTILSGKMAYLRKVILSEISFHLV EDFDPSCLTNDDMKFICEAIETSTELSPLYFTSAVKEQCG LDEMAKNLCKFFSEGDWFSCMKMILLQMNANAYSGKYRH

		MQRQGLNFKFDWDKLEEDVRI SERESNSESLSKALS LT KC MSAALKNLCFYSEESPTSYT SVGPDSGRLKF ALSYKEQVG GNRELYIGDLRTKMFTRLIEDYFESFSSFFSGSCLNN DKE FENAILSMTINVREGLLNYSMDHSK WGPMMCPFLFLMLLQ NLKLGDDQYVRSGKDHI STLLTWHMHKLVEVPFPVV NAMM KSYIKSKLKL LRGSETTVTERIFREYFELGIVP SHISSLI DMGQGILHNASDFYGLISERFIN YCIGVIFGERPESYTSS DDQITLFDRRLSELVDSDPEEVVLVLEFHSHL SGLLNKFI SPKS VVGRFAAEFKSRFYVWGEEVPLLT KFVSAALHNVKC KEPHQLCETIDTIADQAVANGVPVSLVNCI QKRTLDLLKY ANFPLDPFLLNTNTDVKDWL DGSRGYR IQRLIEELCPSET KVMRRLVRRLHHKLKNGEFNEEFFLDLFNRDKKEA ILLQG NILGLEEDLSQLANINWLN LNEFLPLRMVLRQKV VYPSVM TFQEERIPLIKTLQNKLC SKFTRGAQKL LSEAINKSAFQ SCISSGFIGLCKTLGSRCVRNKNRDNL YIRKVLEDLAMDA HTAIHRHDGIMLYICDRQSHPEAHCDHISLLRPLLWDYI CISLSNSFELGVWVLAEPVKGKNEGSSSLKHLNP CDYVAR KPESSRLLEDKISLNHVIQSVRRLY PKIYEDQLLPFMSDM SSKNMRWSPRIKFLDLCVLIDINSESLSLISHVV KWKRDE HYTVLFS DLVNSHQRSDSS LVDEFVVSTRDVCKNFLQVY FESFVREFVAT SRTLGSFSWFPHKDMMPSEDGAEALGPFQ SFILKVVNKNMERPMFRNDLQFGFGWFSYRLGDIVCNAAM LIKQGLTNPKAFKSLRN LWDYMINNTEGVLEFSITVDFTH NQNNTDCLRKFSLIFLVKCQLQGPGVAEFLSCSHLFKGEV DRRFLDECLHLLRSDSIFKVNDGVFDI RSEEFEDY MEDPL ILGDSLELELIGSRKILDGIRSL DFERIGPEWE PVPLTVR MGALFEGRSLVQNI VVKLETKDMRVFLAELEGYGNFDDVL GSLLLHRFRTGEHLQGSEI STILQELCIDRSILLVPLSLV PDWFTFKDCRLCFSKS KNTVMYETVVGKYRLKGKSCDDWL TKSVVEEID
18	secuencia de aminoácidos de	MGQGKSKEGRDASNTSRAEILPD TTYLGPLNCKSCWQRF D
	la proteína Z de la cepa MP de LCMV	SLVRCHDHYL CRHCLNLLS VSDRCPLCKHPLPTKLKIST APSSPPPYEE

## ES 2 934 698 T3

19	Virus Junín Candid# 1 segmento L	<pre> GCGCACCGGGATCCTAGCGTAACTTCATCATTAAATCT CAGATTCTGCTCTGAGTGTGACTTACTGCGAAGAGGCAGAC AAATGGGCAACTGCAACGGGCATCCAAGTCTAACCAAGGCCA GACTCCTCAAGAGCCACACAGCCAGCCGAGAATTAGGAG GGTAGCTCACAGCAGTCTATATGGTAGATATAACTGTAAGT GCTGCTGGTTGCTGATACCAATTGATAACCTGTAATGAT CACTACCTTGTAAAGGTGCCATCAGGGTATGTTAAGGAA TTCAGATCTCTGCAATATCTGCTGGAAGCCCCT GCCACCACAATCACAGTACCGGTGGAGCCAACAGCACCAC CACCATAGGCAGACTGCACAGGGTCAGACCCGACCCCCCGG GGGGCCCCCATGGGGACCCCCCGTGGGGAAACCCGGGGGT GATGCGCCATTAGTCAATGTCTTGATCTGACTTGTGCT TCAGTGGCCTGCATGTCAACCCCTTCAATCTGAACCTGCCCT TGGGGATCTGATATCAGCAGGTCAATTAAAGATCT GCTGAATGCCACCTTGAAATTGAGAATTCCAACCAGTCAC CAAATTATCAAGTGAACGGATCAACTGCTCTTGTGTA GATCATAAACGAGGACAAAGTCCTTGCTGAAATAATATT GTTTGTGATGTTAGATAAGGCCATAGTTGGCTT AATAAGGTTCCACACTATCAATGTCCTCTAGTGCTCCAAT TGCCTTGACTATGACATCCCCAGACAACCTCAACTCTATA TGTGACAACCTTCATTACCTCTGTAAAAGATAACCCCTTT TCAAGACAAGAGGTTCTCCTGGTTATCTGCCAATGA GGTCATATGCATACTTGTACTTAGTTCAAGAATAAAAGTCAC CCAAAGTTGAACATTAACATGGCTCAGAATATTGTCATCA TTTGTGCGAGCGTAGCCTGCATCAATAACAAGCCAGCTAG GTCAAAGCTCTCATGGCCTGTGAACAATGGTAGGCTAGC GATAACCAGTGCACCACCAACAATGAGTGGCTTCCCTCAG ACCCAGAAACACATTGACTCATTGCATCCACATTCACTG CTAATTCAAGGGTACCGACATCATCCACTCCTAGTGAACCTG </pre>
----	----------------------------------	--

# ES 2 934 698 T3

	ACAATGGTGTAACTGTACACCATCTTCTTCTAAGTTA AATTTGTCGAAACTCGTGTGTTCTACTGAAATGATCAA TTTAGTTCACAGCTCTGGCAAGCAACATTGCGCAA CACAGTGTGCAGGTCCATCATGTCTCCTGAGGCAACAAGG AGATGTTGTCAACAGAGACACCCCTCAAGGAAAACCTTGA TATTATCAAAGCTAGAAACTACATAACCCATTGCAATGTCT TCAACAAACATTGCTCTTGATACTTTATTATTCTAACT GACAAGGTAATCTGTGAGTTCAGCTAGATCTACTGACT GTCATCTCTAGATCTAGAACATTGACATTGAACCAAAGAA GGATTTGAGACACGATGTTGACATGACTAGTGGTTATCA TCGAAGATAAGACAACATTGCAACCATGAAAGTTCTGCAAA CTTGCTGTGGCTGATGCCAACTTCCAATTGTATACTCT GACTGTCTAACATGGGCTGAAGCGCAATCACTCTGTTC ACAATATAAACATTATTCTACTTTCAATAAGTGACT TATAATCCCTAACGTTTCAATTGATGTCTAGAGCCAC ACAGACATCTAGAAACTTGAGTCTTCAACTATCCAAAGATC TGTTCACTTGAAGATCATTGATGAAAGGGTGCCTAACATGTT CTTCAAATAGTTGGGTAATTCTCGTATAGAATGCAAT ACATGGTCATGCCTAACATTGCTTCTATCTGTCGTACT GCTTGGGTTAACAGCCCAGAAGAAATTCTTATTACATAA GACCAGAGGGCCTGTGGACTCTTAATAGCAGAAAACAC CCACTCCCCTAACACAGGCATTGTCAGCACCAAAGAGA AGTAATCCCACAAAGACATGGCATTATCGAGTAAAT CTTAAAGTGTGTTGACAGTAAATAACTTCTAGGCTTCTC TCACAAATTCCACAAAGACATGGCATTATCGAGTAAAT ATGTCCTTATACAGAAATCCGCCTTACCATCCCTAAC ACACTTACTCCCCATACTCTAACAAACCAATGAAGCC TGAGGCAACAGAACAGACTGAAATGCAGATTGTTGATTGACT CTGCCAAGATCTCTTACGCCTTGTGAAATTCTTG ACAGCCTGGACTGTATTGTCCTTATCAATGTTGGCATCTCT TCTTCTCTAACACTCTCGACTGTGTCATGAGTTGGTC
--	--

# ES 2 934 698 T3

		CTCAAGACCAACCTCAAGTCCCCAAAGCTCGCTAAATTGAC CCATCTGTAGTCTAGAGTTGTCTGATTCATCTTCACT ACACCCGGCATATTGCAGGAATCCGGATAAAGCCTCATCCC CTCCCCCTGCTTATCAAGTTGATAAGGTTTCCTCAAAGA TTTGCTCTCTTAATGTCATTGAACACTTCCTCGCGCAG TTCCTTATAAACATTGTCTCCTTATCATCAGAAAAATA GCTTCAATTTCCTCTGTAGACGGTACCCCTAGACCCATC AACCCAGTCTTGACATCTTGTCTTCAATAGCTCCAAA CGGAGTCTCTGTATCCAGAGTATCTAATCAATTGGTTGA CTCTAATGGAAATCTTGACACTATATGAGTGCTAACCC CATTAGCAATACATTGATCACAAATTGTCTATGGTCTCT GACAGTTGTGGAGTTTACACTTAACGTTGTAGA GCAGCAGACACAAACTGGTGAGTAAAGGAGTCTCTCACC CATGACAAAAATCTTGACTTAAACTCAGCAACAAAGTTC CTATCACACTCTTGGGCTGATAAACTTGTAAATTAGAA GATAAGAATTCATGGAAGCACACCATTCCAGCAGTT CTGTCCTGTCTGAAACTTTCATCACTAAGGCAAGGAATT TTTATAAGGCTAACCTGGTCATCGCTGGAGGTATAAGTG ACAGGTATCACATCATACAATAAGTCAAGTGCATAACACAG AAATTGTTAGTAATTAGCCCATAAAATCTGATGTGTT GTGCAAGATTCCCTGGCCCATGTCCAAGACAGACATTATAT GGCTGGGGACCTGGTCCCTTGACTGCAGATACTGGTGAA AAAACTCTCACCAACACTAGTACAGTCACAACCCATTAAA CCTAAAGATCTTCAATTCCCTACACAGTAGGCTTCT GCAACATTAATTGGAACCTCAACGACCTTATGAAGATGCCA TTTGAGAATGTTCAATTACTGGTCAAGATTCACCTTGT TCTATCTCTGGGATTCTCAATTCTAATGTGTACAAAAAAG AAAGGAAAAGTGTGGCTCATAGTTGGTCCCCATTGG AGTGGTCATATGAACAGGACAAGTCACCATTGTTAACAGCC ATTTCATATCACAGATTGCACGTTGAATTCTTTCT GAATTCAAGCATGTGTATTCATTGAACCTACCCACAGCTTC
--	--	---

# ES 2 934 698 T3

	TGAGAAGTCTTCAACTAACCTGGTCATCAGCTTAGTGT GAGGTCTCCCACATACAGTCTCTATTGAGCCAACCTGCT CCTTATAACTTAGTCAAATTCAAGTTCCCTGTATTG AGCTGATGCTTGTGAACCTGTAGGAGAGTCGTCTGAATAG AACACATAAATTCCGTAGGGCTGCATTGTAAAATAACTT TTGTCTAGCTTATCAGCAATGGCTTCAGAATTGCTTCCCT GGTACTAAGCCGAACCTCATTCTTAGTCTCAGAACTTC ACTGGAAAAGCCAATCTAGATCTACTTCTATGCTCATAAC TACCCAATTCTGATCATAATGTCCTTGAATTAAAAGAT ACTTGAAGCATTCAAAGAATTCATCTTCTGGTAGGCTATT GTTGTCAAATTTTAAATAACAAACCCAAAGGGCAGATG TCCTGCGGTGCTTCAAGAAAATAAGTCAATTAAATGGAGA TAGATAAACACAGCATCACATAACTCTTATACACATCAGA CCTGAGCACATCTGGATCAAACCTTCACCTCATGCATTG ACACCTCTGCTTAATCTCTCAACACTCCAAAAGGGG CCCACAATGACTCAAGAGACTCTCGCTCATCAACAGATGGA TTTTTGATTCAACTGGTGATCTCAACTTTGTCCCC TCACTATTAGCCATCTGGCTAGTGTCAATTGTACGTCA TCTAATACCCCTCAAAGGCCCTACTTGATCCTCTGTAA ACTCTCATAACATCACTGATAATTCTTCTGATTGGTCTGG TTCTGAACCGGTGCTCACAAGACCTGTTAGATTTTA ATATTAAGTAGTCCATGGAATCAGGATCAAGATTACCTG CCTTTGTTAACCTCTCAGCCATAGTAGAAACGCAT GTTGAAACAAGTTCTCCTTATCATAAACAGAAAGAATATT TCCAAGTTCGTCGAGCTGGGGATTACCACACTTTATT GCTTGACAGATCCAGAGCTGTGCTAGTGATGTTAGGCCTGT AGGGATTGCTTTCAGTTCACCTGTAACTTAAGTCTTC CTCTATTGAAGAGAGAAATGCAGAAGGACAAAATCTTTA CACACTCCTGGAATTGAGTATCTGAGGAAGTCTTAGCC TCTTGGAAAAGAATCTGTCAAATCCTTATCATGGTGT CTCTTGTCCAGTGTAGACTCCACTTAGAGGGGGGTT
--	--

# ES 2 934 698 T3

	TACAACAAACACAATCAAACATTGACTTGGGCTCAATAAACT TCTCAAAACACTTTATTGATCTGTCAGCGATCAGGTG TCTCTTGGTTACCAAGTGACACAGATAACTAACATTAAAT AGATATTAAACCTTCTGCAAAGTAAAGATCTGCATCT TCCCCTCACCCAAAATTGTCTGGAAAAGTCCACAGCCAT CCTCTGAATCAGCACCTCTGATCCAGACATGCAGTCGAC CCTTAACTTGACATCAAATCCACATGATGGATTTGATTTG CATATGCCATCAAGAAATATCTTAGACCTTGTAAAAATG TCTGGTTCTTGGAAAGGGAACAGAGTACAGCTAACACT AACAACTTAATATTGGCCTTGTCAATTGTATGAGTCG TGGCTAAAATCCAACCAGCTGGTCATTCCACACATTTC AATTAACACATCCTCCGAAAATATAGGCAGGAAAATCT CTTGGATCACAGTAAAAGAGCCTGTTCTCCAATACCC CATTGATGGATAGATAGATAGAACAGCACCTGACTTCT CACCTGTTTGGTAAAACAAGAGACCAAATGTATTCTT GTCAGATGAAATCTTGTACATAACACTCTTAGTCTA ACATTCCAAAATATCTAGAATACTCTTTCATTGATTAA CAATCGGGAGGAAAATGATGTCTCATCGAGTTGACCAA TGCAAGGGAAATGGAGGACAAAATCTAAATAATTCTTCT GCTCACCTCCACTAAGCTGCTGAATGGCTGATGTCTAC AGATTTCTCAAATTCTGTTAATAGTATATCTCATCACT GGTCTGTCAGAAACAAGTGCCTGAGCTAAAATCATCAAG CTATCCATATCAGGGTTTTATTAGTTTCCAGCTGTGA CCAGAGATCTGATGAGAGTTCTCAATGTTCTGGAACA CGCTGAAACCACTTGGGCTGGTCATCAATTCTCCTTA TTAGTTAATCGCCTCCAGAATATCTAGAAGTCTGTCA TGACTAACATTAACATTGTCCAACAACTATTCCGCATT CTTAACCTTACAATTGCATCATGCGTTTGAAAAGA TCACAAAGTAAATTGAGTAAAACAAAGTCCAGAACAGTAA AGTGTTCCTCCTGGTGTGAAAACCTTGTGACCTTCAC TTTGTACACACGGAAAGGGCTTGAAGATAACACCTCTCA
--	---

## ES 2 934 698 T3

		CAGCATCAATAGATATAGAATTCTCATCTGACTGGCTT CCATGTTGACTTCATCTATTGGATGCAATGCGATAGAGTAG ACTACATCCATCAACTGTGTTGCACAAAAAGGGCAGCTG GGCACATCACTGTCTTGTGGCTCCTAATAAGATCAAGTC ATTTATAAGCTTAGACTTTGTGAAAATTGAATTTC CAACTGCTGTCAAAATCTCCTCTTAAACCAAAACCTTA ACTTTATGAGTTCTCTTATGACAGATTCTCTAATGT CTCCTCTAACCCCAACAAAGAGGGATTCAATTAAACCTCTA TCATAACCCAAAGAATTCTTTCAAGCATTGATGTT TCTAATCCAAAGCTCTGGTTTTGTGTTGGACAAACTATG GATCAATCGCTGGTATTCTTGTCTCAATATTAATCTC TTGCATAAATTTGATTCTTAGGATGTCGATCAGCAACC ACCGAACTCTTCAACAAACCAATCAGCAAGGAATCTAT TGCTGTAGCTAGATCTGCCATCAACCACAGGAACCAACGTA ATCCCTGCCCTAGTAGGTGCGACTTTAGGTTAAGAGC TTTGACATGTCACTCTCCATTTCTCTCAAACATCAGG ATTGACCTAACAAAGGTTCCAATAGGATGAGTGT CCCTGTGAGTTGAAGCCATCCGAATGACTTTGGAAGGG TGGGACATAGTATGCCATAGTCAGACAGGATCACATCAA CAAACCTCTGATCTGAATTGATCTGACAGCGTGTGCCCTCA CAGGACTCAAGCTCTACTAAACCTGACAGAAGTTGAAC CCTTCCAACACAGAGAGCTGGGTGATGTTGAGATAAAA GATGTCCCTTGGTATGCTAGCTCCTGTCTTCTGGAAA ATGCTTCTAATAAGGCTTTTATTCATTACTGATTCT CCATGCTCAAGTGCCGCTAGGATCCTCGGTGCG
20	Virus Junín Candid# 1 Segmento S	GCGCACCGGGGATCCTAGGCATTTGGTACGCTATAATT GTAACCTGTTCTGTTGGACAACATCAAAACATCCATTG CACAAATGGGCAGTTCATTAGCTCATGCAAGAAATACCAA CCTTTTGAGGAGGCTCTGAACATTGCTTGT AGTCAGTCTCATTGCCATCATTAAGGGTATAGTGAACCTGT ACAAAAGTGGTTATTCCAATTCTTGATTCTAGCGC

## ES 2 934 698 T3

	TTGCAGGAAGATCCTGCACAGAAGAAGCTTCAAAATCGGA CTGCACACTGAGTCCAGACTGTGTCCTCTCAATGGTG GGTCTCTTCCAACAATCCACATGACCTACCTTGTG TACCTTAAACAAGAGCCATCTTACATTAAGGGGGCAA TGCTTCATTCAGATCAGCTTGATGATATTGCAGTATTGT TGCCACAGTATGATGTTATAATACAACATCCAGCAGATA TGAGCTGGTGTCCAAAAGTGTGATGATCAAATTGGTGTCT CAGTGGTCATGAATGCTGTGGACATGATTGGCATCTA GACCCACCATTCTGTGTAGGAACCGTGCAAAGACAGAAGG CTTCATCTTCAAGTCAACACCTCCAAGACTGGTGTCAA TGGAAATTATGCTAAGAAGTTAAGACTGGCATGCATCATT TATATAGAGAATATCCTGACCCTGCTTGAATGGCAAAC TGTGCTTAATGAAGGCACAACCTACCAAGGAGGTCTTGAAGC ATTCTTCTCCTGGTCTTGACAGACTCATCCGGCAAGGA TACCCCTGGAGGCTATTGTCTAGAAGAGTGGATGCTCGTAG CAGCCAAATGAAGTGTGCAACTGCTGTAGCAA AATGCAATTGAAATCATGACTCTGAATTCTGTGACATGTTG AGGCTTTGATTACAACAAAAATGCTATCAAACCTA AATGATGAAACTAAGAAACAAGTAAATCTGATGGGCAGAC AATCAATGCCCTGATATCTGACAATTATTGATGAAAAAA CAAAATTAGGAACTGATGAGTGTCCCTACTGCAATTACA CAAAATTGGTATGTCAACCACACACTTCAGGACAAC ACTCATTACCAAGGTGCTGGTTAATAAAAACAACAGCTAT TTGAACATCTGACTCCGTAATGACTGGATATTAGAA AGTGAATTCTTAATTCTGAAATGCTAAGCAAAGAGTATTG GGACAGGCAGGGTAAAACCTTGTGACTTAGTTGACAT CTGTATTGGAGCACAGTATTCTCACAGCGTCACTTCC TTCACTTGGTGGGTATACCCTCCCACAGACACATCAGGG GCGAAGCATGCCCTTGCCACACAGGTTGAACAGCTGGGT
--	---

# ES 2 934 698 T3

	GGTGCAGATGTGGTAAGTACCCAATCTAAAGAACCA ACAGTTGGCGTAGAGGACACTAAGACCTCCTGAGGGTCCC CACAGCCGGGCACTGCCGGCTGGTGTGGCCCCAGT CCGCGCCTGGCGCGACTGGGGAGGCAGTCTACAGTG CATAGGCTGCCTCGGGAGGAACAGCAAGCTCGGTGTAAT AGAGGTGTAGGTTCTCCTCATAGAGCTTCCATCTAGCAC TGACTGAAACATTATGCAGTCTAGCAGAGCACAGTGTGGTT CACTGGAGGCCAACTTGAAGGGAGTATCCTTCCCTCTT TTCTTATTGACAACCCTCATTGTGATATTG CATAAGTGACCATATTCTCCAGACCTGTTGATCAAACGTG CCTGGCTTGTTCAGATGTGAGCTAACATCAACCAGTT AAGATCTCTTCCATGGAGGTCAAACAACTTCCTGATGT CATCGGATCCTTGAGTAGTCACAACCATGTCTGGAGGCA GCAAGCCGATCACGTAACTAAGAAACTCCTGGCATTGCATCT TCTATGTCCTTCATTAAGATGCCGTGAGAGTGTCTGCTA CCATTTTAAACCCTTCTCATCATGTGGTTCTGAAGCA GTGAATGTACTGCTTACCTGCAGGTTGAATAATGCCAT CTCAACAGGGTCAGTGGCTGGCCTCAATGTCGAGGCCAA GGGTGTTGGTGGGGTCGAGTTCCCACTGCCTCTGTA TGACAGCTTGTATCTGTCAAGTTAGCCAATCTCAA TTCTGACCCTTTCCGGCTGTCTAGGACCAGCAACT GGTTTCTTGTCAAGATCAATACTGTGTTGTCCTGACCT GCCTGTGATTGTGATCTAGAACCAATATAAGGCCAAC ATCGCCAGAAAGACAAAGTTGTACAAAAGGTTTCAAAG GATTTCATTGCCTGGTTCTCATCAATAAACATGCCTT CTCTCGTTAACCTGAATGGTGATTTATGAGGGAAGAG AAGTTTCTGGGTGACTCTGATTGTTCAAACATGTT CCACCATCAAGAACATAGATGCTCCAGCCTTACTGCAGCTGA AAGACTGAAGTTGTAACCAGAAATATTGATGGAGCTTC ATCTTAGTCACAATCTGAAGGCAGTCATGTTCTGAGTC GTCTGTCAAGGTCACTTAAGTTGGATACTTCACAGTGT
--	---

## ES 2 934 698 T3

		ATAGAAGCCCAAGTGAGGTTAAAGCTTGTATGACACTGTTCA ATTGTCTCACCTCCTGAACAGTCATGCATGCAATTGTC AATGCAGGAACAGAGCCAAACTGATTGTTAGCTTGAAGG GTCTTAAACATCCCATATCCTCACCAACACCATTCCCC AGTCCCTGCTGTTGAAATCCAGTGTCTCAATATCTCTG ATCTTTAGCAAGTTGTGACTGGGACAAGTTACCCATGT AAACCCCTGAGAGCCTGTCTGCTCTTCTTATCTGTT TTAATTCTCAAGGTCAGACGCCAATCCATCAGTTCA TCCCTCCCCAGATCTCCACCTGAAAATGTGTTCGTTG AACACTCCTCATGGACATGAGTCTGTCAACCTCTTATT CAGGTCCCTCAACTGTTGAGGTCTTCTCCCCCTTTAG TCTTCTGAGTGCCCGCTGCACCTGTGCCACTGGTTGA AGTCGATGCTGTCAGCAATTAGCTGGCGTCTTCAAAACA TCTGACTTGACAGTCTGAGTGAATTGGCTAAACCTCTC CTTAAGGACTGAGTCCATCTAAAGCTTGGAACCTCCTTGG GTGTGCCATGCCAGAAGTTCTGGTATTTGATCTAGAA TAGAGTTGCTCAGTGAAAGTGTAGACACTATGCCTAGGAT CCACTGTGCG
21	secuencia de aminoácidos de la proteína NP de la cepa Clon 13 de LCMV (GenBank No. de Acceso ABC96002.1; GI:86440166)	MSLSKEVKSFQWTQALRRELQSFTSDVKAIVIKDATNLLNG LDFSEVSNVQRIMRKEKRDDKDLQRLRSLNQTVHSLVDLKS TSKKNVLKVGRSLAEELMSLAADLEKLKAKIMRSERPQASGVY MGNLTTQQLDQRSQILQIVGMRKPQQGASGVVRVWDVKD SSLLNNQFGTMPSLTMACMAKQSQTPLNDVVQALTDLG TVKYPNLNDLERLKDHPVVLGVITEQQSSINISGYNFSLGA AVKAGAALLDGGNMLESILIKPSNSEDLLKAVLGAKRKLN FVSDQVGDRNPYENILYKVCLSGEGWPYIACRTSIVGRAWE NTTIDLTSEKPAVNSPRPAPGAAGPPQVGLSYSQTM LLKDLGGIDPNAPTWIDIEGRFNDPVEIAIFQPQNGQF IHFYREPVDQKQFKQDSKYSHGMDLADLFNAQPG LTSSVIGALPQGMVLSCQGSDDIRKL LDSQNRKDIKLIDVEMTREASREYEDKVW DKYWLCKMHTGIVRDKKKKEITPHCALMD CIIFESASKAR
		LPDLKTVHNILPHDLIFRGPNVTL

22	secuencia de aminoácidos de la proteína GP de la cepa Clon 13 de LCMV (GenBank No. de Acceso ABC96001.2; GI:116563462)	MGQIVTMFEALPHIIDEVINIVIIVLIVITGIKAVYNFATCGIFALISFLLLALGRSCGMYGLKGPDIYKGVYQFKSVEFDMSHNLNTMPNACSANNSHYISMGTSGLELTFTNDSIISHNFCNLTSAFNKKTFDHTLMSIVSSLHLSIRGNSNYKAVSCDFNNGITIQYNLTFSADAQSAQSQCRTFRGRVLDMFRTAFGGKYMRSGWGTGSDGKTTWCSQTSYQYLIIQNRTWENHCTYAGPFGMSRILLSQEKTFLTRRLAGTFTWTLSDSSGVENPGGYCLTKWMILAAELKCFGNTAVAKCNVNHDEEFCDMLRLIDYNKAALSKFKEDVESALHLFKTTVNSLISDQLLMRNHLRDLMGVPYCNYSKFWYLEHAKTGETSVPKCWLVTNGSYLNETHFSDQIEQEADNMITEMLRKDYIKRQGSTPLALMDLLMFSTSAYLVSIFLHLVKIPTHRHIKGGSCKPKPHRLTNKGICSCGAFKVPGVKTVWKRR
23	secuencia de aminoácidos de la proteína L de la cepa Clon 13 de LCMV (GenBank No. de Acceso ABC96004.1; GI:86440169)	MDEIISELRELCLNYIEQDERLSRQKLNFLGQREPRMVLIEGLKLLSRCIEIDSADKSGCUTHNHDDKSVETILVESGIVCPGLPLIIPDGYKLIDNSLILLECFVRSTPASFEKKFIEDTNKLACIREDLAVAGVTLVPIVDGRCDYDNSFMPEWANFKFRDLLFKLLEYSNQNEKVFESEYFRLCESLTTIDKRSGMDSMKI LKDARSTHNDIMRMCHEGINPNMSCDDVFGINSLSRFRRDLESGKLKRNFKVNPEGLIKEFSELYENLADSDDILTSLREAVESCPLMRFITAETHGHERGSETSTEYERLLSMLNKVKS LKLLNTRRRQLLNLDVLCLSSLIKQSKFKGLKNDKHWVGCCYSSVNDRLVSFHSTKEEFIRLLRNRKSKVFRKVSFEELFRASISEFIAKIQKCLLVVGLSFEHYGLSEHLEQECHIPFTEFENFMKIGAHPIMYYTKFEDYNFQPSTEQLKNIQSLRLLSVCLALTNSMKTSSVARLRQNQIGSVRYQVVECKEVFCQVIKLDSSEYHLLYQKTGESSRCYSIQGPDGHLISFYADPKRFFLPIFSDEVLYNMIDIMISWIRSCPDLKDCLTDIEVALRTLLLMLTNPTKRNQKQVQSVRYLVMAIVSDFSSTSMDKLREDLITPAEKVVKYKLLRFILKTIFGTGEKVLLSAFKFMLNVSYLT

	CHLITKETPDRLTDQIKCFEKFFEPKSQFGFFVNPKEAITP EEECVFYEQMKRFTSKEIDCQHTTPGVNLEAFSLMVSSFNN GTLIFKGEKKLNSLDPMTNSGCATALDLASNKSVVVKHLN GERLLEYDFNKLLVSAVSQITESFVRKQKYKLSHSDYEYKV SKLVSRLVIGSKGEETGRSEDNLAEICFDGEEETSFFKSLE EKVNNTIARYRRGRRANDKGDGKLTNTKGLHHQLILTGK MAHLRKVILSEISFHLVEDFDPSCLTNDDMKFICEAVEGST ELSPLYFTSVIKDQCGLDEMAKNLCRKFFSENDWFSCMKMI LLQMNANAYSGKYRHMQRQGLNFKFDWDKLEEDVRI SERES NSESLSKALS LTQCMSSAALKNLCFYSEESPTSYTSGPDSG RLKFALSYKEQVGGNRELYIGDLRTKMFTRLIEDYFESFSS FFSGSCLNNDEMAKNLCRKFFSENDWFSCMKMI MCPFLFLMFLQNLKLGDQYVRSRKDHVSTLLTWHMHKLVE VPFPVVNAMMKSYVKSKLKL RGSETTVTERIFRQYFEMGI VPSHISSLIDMGQGILHNASDFYGLL SERFINYCIGVIFGE RPEAYTSSDDQITLFDRRLSDLVVS DPEEVVLLEFQSHLS GLLNKFISP KSVAGRFAAEFKSRFYVWGE EVPLTKFV SAA LHNVKCKEPHQLCETIDTIADQAIANGVPVSLVNSIQRRTL DLLKYANFPLDPFLLNTNTDVKDWLGSRGYR IQR LIEELC PNETKVVVKLVRKLHHKLKG EFN EEEFLDFNRDKEAIL QLGDLGLEEDLNQLADVNWLNLNEMFPLRMVL RQKV VYPS VMTFQEERIPS LIKTLQNKLC SKFTRGAQKLLSEAINKSAF QSCISSGFIGLCKTLGSRCVRNKNRENLYIKKLL EDLTTDD HVTRVCNRDGITLYICDKQSHPEAHDHICLLRPLLWDYIC ISLSNSFELGVWVLAEPKGKNNSENLT LKHLNPCDYVARK PESSRLLEDKVNLNQVIQSVRRLYPKIFEDQLLPFMSDMSS KNMRWSPRIKFLDLCLVLI DINS E SLSLISHVVWKRDEHYT VLFSDLANSHQ RSDSSLVDEFVVSTRDVCKNFLKQVYFESF VREFVATTRTLGNFSWFPHKEMM PSEDGAEALGPFQSFVSK VVNKNVERPMFRNDLQFGFGWFSYRMGDVV CNAAMLI RQGL TNPKAFKSLKDLWDYMLNYTKGVLEFSISVDFTHNQNNTDC
--	--

		LRKFSLIFLVRCQLQNPGVAELLSCSHLFGEIDRRMLDEC LHLLRTDSVFVNDGVFDIRSEEFEDYMEDPLILGDSLELE LLGSKRILDGIRSIDFERVGPEWEPVPLTVKMGALFEGRNL VQNIIVKLETKDMKVFLAGLEGYEKISDVLGNLFLHRFRTG EHLLGSEISVILQELCIDRSILLIPLSLLPDWFAFKDCRLC FSKSRSTLMYETVGGFRFLKGRSCDDWLGGSAEDID
24	secuencia de aminoácidos de la proteína Z de la cepa Clon 13 de LCMV (GenBank No. de Acceso ABC96003.1; GI:86440168)	MGQGKSREEKGTNSTNRAEILPDPTYLGPLSCKSCWQKFDS LVRCHDHYLCRHCLNLLSVSDRCPLCKYPLPTRLKISTAP SSPPPYEE
25	secuencia de aminoácidos de la proteína GP de la cepa WE de LCMV	MGQIVTMFEALPHIIDEVINIVIIVLIIITSIKAVYNFATC GILALVSFLFLAGRSCGMYGLNGPDIYKGVYQFKSVEFDMS HNLNTMPNACSANNSHHYISMGSSGLELFTFTNDSILNHNF NLTSAFNKKTFDHTLMSIVSSLHLSIRGNSNHKA VSCDFNN GITYQYNLSFSDPQSAISQCRTFRGRVLDMFRTAFGGKYMR SGGWAGSDGKTTWCSQTSYQYLIIQNRTWENHCRYAGPFG MSRILFAQEKTFLTRRLAGTFTWTLSDSSGVENPGGYCLT KWMILAAELKCFGNTAVAKCNVNHDEEFCDMLRLIDYNKAA LSKFKQDV ESALHVFKTTVNSLISDQLLMRNHLRDLMGV PY CNYSKFWY LEHAKTGETSVPK CWLVNGSYLN ETHFSDQIE QEADNM ITEMLRKDYIKRQGSTPLALMDLMF STSAYLISI FLHLVK IPTHRHI KGGS CPKPHRLTNKG ICSCGAFK VPGVK TIWKRR
26	secuencia de nucleótidos del antígeno HBe del HBV (No. de Acceso de GenBank E15688.1; GI: 5710371)	ATGGACATTGACACGTATAAAGAATTGGAGCTACTGTGGA GTTACTCTCGTTTGCCTTCTGACTTCTTCCTTCCGTCA GAGATCTCCTAGACACCGCCTCAGCTCTGTATCGAGAAGCC TTAGAGTCTCCTGAGCATTGCTCACCTCACCATACTGCACT

	CAGGCAAGCCATTCTCTGCTGGGGGAATTGATGACTCTAG CTACCTGGTGGTAATAATTGGAAGATCCAGCATCCAGG GATCTAGTAGTCAATTATGTTAATACTAACATGGGTTAAA GATCAGGCAACTATTGTGGTTCATATATCTGCCTACTT TTGGAAGAGAGACTGTACTTGAATATTGGCTCTTCGGA GTGTGGATTCGCACTCCTCCAGCCTATAGACCACCAAATGC CCCTATCTTATCAACACTCCGGAAACTACTGTTGTTAA
--	---

## 7. EJEMPLOS

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

Basado en enfoques establecidos (Publicación de solicitud de patente U.S. No. US 2010/0297172 A1; y Flatz L. et al., 5 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

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 10 HBe (rLCMV/HBe, rJUNV/HBe). Los vectores serán deficiente 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 15 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 20 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+ específicas del HBV en la sangre y/o el bazo. Las células T pueden medirse, por ejemplo, utilizando tetrameros de MHC de clase I en combinación con anticuerpos anti-CD8 para identificar la magnitud de la respuesta de las células T CD8+ a los epítopos derivados del HBV.

En un enfoque complementario, se utilizan péptidos sintéticos para estimular selectivamente células T CD8+ 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)-γ, factor de necrosis tumoral (TNF)-α y/o células T CD8+ productoras de interleucina (IL)-2. La expresión superficial de CD107a sirve como marcador de desgranulación 25 citolítica en citometría de flujo (FACS). Se analizan las especificidades de los péptidos, que incluyen: epítopo derivado de HBs VWLSVIWM (SEQ ID NO: 8), epítopo derivado de HBs IPQSLDSWWTSL (SEQ ID NO: 9) y epítopo 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 105 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+ en la sangre usando multímeros MHC de clase I. Se usaron dextrámeros H-2K<sup>b</sup> en complejo con el epítopo VWLSVIWM derivado de HBs y dextrámeros H-2K<sup>b</sup> en complejo con el epítopo MGLKFRQL derivado de HBc en 35 combinación con anticuerpos anti-CD8α 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).

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+ específicas de antígeno contra los antígenos expresados por los respectivos vectores. Las respuestas de células T CD8+ 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+ 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 epítopo HBs y HBc usando multímeros MHC de clase I. Se usaron dextrámeros H-2K<sup>b</sup> en complejo con el epítopo VWLSVIWM derivado de HBs y dextrámeros H-2K<sup>b</sup> en complejo con el epítopo 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 epítopo contra sus antígenos vectorizados, respectivamente. Además, cuando se enumeran las células T CD8+ específicas del epítopo 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.

**20 Listado de secuencias**

<110> HOOKIPA BIOTECH AG  
<120> VACUNAS CONTRA EL VIRUS DE LA HEPATITIS B

<130> 104748PC

<140> TBA

25 <141> 2016-11-03

<150> 62/250,639 <151> 2015-11-04

<160> 26

<170> PatentIn version 3.5

30 <210> 1

<211> 846

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

35 <220>

<223> ORF de pre-S2/S del HBV

<400> 1

	atgcagtgga attccacaac cttccaccaa actctgcaag atcccagagt gagaggcctg	60
	tatccctg ctggggctc cagttcagga acagtcaacc ctgttctgac cactgcctct	120
	cccttgcata caatcttctc caggattggg gaccctgctc tgaacatgga gaacatcaca	180
	tcaggattcc tgggaccctt tcttgttgc caggcagggt ttttctgtt gacaagaatc	240
	ctcacaatcc ctcagagtct ggactcttgg tggacttctc tcaattttct ggggggaacc	300
	acagtgtgtc ttggccaaaa ttctcagtcc ccaacctcca atcactcacc aacctcttgt	360
	cctccaaactt gtccctggta cagatggatg tgtctgagga gattcatcat cttcccttcc	420
	atcctgctgc tgtgcctcat cttcttgttgc gttcttctgg actatcaagg aatgttgcca	480
	gtttgtcctc tgattccagg atcctcaaca accagcactg gaccatgcag gacctgcatg	540
	accactgctc aaggaacctc aatgtatccc tcctgttgct gcaccaaacc ttcagatgga	600
	aattgcacct gcattcccat cccatcatcc tgggcttttgc gaaaattcct ttgggagtgg	660
	gcctcagcca gattctcctg gctcagtttgc ctgggtccat ttgttcagt gtttgtgg	720
	ctttccccca ctgtttggct ttcaagtgtt tggatgtatgtt ggtattgggg gccaagtctg	780
	tacagcatct tgagtccctt tttgcctctg ttgccaattt tctttgtct ttgggtctac	840
	atttaa	846
	<210> 2	
	<211> 552	
5	<212> ADN	
	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
	<223> ORF de HBc de HBV	
10	<400> 2	
	atggacatttgc acccttacaa agaatttggaa gcaactgtgg agttgctctc cttttgcct	60
	tctgacttctt ttccttcagt gagagatctt cttgacactg cctcagctct gtacaggaa	120
	gccttggagt ctccctgagca ttgttcacctt caccacactg cactcaggca agcaattctt	180
	tgctgggggg aactcatgac tctggcaacc tgggtgggtg tcaatttggaa agatccagcc	240
	tcaagagagacc ttgtggtcag ttatgtcaac acaaacatgg gcctgaagtt caggcaactc	300
	tttgtggtttca acatttcttgc tctcaactttt ggaagagaaaa cagtcattga gtatgggt	360
	tcttttggag tgtggatcag gactcctcca gcttacagac caccaaatgc cccaaatcctg	420
	tcaacacttc cagagaccac tgggttcaga agaagaggca ggtccccag aagaagaact	480
	ccctcaccacaa gaagaagaag gtctcaatctt cccagaagggaa gaagatctca atcaaggaa	540
	tctcaatgtt 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	

atggggcaga atctttccac cagcaatcct ctgggattct ttccagacca ccagttggat	60
ccagccttca gagcaaacac tgcaaattca gattggact tcaatccaa caaggacacc	120
tggccagatg ccaacaaggt gggagctgga gcatttgggc tggtttcac cccacccat	180
ggaggcctt tgggtggag ccctcaggct cagggcattc tgcaaactt gccagcaaat	240
ccacccctcg cctccaccaa cagggcagtca ggaaggcagc ccacccctct gtctccacct	300
ttgagaaaca ctcatcctca ggccatgcag tggaaattcca caacccctca ccaaactctg	360
caagatccca gagtgagagg cctgtatttc cctgctggg gctccagttc aggaacagtc	420
aaccctgttc tgaccactgc ctctccctt tcatcaatct tctccaggat tggggaccct	480
gctctgaaca tggagaacat cacatcagga ttccctggac cccttcttgt gttgcaggca	540
gggttttct tggacaag aatccctaca atccctcaga gtctggactc ttggggact	600
tctctcaatt ttctgggggg aaccacagtg tggcttggcc aaaattctca gtcccccaacc	660
tccaaatcaact caccacccctc ttgtccttca acttgcctt gttacagatg gatgtgtctg	720
aggagattca tcatcttccctt cttcatcctg ctgctgtgcc tcatcttctt gttgggttctt	780
ctggactatc aaggaatgtt gccagttgtt cctctgattc caggatccctc aacaaccagc	840
actggaccat gcaggacactg catgaccact gctcaaggaa cctcaatgtt tcccttctgt	900
tgctgcacca aacccctcaga tggaaattgc acctgcatttccatccatc atccctggct	960
tttggaaaat tcctttggga gtgggcctca gccagattct cctggctcag tttgctgggt	1020
ccatttggtc agtgggttgc tgggtttcccccactgtttt ggctttcagt gattggatg	1080
atgtggattt gggggccaag tctgtacagc atcttgatgc ccttttgcc tctgttgcca	1140
attttctttt gtctttgggtt ctacattatg gacattgacc cttacaaaga atttggagca	1200
actgtggagt tgcttcctt tttgccttct gacttcttcccttcaatgtt gatcttctt	1260
gacactgcct cagctctgta cagggaaagcc ttggagtcctc ctgagcatttgc ttcacccac	1320
cacactgcac tcaggcaagc aatttttgc tggggggaaatc tcatgactct ggcaacccctgg	1380
gtgggtgtca atttggaaaga tccagcctca agagaccccttggcagtttcaacaca	1440
aacatggcc tgaagttcag gcaactcttgc tggtttccaca tttcttgcacttggat	1500
agagaaacag tcatttgatgtt tttgggtgtt ggtcaggatgc tcctccagct	1560
tacagaccac caaatgcacc aatccctgtca acacttccag agaccactgt tggcagaaga	1620
agaggcaggt ccccccagaag aagaactccc tcaccaagaa gaagaaggatc tcaatctccc	1680
agaaggagaa gatctcaatc aaggaaatctt caatgttag	1719

5 &lt;210&gt; 4

&lt;211&gt; 3599

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Secuencia Artificial

10 &lt;220&gt;

&lt;223&gt; ADNc del segmento S de LCMV que expresa la proteína de fusión HBs-HBc del HBV

&lt;400&gt; 4

# ES 2 934 698 T3

ggcgcaccggg gatcctaggc ttttggatt gcgcttcct ctagatcaac tgggtgtcag	60
gccttatcct acagaaggat gggcagaat ctttccacca gcaatcctct gggattctt	120
ccagaccacc agttggatcc agccttcaga gcaaacactg caaatccaga ttgggacttc	180
aatcccaaca aggacacactg gccagatgcc aacaagggtgg gagctggagc atttggctg	240
ggtttacccc cacccatgg aggccctttg gggtggagcc ctcaggctca gggcattctg	300
caaacttgc cagcaaatcc acctcctgcc tccaccaaca ggcagtcagg aaggcagccc	360
accctctgt ctccacccctt gagaacact catcctcagg ccatgcagtg gaattccaca	420
accttccacc aaactctgca agatcccaga gtgagaggcc tgtatccc tgctggcgc	480
tccagttcag gaacagtcaa ccctgttctg accactgcct ctccctgtc atcaatctc	540
tccaggattt gggaccctgc tctgaacatg gagaacatca catcaggatt cctggaccc	600
cttcttgtgt tgcaaggcagg gttttcttg ttgacaagaa tcctcacaat ccctcagagt	660
ctggactctt ggtggacttc tctcaatttt ctgggggaa ccacagtgtg tcttggccaa	720

aattctcagt	ccccaacctc	caatca	ctca	ccaacctctt	gtcctccaac	ttgtcctgg	780
tacagatgga	tgtgtctgag	gagattcatc	atcttcctct	tcatcctgct	gctgtgcctc		840
atcttcttgt	tggttcttct	ggactatcaa	ggaatgttgc	cagtttgc	tctgattcca		900
ggatcctcaa	caaccagcac	tggaccatgc	aggacctgca	tgaccactgc	tcaaggaacc		960
tcaatgtatc	cctcctgtt	ctgcacccaa	ccttcagatg	gaaattgcac	ctgcattccc		1020
atcccatcat	cctgggctt	tggaaaattc	cttgggagt	gggcctcagc	cagattctcc		1080
tggctcagtt	tgcgtgtgcc	atttggtag	tggtttgg	gggtttcccc	cactgtttgg		1140
ctttcagtga	tttggatgat	gtggatttgg	gggccaagtc	tgtacagcat	cttgagtc		1200
ttttgcctc	tgttgccaa	tttctttgt	ctttgggtct	acattatgga	cattgaccct		1260
tacaaagaat	ttggagcaac	tgtggagtt	cttcctttt	tgccttctga	cttcttct		1320
tcagtgagag	atcttcttga	ca	ctgcctca	gctctgtaca	gggaagcctt	ggagtctc	1380
gagcattgtt	cacccacca	ca	ctgcactc	aggcaagca	ttcttgc	gggggaactc	1440
atgactctgg	caacctgggt	gggtgtcaat	ttggaagatc	cagcctcaag	agac	ttgt	1500
gtcagttatg	tcaacacaaa	catggcctg	aagttcag	aactcttgc	gtttcacatt		1560
tcttgc	tca	tttggaaag	agaaacagtc	attgagtt	tgggtctt	tggagtgt	1620
atcaggactc	ctccagctt	cagaccacca	aatgccccaa	tccgtcaac	acttccagag		1680
accactgtt	tcagaagaag	aggcagg	cccagaagaa	gaactcc	cacc	aaaga	1740
agaagg	tctcccag	aaggagaaga	tctcaatcaa	gggaatctca	atgttagaga		1800
acagcgc	cctgactc	caccc	cgaaa	gaggtggaga	gtcagg	ggccc	1860
cttagagtgt	cacaacattt	gggcctctaa	aaattaggtc	atgtggcaga	atgttgc	aa	1920
cagtttgc	atctgggagc	cttgc	tttgg	aggcg	tttc	aaaaatgtatg	1980
gtgcacagt	cgggtgatc	tcttcttct	tttgc	ccct	tactattcc	gtatgc	2040
tacacaacca	gccatatttgc	tcccacactt	tatcttcata	ctccctcgaa	gcttcc	ctgg	2100
tcatttcaac	atcgataa	gc	ttaatgtc	tcctat	tttgc	tgagtcc	2160
tgtcatcg	gc	cttgc	acag	tcc	ctgcgg	aagagcac	2220
agtcaaccc	gggttgc	ca	ttgaagaggt	cg	gaagatc	catgc	2280
aatcttg	ctt	tttgc	tttgc	tttgc	tttgc	tttgc	2340
tctgtgg	tttgc	tttgc	tttgc	tttgc	tttgc	tttgc	2400
atgttagg	gttgggg	tc	attcc	actg	at	atgtcaatcc	2460
agcttaagcc	caccc	gttgggg	tc	tttgc	tttgc	tttgc	2520
cagg	tttctc	gttgggg	tc	tttgc	tttgc	tttgc	2580
ttctaca	atgtatggc	catc	tttc	ac	tttgc	tttgc	2640

cataagggtt	cctgtcccca	acttggtctg	aaacaaaacat	gtttagttt	ctcttggccc	2700
cgagaactgc	cttcaagaga	tcctcgctgt	tgcttggctt	gatcaaaatt	gactctaaca	2760
tgttacccccc	atccaacagg	gctgccccctg	ccttcacggc	agcaccaaga	ctaaagttat	2820
agccagaaat	gtttagtgcgt	gactgctgtt	cagttagtgc	ccccagaact	gggtgcttgc	2880
ctttcagcct	ttcaagatca	ttaagatttg	gatacttgac	tgtgtaaagc	aagccaaggt	2940
ctgtgagcgc	ttgtacaacg	tcattgagcg	gagtctgtga	ctgtttggcc	atacaagcca	3000
tagtttagact	tggcattgtg	ccaaattgtat	tgttcaaaag	tgttagtgc	ttcacatccc	3060
aaactcttac	cacaccactt	gcaccctgct	gaggctttct	catcccaact	atctgttagga	3120
tctgagatct	ttggtctagt	tgctgtgttgc	ttaagttccc	catatatacc	cctgaagcct	3180
ggggcccttcc	agacctcatg	atctggcct	ttagcttctc	aaggtcagcc	gcaagagaca	3240
tcagttcttc	tgcactgagc	ctccccactt	tcaaaaacatt	tttctttgtat	gtttagtta	3300
aatccacaag	agaatgtaca	gtctggttga	gacttctgag	tctctgttagg	tctttgtcat	3360
ctctcttttc	tttcctcatg	atccctctgaa	cattgctgac	ctcagagaag	tccaaacccat	3420
tcagaagggtt	ggttgcattcc	ttaatgacag	cagccttcac	atctgatgtg	aagctctgca	3480
attctttct	caatgcttgc	gtccatttggaa	agctcttaac	ttccttagac	aaggacatct	3540
tgttgctcaa	tggtttctca	agacaaatgc	gcaatcaaata	gccttaggatc	cactgtgcg	3599

&lt;210&gt; 5

&lt;211&gt; 2432

5 &lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Secuencia Artificial

&lt;220&gt;

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

&lt;220&gt; 5

gcccacccggg	gatccttaggc	tttttggatt	gcgcttcct	ctagatcaac	tgggtgtcag	60
gcccttatcct	acagaaggat	ggacattgac	ctttacaaag	aatttggagc	aactgtggag	120
ttgctctcct	ttttgccttc	tgacttcttt	cttttagtga	gagatcttct	tgacactgccc	180
tcagctctgt	acagggaagc	cttggagtct	cctgaggatt	gttcacccca	ccacactgca	240
ctcaggcaag	caattctttg	ctggggggaa	ctcatgactc	tggcaacctg	ggtgggtgtc	300
aatttggaaag	atccagcctc	aagagacctt	gtggtcagtt	atgtcaacac	aaacatgggc	360
ctgaagttca	ggcaactctt	gtggttcac	atttcttgc	tcactttgg	aagagaaaca	420
gtcatttgcgt	atttgggtgtc	ttttggagtgc	tggatcaggaa	ctcctccagc	ttacagacca	480
ccaaatgccc	caatcctgtc	aacacttcca	gagaccactg	ttgtcagaag	aagaggcagg	540
tccccccagaa	gaagaactcc	ctcaccaaga	agaagaaggt	ctcaatctcc	cagaaggaga	600

agatctcaat	caaggaaatc	tcaatgttag	agaacagcgc	ctccctgact	ctccacctcg	660
aaagagggtgg	agagtcaggg	aggcccagag	ggtcttagag	tgtcacaca	tttgggcctc	720
taaaaattag	gtcatgtggc	agaatgtgt	gaacagttt	cagatctggg	agccttgctt	780
tggaggcgct	ttcaaaaatg	atgcagtcca	tgagtgcaca	gtgcggggtg	atctcttct	840
tcttttgtc	ccttactatt	ccagtatgca	tcttacacaa	ccagccatat	ttgtcccaca	900
ctttatctc	atactccctc	gaagcttccc	tggtcatttc	aacatcgata	agcttaatgt	960
ccttccttatt	ttgtgagtcc	agaagtttc	tgtatgtcatc	ggagccttga	cagcttagaa	1020
ccatcccctg	cggaagagca	cctataactg	acgaggtcaa	cccggttgc	gcattgaaga	1080
ggtcggcaag	atccatggcg	tgtgagtaact	tggaatcttgc	cttgaattgt	ttttgatcaa	1140
cgggttccct	gtaaaagtgt	atgaactgcc	cgttctgtgg	ttggaaaatt	gctatttcca	1200
ctggatcatt	aatctaccc	tcaatgtcaa	tccatgttagg	agcgttgggg	tcaattcctc	1260
ccatgaggc	ttttaaaagc	attgtctggc	tgtagcttaa	gcccacctga	ggtgacac	1320
ctgctccagg	cgctggcctg	ggtgagttga	ctgcagggtt	ctcgcttgc	agatcaattg	1380
ttgtgtttc	ccatgctctc	cccacaatcg	atgttctaca	agctatgtat	ggccatcctt	1440
cacctgaaag	gcaaaactta	tagaggatgt	tttcataagg	gttcctgtcc	ccaaacttgg	1500
ctgaaacaaa	catgttgagt	tttctttgg	ccccgagaac	tgcctcaag	agatccctgc	1560
tgttgcttgg	cttgatcaaa	attgactcta	acatgttacc	ccatccaac	agggctgccc	1620
ctgccttac	ggcagcacca	agactaaagt	tatagccaga	aatgttgatg	ctggactgt	1680
gttcagtgtat	gaccccccaga	actgggtgt	tgtctttcag	ccttcaaga	tcattaagat	1740
ttggatactt	gactgtgtaa	agcaagccaa	ggtctgtgag	cgcttgcata	acgtcattga	1800
gcggagctg	tgactgtttg	gccatacaag	ccatagttag	acttggcatt	gtgccaatt	1860
gattgttcaa	aagtgtatgag	tcttcacat	cccaaactct	taccacacca	cttgaccct	1920
gctgaggc	tctcatccca	actatctgta	ggatctgaga	tcttggtct	agttgctgt	1980
ttgttaagtt	ccccatata	acccctgaag	cctggggcct	ttcagac	ctc atgatcttgg	2040
ccttcagctt	ctcaaggta	gccgcaagag	acatcagttc	ttctgcactg	agccccc	2100
ctttcaaaac	attcttctt	gatgttgact	ttaaatccac	aagagaatgt	acagtctggt	2160
tgagacttct	gagtctctgt	aggctttgt	catctctt	ttccttcctc	atgatctct	2220
gaacattgct	gacccctcagag	aagtccaaacc	cattcagaag	gttgggtgca	tccttaatga	2280
cagcagcctt	cacatctgat	gtgaagctct	gcaattctct	tctcaatgt	tgcgccatt	2340
ggaagctctt	aacttcctta	gacaaggaca	tcttggtgc	caatggttc	tcaagacaaa	2400
tgcgcaatca	aatgcctagg	atccactgtg	cg			2432

&lt;210&gt; 6

&lt;211&gt; 2726

5 &lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Secuencia Artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; ADNc del segmento S de LCMV que expresa el ORF pre-S2/S

10

&lt;400&gt; 6

## ES 2 934 698 T3

ggcgcacccggg gatcctaggc tttttggatt gcgcttcct ctagatcaac tgggtgtcag	60
gccctatcct acagaaggat gcagtggaat tccacaacct tccaccaaac tctgcaagat	120
cccagagtga gaggcctgta tttccctgct ggtggctcca gttcaggaac agtcaaccct	180
gttctgacca ctgcctctcc cttgtcatca atttctcca ggattgggga ccctgctctg	240
aacatggaga acatcacatc aggattcctg ggaccccttc ttgtgttgca ggcagggtt	300
ttcttggta caagaatcct cacaatccct cagagtctgg actcttggtg gacttctctc	360
aattttctgg ggggaaccac agtgtgtctt ggc当地aaattt ctcagtc当地 aaccctccaaat	420
cactcaccaa cctcttgc当地 tccaacttgc当地 cttggttaca gatggatgtg tctgaggaga	480
ttcatcatct tc当地tccat cctgctgctg tgc当地tcatct tcttgggt tcttctggac	540
tatcaaggaa tggccaggat ttgc当地tctg attccaggat cctcaacaac cagcactgga	600
ccatgcagga cctgc当地tgc当地 cactgctcaa ggaacctcaa tgc当地tccctc ct当地tgc当地	660
accaaaccctt cagatggaaa ttgc当地ctgc当地 attcccatcc catcatctg ggcttggaa	720
aaattccctt gggagtgccc当地 ctc当地ccaga ttctccggc tcaaggatggctt ggtgccattt	780
gttcaggatggt ttgtgggct ttccccc当地 gttggctt cagtgatggat gatgtgtgg	840
tattggggcc当地 caagtctgta cagcatcttgc当地 agtccctttt tgc当地tctgtt gccaatttcc	900
ttttgtcttt gggctacat taaaagaaca ggc当地tccct gactctccac ctc当地aaagag	960
gtggagagtc agggaggccc当地 agagggtctt agagtgtcac aacatttggg cctctaaaaaa	1020
ttaggtcatg tggc当地agaatg ttgtgaacag tttc当地agatc tgggagccctt gcttggagg	1080
cgcttcaaa aatgatgc当地 tccatgagtg cacagtgc当地 ggtgatctct ttcttcttt	1140
tgc当地cttac tattccagta tgc当地cttac acaaccagcc atatttgc当地 cacactttat	1200
cttc当地actc cctc当地aaatc tccctggc当地 tttcaacatc gataagctt当地 atgc当地ttcc	1260
tattttgtga gtccagaagc tttctgtatgt catcgaggcc ttgacagctt agaaccatcc	1320
cctgc当地gaag agcacctata actgacgagg tcaacccggg ttgc当地cattt gagggtc当地gg	1380
caagatccat ggc当地gtgag tacttggaaat ctgc当地tggaa ttgttttga tcaacgggat	1440
ccctgtaaaaa gtgtatgaac tgcccttct gttgggaa aattgctatt tccactggat	1500
cattaaatct accctcaatg tcaatccatg taggagcgat ggggtcaattt cctccatga	1560
ggcttttaa aagcatttgc当地 tggctgttagc ttaagccac ctgagggtgga cctgctgctc	1620

caggcgctgg	cctgggtgag	ttgactgcag	gtttctcgct	tgtgagatca	attgttgtgt	1680
tttccccatgc	tctccccaca	atcgatgttc	tacaagctat	gtatggccat	ccttcacacctg	1740
aaaggcaaac	tttatacagg	atgtttcat	aagggttcct	gtcccaact	tggctgaaa	1800
caaacatgtt	gagtttctc	ttggcccccga	gaactgcctt	caagagatcc	tcgctgttgc	1860
ttggcttgat	caaaattgac	tctaacatgt	taccccccattc	caacaggcgt	gccctgcct	1920
tcacggcagc	accaagacta	aagttatagc	cagaaatgtt	gatgctggac	tgctgttcag	1980
tgatgacccc	cagaactggg	tgcttgctt	tcagccttc	aagatcatta	agatttggat	2040
acttgactgt	gtaaagcaag	ccaaggtctg	tgagcgcctt	tacaacgtca	ttgagcggag	2100
tctgtactg	tttggccata	caagccatag	ttagacttg	cattgtgcca	aattgattgt	2160
tcaaaaagtga	tgagtcttc	acatccaaa	ctcttaccac	accacttgca	ccctgctgag	2220
gctttctcat	cccaactatc	tgttaggatct	gagatcttgc	gtctagttgc	tgtgttgtt	2280
agttcccat	atataccct	gaaggctggg	gcctttcaga	cctcatgatc	ttggccttca	2340
gcttctcaag	gtcagccca	agagacatca	gttcttctgc	actgaggcctc	cccactttca	2400
aaacattctt	ctttgatgtt	gactttaat	ccacaagaga	atgtacagtc	tgggtgagac	2460
ttctgagtct	ctgttaggtct	ttgtcatctc	tctttcctt	cctcatgatc	ctctgaacat	2520
tgctgacctc	agagaagtcc	aaccattca	gaagggtgg	tgcatccta	atgacagcag	2580
ccttcacatc	tgatgtgaag	ctctgcaatt	ctttctcaa	tgcttgcgtc	cattgaaagc	2640
tcttaacttc	cttagacaag	gacatctgt	tgctcaatgg	tttctcaaga	caaatgcgcga	2700
atcaaatgcc	taggatccac	tgtgcg				2726

&lt;210&gt; 7

&lt;211&gt; 7229

5 &lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Secuencia Artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; virus de la coriomeningitis linfocítica clon 13 segmento L

10 (GenBank: DQ361066.1)

<400> 7	gcmcaccggg	gatcctaggg	gttagttgc	gctgtttgg	tgcacaactt	tcttcgtgag	60
gctgtcagaa	gtggacctgg	ctgatagcga	tgggtcaagg	caagtccaga	gaggagaaag		120
gcaccaatag	tacaaacagg	gccgaaatcc	taccagatac	cacctatctt	ggccctttaa		180
gctgcaaatc	ttgctggcag	aaatttgcata	gcttgtaag	atgccatgac	cactacctt		240
gcaggcactg	tttaaacctt	ctgctgtcag	tatccgacag	gtgtcctt	tgtaaatatc		300
cattaccaac	cagattgaag	atatacaca	ccccagctc	tccacccccc	tacgaagagt		360
aacaccgtcc	ggccccggcc	ccgacaaaca	gcccaagcaca	aggaaaccgc	acgtcacc		420

ES 2 934 698 T3

acgcacacag acacagcacc caacacagaa cacgcacaca cacacacaca cacacccaca 480  
cgcacgcgcc cccaccaccg gggggcgccc ccccccgggg ggcgggggggg cgggagcccg 540  
ggcggagccc cacggagatg cccatcagtc gatgtcctcg gccaccgacc cgcccagcca 600  
atcgtcgcag gaccccccct tgagtctaaa cctgcccccc actgtttcat acatcaaagt 660  
gctcctagat ttgctaaaac aaagtctgca atccttaaag gcgaaccagt ctggcaaaag 720  
cgacagtggaa atcagcagaa tagatctgca tatacatagt tcctggagga ttacacttat 780  
ctctgaaccc aacaaatgtt caccagttt gaatcgatgc aggaagaggt tcccaaggac 840  
atcactaatac ttttcatagc cctcaagtcc tgctagaaaag actttcatgt ccttgggttc 900  
cagcttcaca atgatatttt ggacaagggtt tcttccttca aaaagggcac ccatctttac 960  
agtcaagtggc acaggctccc actcagggtcc aactctctca aagtcaatag atctaattccc 1020  
atccagtatt ctttggagc ccaacaactc aagctcaaga gaatcaccaa gtatcaaggg 1080  
atcttccatg taatcctcaa actcttcaga tctgatatac aagacaccat cgttcacctt 1140  
gaagacagag tctgtcctca gtaagtggag gcattcatcc aacattttc tatctatctc 1200  
acccttaaag aggtgagagc atgataaaaag ttcagccaca cctggattct gtaattggca 1260  
cctaaccaaag aatatcaatg aaaatttcct taaacagtca gtattattct gattgtgcgt 1320  
aaagtccact gaaattgaaa actccaatac ccctttgtg tagttgagca tgttagtccca 1380  
cagatccctt aaggatttaa atgccttgg gtttgcagg ccctgcctaa tcaacatggc 1440  
agcattacac acaacatctc ccattcggtt agagaaccac cccaaaccaa actgcaaatac 1500  
atccctaaac ataggcctct ccacatccc gttcaccacc tttgagacaa atgattgaaa 1560  
ggggcccaagt gcctcagcac catcttcaga tggcatcatt tctttatgag ggaaccatga 1620  
aaaattgcct aatgtcctgg ttgttgcacaa aaattctcga acaaattgatt caaaatacac 1680  
ctgttttaag aagttcttcgc agacatccct cgtgctaaca acaaattcat caaccagact 1740  
ggagtcagat cgctgatgag aattggcaag gtcagaaaac agaacagtgt aatgttcatac 1800  
cctttccac ttaacaacat gagaaatgag tgacaaggat tctgagttaa tatcaattaa 1860  
aacacagagg tcaaggaatt taattctggg actccacccctc atgttttttgc agctcatgtc 1920  
agacataaaat ggaagaagct gatcctcaaa gatctggga tatagccgcc tcacagattg 1980  
aatcacttgg ttcaaaattca cttgtcctc cagtagccctt gagctctcag gctttcttgc 2040  
tacataatca catgggttta agtgcttaag agttaggttc tcactgttat tcttccctt 2100  
ggtcggttct gctaggaccc aaacacccaa ctcaaaaagag ttgctcaatg aaatacaaat 2160  
gtagtcccaa agaagaggcc taaaaaggca tatatgatca cggtggcctt ctggatgaga 2220  
ctgtttgtca caaatgtaca gcgttataacc atccccatttgc caaacttttgc tcacatgtc 2280  
atctgtgttttgc agatcctcaaa qcaqcttttgcatacaaga ttttccctat ttttgcgttct 2340

cacacacacctg cttccctagag ttttgc当地 aag gcctataaaag ccagatgaga tacaactctg	2400
gaaagctgac ttgttatttgc当地 cttctgacag cagcttctgt gcaccccttg tgaatttact	2460
acaaagtttgc当地 ttctggagtg tcttgc当地 tgatggatt ctttc当地 ctgg tggaaagtc当地	2520
cactgatggat taaaccacact tttgtcttaa aaccatcctt aatggaaaca tttcattcaa	2580
attcaaccaggat ttaacatctg ctaactgatt cagatcttct tcaagaccga ggaggtctcc	2640
caattgaaga atggc当地 ctctt ttttatctct gttaaatagg tctaagaaaa attcttatttgc当地	2700
aaatttgc当地 tttttgc当地 gagct tatgtgc当地 tttc当地 ttaca agcttcttca acccttgc当地	2760
ttcatttagga cacagttc当地 ctatgagtc当地 ttgttattctg taacctctag aaccatccag	2820
ccaaatcttc acatcagtgat ttttgc当地 tagaaatggat tccaaaggaa aattggcata	2880
ctttaggagg tccagtttgc当地 tccttggat actattaact agggagactg ggacgccatt	2940
tgcgatggct tgatctgat ttttgc当地 ttttgc当地 ttttgc当地 agttgatgtg gcttcttaca	3000
cttgacatttgc当地 ttttgc当地 ttttgc当地 ctttgc当地 gagatc当地 aaccccttca acccttgc当地	3060
tacatagaat ctagatttgc当地 attctgc当地 gagatc当地 aaccccttca acccttgc当地 ttgggctgat	3120
aaatttgc当地 aacaaggccgc tcaatgc当地 ttggatttgc当地 aacaggacaa ggacttccctc	3180
cggatcactt acaaccaggat cactcagctt cctatc当地 aatgtatctt gatcatcact	3240
tgtatgttgc当地 gcctctggc当地 ttccgc当地 aataacacca atgc当地 agtgc当地 ttttgc当地 ttttgc当地	3300
ctcgctaaatc当地 aaaccataga agtc当地 agaagc当地 attatgc当地 attccctgat ccatatc当地	3360
aaggctggat atatggatgc当地 gcactatccc catttcaaaa tatttgc当地 ttttgc当地 aatatttgc当地	3420
agtaacagtt gtttgc当地 ttttgc当地 ccctgagaag ttttgc当地 gacttgc当地 atgatatttgc当地	3480
cattgc当地 atttgc当地 acaacaggaa agggacctc gacaagcttgc当地 ttttgc当地 aatatttgc当地	3540
agtgc当地 aacaatc当地 ttttgc当地 ttttgc当地 ttttgc当地 ttttgc当地 ttttgc当地 ttttgc当地	3600
tagaaacatt aagaacaaaa atgggc当地 catttgc当地 catttgc当地 ttttgc当地 gatccataact	3660
atagtttgc当地 aacccttccc gcacatttgc当地 agtc当地 atttgc当地 aagatttgc当地 ttttgc当地	3720
cttatttgc当地 tttaaacagg agcctgaaaa gaaacttgc当地 aaagactcaa aataatcttc	3780
tatttgc当地 tttaaacagg agcctgaaaa gaaacttgc当地 ttttgc当地 ttttgc当地 ttttgc当地	3840
tttttgc当地 tttaaacagg agcctgaaaa gaaacttgc当地 ttttgc当地 ttttgc当地 ttttgc当地	3900
gtatgtgtt ggtgatttgc当地 ctgagtttgc当地 gcacagat ttttgc当地 ttttgc当地 ttttgc当地	3960
tttttgc当地 tttaaacagg agcctgaaaa gaaacttgc当地 ttttgc当地 ttttgc当地 ttttgc当地	4020
cacgttcttct tccagtttgc当地 cccagtc当地 ttttgc当地 aacccttgc当地 ttttgc当地 ttttgc当地	4080
cctgttatttgc当地 cctgagtttgc当地 catttgc当地 catttgc当地 agaatcatct ttttgc当地 ttttgc当地	4140
aaaccaatca ttctc当地 gagaaaa agaacttgc当地 aaccaggat ttttgc当地 ttttgc当地 ttttgc当地	4200

acactgatct ttaatgactg aggtgaaata caaaggtgac agctctgtgg aaccctcaac	4260
agcctcacag ataaaatttca tgtcatcatt ggttagacat gatgggtcaa agtcttctac	4320
taaatggaaa gatatttctg acaagataac ttttcttaag tgagccatct tccctgttag	4380
aataagctgt aaatgatgta gtcctttgt atttgttaatg ttttctccat ctccttgta	4440
atggccctc ctacctcttc tgtaccgtgc tattgtggtg ttgacctttt cttcgagact	4500
tttgaagaag cttgtctctt cttctccatc aaaacatatt tctgccaggt tgtctccga	4560
tctccctgtc ttttctccct tggaaaccat gaccaatcta gagactaact tggaaacttt	4620
atattcatag tctgagtggc tcaacttata cttttgtttt cttacgaaac tctccgtaat	4680
ttgactcaca gcactaacaa gcaatttggtaa agtcatat tccagaagtc gttctccatt	4740
tagatgctta ttaaccacca cactttgtt actagcaaga tctaattgtg tcgcacatcc	4800
agagtttagtc atggatcta ggctgttag cttcttctct ctttggaaa ttaaagtggc	4860
gttggtaat gaagacacca ttaggctaaa ggcttccaga ttaacacctg gagttgtatg	4920
ctgacagtca atttctttac tagtgaatct cttcatttgc tcatagaaca cacattttc	4980
ctcaggagtg attgcttcct tgggggtgac aaaaaaaacca aattgacttt tgggctcaaa	5040
gaactttca aaacatttta tctgatctgt tagcctgtca ggggtctcct ttgtgatcaa	5100
atgacacagg tatgacacat tcaacataaa tttaaattttt gcaactaaca acacccctc	5160
accagtagcca aaaatagttt ttatttagaa tctaaggcgc ttatacacca cttctcagc	5220
aggtgtgatc agatcctccc tcaacttatac cattaatgtat gtagatgaaa aatctgacac	5280
tattgccatc accaaatatac tgacactctg tacctgtttt tgatttctct ttgttggtt	5340
ggtgagcatt agcaacaataa gggccctcag tgcaacctca atgtcggtga gacagtctt	5400
caaattcagga catgatctaa tccatgaaat catgatgtct atcatattgt ataagacctc	5460
atctgaaaaa attggtaaaa agaaccctttt agatctgca tagaaggaaa tttaaatgacc	5520
atccgggcct tgtatggagt agcacccctga agattctcca gttttctgggt ataataggtg	5580
gtattcttca gagtccagtt ttattacttg gcaaaacact tctttgcatt ctaccacttg	5640
atatctcaca gaccctatttt gatttgcct tagtctagca actgagctag ttttctact	5700
gtttgttaag gccagacaaa cagatgataa tcttctcagg ctctgtatgt tcttcagctg	5760
ctctgtgtctg ggttggaaat tgtaatcttca aaacttcgtta taatacatta tcgggtgagc	5820
tccaaatttca ataaaggcttcaaa caaattcgttca gaatggatg tggcattttt gctcaaggtg	5880
ttcagacagt ccgtaatgct cgaaactcag tccaccact aacaggcatt tttgaatttt	5940
tgcaatgaac tcaactaatacg atgcccctaaa caattcctca aaagacacccct ttctaaacac	6000
ctttgactttt tttcttattcc tcaaaaagtctt aatgaactcc tcttttagtgc tgtgaaagct	6060
taccagccata tcattcacac tactatacgca acaacccacc cagtgtttat catttttaa	6120

	ccctttgaat ttcgactgtt ttatcaatga ggaaagacac aaaacatcca gatthaacaa	6180
	ctgtctcctt ctagtattca acagttcaa actcttgact ttgttaaca tagagaggag	6240
	cctctcatat tcagtgctag tctcaattcc ctttcgtgc ccatgggtct ctgcagttat	6300
	aatctcatc aaaggacagg attcgactgc ctccctgctt aatgttaaga tatcatcact	6360
	atcagcaagg ttttcataga gctcagagaa ttccttgatc aagccttcag ggtttacttt	6420
	ctgaaagttt ctctttaatt tcccacttcc taaatctctt ctaaacctgc tgaaaagaga	6480
	gtttattcca aaaaccacat catcacagct catgttgggg ttgatgcctt cgtggcacat	6540
	cctcataatt tcattcattgt gagttgacct cgcattttc agaatttca tagagtccat	6600
	accggagcgc ttgtcgatag tagtcttcag ggactcacag agtctaaaat attcagactc	6660
	ttcaaaagact ttctcatttt ggtagaata ctccaaaagt ttgaataaaa ggtctctaaa	6720
	tttgaagttt gcccactctg gcataaaaact attatcataa tcacaacgac catctactat	6780
	tggaactaat gtgacacccg caacagcaag gtctccctg atgcattgcca atttggtagt	6840
	gtcctctata aatttcttct caaaactggc tggagtgctc ctaacaaaac actcaagaag	6900
	aatgagagaa ttgtctatca gctttaacc atcaggaatg ataagtggta gtccctggca	6960
	tacaattcca gactccacca aaattgttcc cacagactta tcgtcggtgt tgggtgtgca	7020
	gccactcttgc tctgcactgt ctatttcaat gcagcgtgac agcaacttga gtccctcaat	7080
	cagaaccatt ctgggttccc tttgtccag aaagttgagt ttctgccttgc acaaccttc	7140
	atccctgttct atatagttta aacataactc tctcaattct gagatgattt catccattgc	7200
	gcatcaaaaaa gcctaggatc ctcggcgc	7229
	<210> 8	
	<211> 8	
5	<212> PRT	
	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
	<223> Epítopo derivado de la proteína HBs del HBV	
10	<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> Epítopo 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> Epítopo derivado de la proteína HBc del HBV	

# ES 2 934 698 T3

<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		
cgcacccggg atcctaggct ttttggattg cgctttcctc tagatcaact ggggttcagg	60	
ccctatccta cagaaggatg ggtcagattg tgacaatgtt tgaggctctg cctcacatca	120	
tcgatgaggt gatcaacatt gtcattattg tgcttatcgt gatcacgggt atcaaggctg	180	
tctacaattt tgccacctgt gggatattcg cattgatcag tttcctactt ctggctggca	240	
ggtcctgtgg catgtacggt cttaaggac ccgacattta caaaggagtt taccattta	300	
agtcagtgga gtttgatatg tcacatctga acctgaccat gccaacgcgca tgttcagcca	360	
acaactccca ccattacatc agtatggga cttctggact agaattgacc ttcaccaatg	420	
attccatcat cagtcacaac ttttgcatac tgacctctgc cttcaacaaa aagacctttg	480	
accacacact catgagtata gtttcgagcc tacacctcag tatcagaggg aactccaaact	540	
ataaggcagt atcctgcgac ttcaacaatg gcataaccat ccaataacaac ttgacattct	600	
cagatcgaca aagtgctcag agccagtgtt gaaaccttcag aggttagatgc ctagatatgt	660	
ttagaactgc cttcgggggg aaatacatga ggagtggctg gggctggaca ggctcagatg	720	
gcaagaccac ctgggttagc cagacgagtt accaataacct gattatacaa aatagaacct	780	
gggaaaacca ctgcacatat gcaggtcctt ttgggatgtc caggattctc cttcccaag	840	
agaagactaa gttcttcaact aggagactag cgggcacatt cacctggact ttgtcagact	900	
cttcagggggt ggagaatcca ggtggttatt gcctgaccaa atggatgatt ctgtcgtcag	960	
15 agcttaagtg tttcgggaac acagcagttg cgaaatgcaa tgtaaatcat gatgccgaat	1020	

## ES 2 934 698 T3

tctgtgacat gctgcgacta attgactaca acaaggctgc tttgagtaag ttcaaagagg	1080
acgtagaatc tgccctgcac ttattcaaaa caacagtgaa ttctttgatt tcagatcaac	1140
tactgatgag gaaccacttg agagatctga tgggggtgcc atattgcaat tactcaaagt	1200
tttggtacct agaacatgca aagaccggcg aaactagtgt ccccaagtgc tggcttgtca	1260
ccaaatggttc ttacttaat gagaccact tcagtgatca aatcgAACAG gaagccgata	1320
acatgattac agagatgtt aggaaggatt acataaAGAG gcaggggagt acccccctag	1380
cattgatgga ctttctgtatg ttttccacat ctgcataatct agtcagcatac ttctgcacc	1440
ttgtcaaaat accaacacac aggcacataa aaggtggctc atgtccaaag ccacaccgat	1500
taaccaacaa aggaatttgt agttgtggtg catttaaggt gcctgggtta aaaaccgtct	1560
ggaaaagacg ctgaagaaca gcgcctccct gactctccac ctcgaaagag gtggagagtc	1620
agggaggccc agagggtctt agagtgtcac aacatttggg cctctaaaaa ttaggtcatg	1680
tggcagaatg ttgtgaacag tttcagatc tgggagcctt gctttggagg cgctttcaaa	1740
aatgatgcag tccatgagtg cacagtgcgg ggtgatctct ttcttctttt tgtcccttac	1800
tattccagta tgcataatcc acaaccagcc atatttgc tccactttgt cttcataactc	1860
cctcgaagct tccctggta tttcaacatc gataagctta atgtccttcc tattctgtga	1920
gtccagaagc ttctgtatgt catcgagcc ttgacagctt agaaccatcc cctgcggaaag	1980
agcacctata actgacgagg tcaacccggg ttgcgcattt aagaggtcgg caagatccat	2040
gccgtgtgag tacttggaaat cttgcttgc ttgttttga tcaacgggtt ccctgtaaaa	2100
gtgtatgaac tggccgttct gtgggggaa aattgctatt tccactggat cattaaatct	2160
accctcaatg tcaatccatg taggagcgat ggggtcaatt cctcccatga ggtctttaa	2220
aagcattgtc tggctgttagc ttaagccac ctgaggtgga cctgctgctc caggcgctgg	2280
cctgggtgaa ttgactgcag gtttctcgat tggagatca attgttgtt tttccatgc	2340
tctccccaca atcgatgttc tacaagctat gtatggccat cttcacctg aaaggcaaac	2400
tttatagagg atgtttcat aagggttctt gtcccaact tggctgaaa caaacatgtt	2460
gagtttctc ttggccccga gaactgcctt caagagggtcc tcgctgtgc ttggcttgat	2520
caaaattgac tctaacatgt tacccttcatc caacagggtc gcccctgcct tcacggcagc	2580
accaagacta aagttatagc cagaaatgtt gatgctggac tgctgttcag tgatgacccc	2640
cagaactggg tgcttgcatt tcagcccttc aagatcatta agattggat acttgactgt	2700
gttaaagcaag ccaaggtctg tgagcgcttgc tacaacgtca ttgagcggag tctgtgactg	2760
tttggccata caagccatag ttagacttgg cattgtgcca aattgattgt tcaaaagtga	2820
tgagtcttc acatccaaa ctcttaccac accacttgc cccctgcgttgc gctttctcat	2880
cccaactatc tgttaggatct gagatcttgc gtctagttgc tggctgttta agtccccat	2940

# ES 2 934 698 T3

	atataccctt gaagcctggg gccttcaga cctcatgatc ttggccttca gcttctcaag	3000
	gtcagccgca agagacatca gttttctgc actgagcctc cccacttca aaacatttt	3060
	ctttgatgtt gactttaaat ccacaagaga atgtacagtc tggggagac ttctgagtct	3120
	ctgttaggtct ttgtcatctc tctttcctt cctcatgatc ctctgaacat tgctgacctc	3180
	agagaagtcc aaccattca gaagggtggt tgcatcctt atgacagcag cttcacatc	3240
	tgatgtgaag ctctgcaatt ctcttctcaa tgcttgcgtc cattggaaagc tcttaacttc	3300
	cttagacaag gacatcttgt tgctcaatgg tttctcaaga caaatgcgca atcaaatgcc	3360
	taggatccac tgtgcg	3376
	<210> 12	
	<211> 3377	
5	<212> ADN	
	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
10	<223> virus de la coriomeningitis linfocítica clon 13 segmento S secuencia Completa de ADNc (GenBank: DQ361065.2)	
	<400> 12	
	gcccacccggg gatcctaggc tttttggatt gcgcttcctt ctagatcaac tgggtgtcag	60
	gccttatcctt acagaaggat gggtcagatt gtgacaatgt ttgaggctct gcctcacatc	120
	atcgatgagg tgatcaacat tgcattattt gtgcattatcg tgatcacggg tatcaaggct	180
	gtctacaattt ttgccacactg tggatattc gcattgatca gtttctact tctggctggc	240
	aggtcctgtg gcatgtacgg tcttaaggga cccgacattt acaaaggagt ttaccaattt	300
	aagtcagtgg agtttgatat gtcacatctg aacctgacca tgcccaacgc atgttcagcc	360
	aacaactccc accattacat cagtatgggg acttctggac tagaatttgc cttcaccaat	420
	gattccatca tcagtcacaa cttttgcattt ctgacactctg cttcaacaa aaagaccttt	480
	gaccacacac tcatgagttt agtttcgagc ctacacactca gtatcagagg gaactccaac	540
	tataaggcag tattctgcga cttcaacaaat ggcataacca tccaaatcaa cttgacattc	600
	tcagatgcac aaagtgcgtca gagccagtgt agaaccttca gaggttagagt cctagatatg	660
	tttagaactg cttcggggg gaaatacatg aggagtggct ggggctggac aggctcagat	720
	ggcaagacca cctgggtgttag ccagacgagt taccaataacc tgattataca aaatagaacc	780
	tggaaaacc actgcacata tgcaggtcct tttggatgt ccaggattct ctttcccaa	840
	gagaagacta agttcctcac taggagacta gcgggcacat tcacctggac tttgtcagac	900
	tcttcagggg tggagaatcc aggtggttat tgcctgacca aatggatgtat tcttgctgca	960
	gagcttaagt gtttggaa cacacgagtt gcgaaatgca atgtaaatca tgatgaagaa	1020
	ttctgtgaca tgctgcgtact aattgactac aacaaggctg ctttggatcaa gttcaaagag	1080

gacgtagaat ctgccttgca cttattcaaa acaacagtga attcttgat ttcagatcaa	1140
ctactgatga ggaaccactt gagagatctg atgggggtgc catattgcaaa ttactcaaag	1200
ttttggtacc tagaacatgc aaagaccggc gaaacttagtg tccccaagtg ctggcttgc	1260
accaatggtt cttacttaaa tgagacccac ttcaagtgacc aaatcgaaca ggaagccgat	1320
aacatgatta cagagatgtt gaggaaggat tacataaaga ggcagggag taccggctta	1380
gcattgatgg accttctgat gtttccaca tctgcataatc tagtcagcat cttccgtcac	1440
cttgtcaaaa taccaacaca caggcacata aaagggtggct catgtccaaa gccacaccga	1500
ttaaccaaca aaggaatttg tagttgtggt gcatttaagg tgcctgggt aaaaaccgtc	1560
tggaaaagac gctgaagaac agggcctccc tgactctcca cctcgaaaga ggtggagagt	1620
cagggaggcc cagagggtct tagagtgtca caacatttg gcctctaaaa attaggtcat	1680
gtggcagaat gttgtgaaca gtttcagat ctgggagcct tgcttggag gcgccttcaa	1740
aaatgatgca gtccatgagt gcacagtgcg gggtgatctc tttcttctt ttgtccctta	1800
ctattccagt atgcatctta cacaaccagc catatttgc ccacactttg tcttcatact	1860
ccctcgaagc ttccctggtc atttcaacat cgataagctt aatgtccttc ctattctgt	1920
agtccagaag ctttctgatg tcatcgagc cttgacagct tagaaccatc ccctgcggaa	1980
gagcacctat aactgacgag gtcaacccgg gttgcgcatt gaagaggtcg gcaagatcca	2040
tgcctgtga gtacttggaa tcttgcttga attgttttg atcaacgggt tccctgtaaa	2100
agtgtatgaa ctgcccgttc tgggttggaa aaattgctat ttccacttgg tcattaaatc	2160
taccctcaat gtcaatccat gtaggagcgt tggggctaat tcctcccatg aggtcttttta	2220
aaagcattgt ctggctgttag cttaagccca cctgaggtgg acctgctgtccaggcgctg	2280
gcctgggtga attgactgca gtttctcg tttgagatc aattgttgc tttccatg	2340
ctctccccac aatcgatgtt ctacaagcta tgtatggcca tccttcaccc gaaaggcaaa	2400
ctttatagag gatgtttca taagggttcc tgccttcaac ttggctctgaa acaaacatgt	2460
ttagtttctt cttggccccc agaactgcct tcaagaggc tctgctgttgc tttggcttga	2520
tcaaaaattga ctctaacatg ttaccccat ccaacaggc tgcccgttcc ttacggcag	2580
caccaagact aaagttatag ccagaaatgt tgatgcttgc ctgctgttca gtgtgaccc	2640
ccagaactgg gtgcttgc ttcagccctt caagatcatt aagatttggta tacttgactg	2700
tgtaaagcaa gccaaggctt gtgagcgctt gtacaacgtc attgagcgaa gtctgtact	2760
gtttggccat acaagccata gttagacttg gatgttgcc aaattgatttgc tttcaaaatgt	2820
atgagtcttt cacatccaa actcttacca caccacttgc accctgctga ggcttctca	2880
tcccaactat ctgttaggatc tgagatctt ggtcttagttt ctgtgttgc aagttccccca	2940

	tatatacccc tgaaggctgg ggccttcag acctcatgat cttggccttc agcttctcaa	3000
	ggtcagccgc aagagacatc agttttctg cactgagcc ccccacttcaaaaacattct	3060
	tctttgatgt tgactttaaa tccacaagag aatgtacagt ctgggtgaga cttctgagtc	3120
	tctgttaggtc tttgtcatct ctctttcct tcctcatgat cctctgaaca ttgctgacct	3180
	cagagaagtc caacccattc agaagggtgg ttgcatcctt aatgacagca gccttcacat	3240
	ctgatgtgaa gctctgcaat tctcttctca atgcttgctgat ccatttgaag ctcttaactt	3300
	ccttagacaa ggacatcttgg ttgctcaatg gtttctcaag acaaattgcgc aatcaaattgc	3360
	ctaggatcca ctgtgcg	3377
	<210> 13	
	<211> 7205	
5	<212> ADN	
	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
	<223> coriomeningitis linfocítica cepa MP segmento L, secuencia completa de ADNc	
10	<400> 13	
	gcccacccggg gatcctaggc atttttgttgcgcattttgttgtgttattt gttgcacagc	60
	ccttcatcggttggaccaaaacc aaaccaccaggccatggggcca aggcaagtcc	120
	aaagaggggaa gggatgcccag caatacgagc agagctgaaa ttctgcccaga caccacctat	180
	ctcggacccctc tgaactgcaa gtcatgctgg cagagatttgcacagtttgcacat	240
	gaccactatc tctgcagaca ctgcctgaac ctccgtgtgttgcacatgggtgcct	300
	ctctgcaaac atccattgcc aaccaaaactg aaaatatcca cggcccaag ctctccaccc	360
	ccttacgagg agtgcgcggcc cgagcccaaccaccaaggaggccac caacacaacg	420
	cccaacacgg aacacacaca cacacaccca cacacacatc cacacacacg cgccccccaca	480
	acggggggcgc cccccccgggg gtgggggggggggtgtcgccggagggccac acggagaggc	540
	caatttagtgcg atctcctcga ccaccgactt ggtcagccag tcatcacagg acttgcctt	600
	aagtctgtac ttgcccacaa ctgtttcata catcaccgttgcgttactgaaaca	660
	tagcctacag tctttgaaag tgaaccagtc aggccacaatgt gacagcggttccatgttgc	720
	ggatctatct atacacaact cttggagaat tggcttaatttccgacccctt gtagatgttc	780
	accagttctg aatcgatgttgaagaaggcttccaaaggacgc tcatcaaaat ttccataacc	840
	ctcgagctct gccaagaaaa ctctcataatc cttggtctcc agtttccaaatcgatgttctg	900
	aacaaggctt cttccctcaa aaagagcacc catttcacatcgtcaaggggca caggctccca	960
	ttcaggccca atcctctcaa aatcaaggga tctgatcccg tccagtattt tccttgagcc	1020
	tatcagctca agctcaagag agtcaccgag tatcagggggatcctccatataatcgatgttctg	1080

ctcttcagac ctaatgtcaa aaacaccatc gttcaccttg aagatagagt ctgatctcaa	1140
caggtggagg cattcgtcca agaacccatc gtccacctca cctttaaaga ggtgagagca	1200
tgataggaac tcagctacac ctggaccttg taactggcac ttcactaaaa agatcaatga	1260
aaacttcctc aaacaatcag tgttattctg gttgtgagtg aaatctactg taattgagaa	1320
ctctagcact ccctctgtat tatttatcat gtaatcccac aagtttctca aagacttcaa	1380
tgccttggta tttgtcaagc cttgtttgat tagcatggca gcattgcaca caatatctcc	1440
caatcggtaa gagaaccatc caaatccaaa ttgcaagtca ttcttaaaca tgggcctata	1500
catattttg ttcactactt ttaagatgaa tgattggaaa ggcggcaatg cttcagcgcc	1560
atcttcagat ggcatcatgt ctttatgagg gaaccatgaa aaacttccta gagttctgt	1620
tgttgctaca aattctcgta caaatgactc aaaatacact tgttttaaaa agttttgca	1680
gacatccctt gtactaacga caaattcatc aacaaggctt gagtcagagc gctgatggaa	1740
atttacaaga tcagaaaata gaacagtgtc gtgttgcgtcc ctcttccact taactacatg	1800
agaaaatgagc gataaagatt ctgaattgat atcgatcaat acgcaaagggt caaggaattt	1860
gattctggga ctccatctca tgtttttga gctcatatca gacatgaagg gaagcagctg	1920
atcttcatag attttagggt acaatcgctt cacagattgg attacatggg ttaaacttat	1980
cttgcctcc agtagccctg aactctcagg ctcccttgc acataatcac atgggttcaa	2040
gtgcttgagg cttgagcttc ctcattctt cccttcaca ggttcagcta agacccaaac	2100
acccaaactca aaggaattac tcagtgagat gcaaataatag tcccaaagga ggggcctcaa	2160
gagactgatg tggtcgcagt gagcttctgg atgactttgc ctgtcacaaa tgtacaacat	2220
tatgccatca tgtctgtgga ttgctgtcac atgcgcacccatcc atagcttagat cctcaagcac	2280
ttttctaattg tatagattgt ccctattttt atttctcaca catctacttc ccaaagtttt	2340
gcaaagacct ataaaggctg atgagatgca actttgaaag gctgacttat tgattgcttc	2400
tgacagcaac ttctgtgcac ctcttgaa cttaactgcag agcttggctt ggagtgttctt	2460
gattaatgat gggattctt cctcttgaa agtcattact gatggataaa ccactttctg	2520
cctcaagacc attcttaatg ggaacaactc attcaaattc agccaattta tgtttgc当地	2580
ttgacttaga tcctcttcga ggccaaggat gttcccaac tgaagaatgg ctccctttt	2640
atccctattg aagaggtcta agaagaattc ttcatgtac tcaccattct tgagcttatg	2700
atgtgtctc cttacaagcc ttctcatgac ctgcgtttca cttagacaca attcttcaat	2760
aaggctttgg attctgttaac ctcttagagcc atccaaccaa tccttgacat cagtattatg	2820
gttaagcaaa aatgggtcca agggaaagtt ggcataatgg aagaggtcta atgttctt	2880
ctggatgcag ttaccaatg aaactggaaac accatttgca acagcttgat cggcaattgt	2940
atctattgtt tcacagagtt ggtgtggctc ttacactta acgttggta atgctgctga	3000

# ES 2 934 698 T3

cacaaatttt	gttaaaagtgg	ggaccttcc	cccccacaca	taaaatctgg	attnaaattc	3060
tgcagcaa	atcgccccacca	cactttcgg	actgtatgaa	ttgttaagca	agccactcaa	3120
atgagaatga	aattccagca	atacaaggac	ttcctcaggg	tcactatcaa	ccagttca	3180
caatctccta	tcaaataagg	tgatctgatc	atcacttgat	gtgttaagatt	ctggtcttc	3240
acccaaaatg	acaccgatac	aataattaat	gaatctctca	ctgattaagc	cgtaaaagtc	3300
agaggcatta	tgtaagattc	cctgtcccat	gtcaatgaga	ctgcttat	ggaaaggcac	3360
tattccta	atcaaaaatatt	ctcgaaaagat	tcttcagtc	acagttgtct	ctgaacccct	3420
aagaagttc	agcttgatt	tgatatatga	tttcatcatt	gcattcacaa	cagaaaaagg	3480
gacctaaca	agtttgta	tgtgccaagt	taataagg	ctgatatgat	ccttccgga	3540
acgcacatac	tggtcatcac	ccagtttgag	atttgaagg	agcattaaaa	acaaaaatgg	3600
gcacatcatt	ggccccatt	tgctatgatc	catactgtag	ttcaacaacc	cctctcgac	3660
attgatggtc	attgatagaa	ttgcatttc	aaattcttg	tcattgtta	agcatgaacc	3720
tgagaagaag	ctagaaaaag	actcaaaata	atcctctatc	aatcttgtaa	acattttgt	3780
tctcaa	atcccaatataaa	gttctctgtt	tcctccaacc	tgctcttgt	atgataacgc	3840
aaacttcaac	cttccggaat	caggaccaac	tgaagtgtat	gacgttgg	actcctctga	3900
gtaaaaacat	aaattcttta	aagcagcact	catgcattt	gtcaatgata	gagccttact	3960
tagagactca	gaattacttt	cccttcact	aattctaaca	tcttcttcta	gtttgtccca	4020
gtcaaaactt	aaattcagac	tttgtcttgc	catgtgcctg	tattccctg	agtatgcatt	4080
tgcattcatt	tgcaatgaa	tcattttcat	acacgaaaac	caatcaccc	ctgaaaaaaaa	4140
cttcctgcag	aggtttttgc	ccatttcatc	cagaccacat	tgttcttga	cagctgaagt	4200
gaaatacaat	ggtgacagtt	ctgtagaagt	ttcaatagcc	tcacagataa	atttcatgtc	4260
atcattggtg	agacaagatg	ggtcaaaatc	ttccacaaga	tgaaaagaaa	tttctgataa	4320
gatgaccttc	cttaaatatg	ccattttacc	tgacaatata	gtctgaaggt	gatcaatcc	4380
ttttgtat	tcaaacc	cctcat	cccttcattt	gtcttcttgc	ttcttcata	4440
ccgcatttatt	gtggagttga	ccttatctt	taaattcttgc	aagaaacttgc	tctttcttgc	4500
cccatcaaag	catatgtctg	ctgagtcacc	ttcttagtttgc	ccagcttctg	tttctttaga	4560
gccgataacc	aatcttagaga	ccaaacttgc	aaccttgcac	tcgtaatctg	agtggttcaa	4620
tttgcatttgc	tgctttctca	tgaagcttgc	tgtgatctga	ctcacagcac	taacaagcaa	4680
tttgcatttgc	tcatactcta	ggagccgttgc	ccat	tgttgcatttgc	caaccacact	4740
tttgcatttgc	gcaagg	tttgcatttgc	acacccagag	tttagtcatgg	gatccaagct	4800
attgagcctc	ttctcc	tttgcatttgc	tttgcatttgc	tttgcatttgc	tttgcatttgc	4860

gctaaaggcc tccagattga cacctgggt tgcgcgtga cagtcaactt cttccca	4920
gaacttcttc atttggtcat aaaaacaca ctttcctca ggggtattt actctttagg	4980
gttaacaaag aagccaaact cacttttagg ctcaaagaat ttctcaaagc atttaattt	5040
atctgtcagc ctatcagggg ttcccttgc gatataatga cacaggtatg acacattcaa	5100
catgaacttgc aactttgcgc tcaacagttc ctttcacca gtcacaaaaa cagttttgtat	5160
caaaaatctg agcaatttgtt acactactt ctcagcagggt gtatcaaattt cttccatca	5220
cttgcacatc aatgatgtgg atgagaagtc tgagacaatg gccatcaacta aataccta	5280
gttttgaacc tggggatgc ttctttgtt tgggtgggtt agcatgatgtt ataatagggt	5340
tctcaatgca atctcaacat catcaatgct gtccttcaag tcaggacatg atctgatcca	5400
ttagatcatg gtgtcaatca tgggtgtt cacttcatct gagaagattt gtaaaaaagaa	5460
ccttttggg tctgcataaa aagagattt atggccattt ggaccttgcata tagaataaca	5520
ccttggggat tctccatgtt ttgtatcag caggtatgc ttctcagatg ccaattttat	5580
cacttggcaa aatacccttt tacattccac cacttgatac cttacagagc ccaattggtt	5640
ttgtcttaat ctagcaactg aactttttt catactgttt gtcacaaatgtt gacagacaga	5700
tgacaatctt ttcaaaatcat gcatgttccat taattgttcc gtattaggctt ggaaatcata	5760
atcttcaaaac ttgttataat acattatagg atgagttccg gacctcatgtt aattctcaa	5820
ctcaataaaat ggtatgtggc actcatgctc aagatgttca gacagaccat agtgcacaaa	5880
actaagtccc accactgaca agcacccattt aactttttttaa atgaactcat ttatggatgt	5940
tctaaacaaa tcctcaagat atacccctt atacgcctt gactttctcc ttgttccat	6000
aagtctgtatg aactcttcctt tgggtgtatg aaagctcacc aacctatcat tcacactccc	6060
atagcaacaa ccaacccatg gcttatcatt ttttgaccct ttgagtttag actgtttgtat	6120
caacgaagag agacacaaga catccaaattt cagtaactgtt ctcctctgg ttgtcaataa	6180
ttttaaactt ttaactttgtt tcaacataga gaggagccctc tcataactca gtcgtatctc	6240
acttaacttca tcataaccat ggttatctgc tggataat ctcataaag gacaggattt	6300
aactgcctcc ttgcttagtgc ctgaaatgtc atcactgtca gcaagagtct cataaagctc	6360
agagaatttcc ttaattttttt ttccgggtt gatttctgtt aaactccctt tgagctccc	6420
agtttccaaat tctttctttaa acctgtgtt aaggagttt atgccaagaa ccacatcatc	6480
gcagttcatg ttgggttgc caccatcatg gcacatttttcaataatttcat cattgtgaaa	6540
tgtatcttgc tctttcaaga ttttcataga gtctataccg gaacgcttcat caacagtgg	6600
cttgagatgttgc tggcaaaatgtc tgaagtactc agattccatca aagactttctt catcttggct	6660
agaatactctt aaaaatgtttaa acagaaggc tctgaacttgc aaatttccatca actctggcat	6720
aaagctgtta tcataatcac accgaccatc cactattggg accaatgttgc taccggcaat	6780

# ES 2 934 698 T3

	ggcaaggctct tctttgatac aggctagttt attgggtgtcc tctataaatt tcttctcaaa	6840
	actagctggt gtgcttctaa cgaagcactc aagaagaatg aggaaattgt caatcagttt	6900
	ataaccatca ggaatgatca aaggcagtcc cgggcacaca atccagact ctattagaat	6960
	tgcctcaaca gatttatcat catggttgc tatgcagccg ctcttgcag cactgtctat	7020
	ctctatacaa cgcgacaaaa gtttgagtcc ctctatcaat accattctgg gttcttttg	7080
	ccctaaaaag ttgagcttct gccttgacaa cctctcatct tgttctatgt ggttaagca	7140
	caactctctc aactccgaaa tagcctcatc cattgcgcatt caaaaagcct aggatcctcg	7200
	gtgcg	7205
	<210> 14	
	<211> 3359	
5	<212> ADN	
	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
10	<223> coriomeningitis linfocítica cepa MP segmento S, secuencia completa de ADNc	
	<400> 14	
	cgcaccgggg atccttagct ttttggattt cgctttcctc agctccgtct tggggagaa	60
	tgggtcaaat tggacgatg tttgaggctc tgcctcacat cattgatgag gtcattaaca	120
	ttgtcattat cgtgcttatt atcatcacga gcatcaaagc tggtaaat ttggccacct	180
	gggggatact tgcattgatc agcttcttt ttctggctgg caggtcctgt ggaatgtatg	240
	gtcttgatgg gcctgacatt tacaaagggg tttaccgatt caagtcagtg gagtttgaca	300
	tgtcttacct taacctgacg atgccaatg catgttcggc aaacaactcc catcattata	360
	taagtatggg gacttctgga ttggagttaa cttcacaaa tgactccatc atcaccacata	420
	acttttgtaa tctgacttcc gcctcaaca agaggacttt tgaccacaca cttatgagta	480
	tagtctcaag tctgcaccc agcattagag gggccccag ctacaaagca gtgtcctgt	540
	attttaacaa tggcatcaact attcaataca acctgtcatt ttctaatgca cagagcgctc	600
	ttagtcaatg taagaccc tcctggatat gttcagaact gctttggag	660
	gaaagtacat gaggagtgcc tggggctgga caggttcaga tggcaagact acttggtgca	720
	gccagacaaa ctaccaaat ctgattatac aaaacaggac ttggaaaaac cactgcaggt	780
	acgcaggccc ttccgaatg tctagaattc tctcgctca agaaaagaca agtttctaa	840
	ctagaaggct tgcaggcaca ttcaacttggc ctttatcaga ctcattcagga gtggagaatc	900
	caggtggta ctgcttgacc aagtggatga tcctcgctgc agagctcaag tggggaa	960
	acacagctgt tgcaaagtgc aatgtaaatc atgatgaaga gttctgtat atgctacgac	1020
	tgattgatta caacaaggct gctttgagta aattcaaaga agatgttagaa tccgctctac	1080

# ES 2 934 698 T3

atctgttcaa gacaacagtg aattcttga tttctgatca gctttgatg agaaatcacc	1140
taagagactt gatgggagtg ccatactgca attactcgaa attctggat ctagagcatg	1200
caaagactgg tgagactagt gtcrrcaagt gctggcttgt cagcaatggt tcttatttga	1260
atgaaaccca tttcagcgac caaattgagc aggaagcaga taatatgatc acagaaatgc	1320
tgagaaagga ctacataaaa aggcaaggga gtacccctct agccttgatg gatctattga	1380
tgcatttctac atcagcatat ttgatcagca tctttctgca tcttggagg ataccaacac	1440
acagacacat aaagggcggc tcatgccc aaaccacatcg gttaaccagc aagggaatct	1500
gtagttgtgg tgcatttaaa gtaccaggtg tgaaaccac ctggaaaaga cgctgaacag	1560
cagcgcctcc ctgactcacc acctcgaaag aggtggtag gtcaggaggc ccagagggtc	1620
tttagagtgtt acgacattt gacctctgaa gattaggtca tgtggtagga tattgtggac	1680
agttttcagg tcggggagcc ttgccttggg ggcgccttca aagatgatac agtccatgag	1740
tgcacagtgt ggggtgaccc ctccctttt ctgtccctc actattccag tgtgcattt	1800
gcatacgccag ccatatttgc cccagactt gtcctcatat tctcttgaag ctcttttagt	1860
catctcaaca tcgatgagct taatgtctct tctgtttgtt gaatctagga gttccctgat	1920
gtcatacgat ccctgacaac tttaggaccat tccctgtggg agagcaccta ttactgaaga	1980
tgtcagccca gggtgtgcat tgaagaggc agcaagggtcc atgccatgtg agtatttggg	2040
gtcctgcttg aattgtttt gatcagtggg ttctctatag aaatgtatgt actgcccatt	2100
ctgtggctga aatattgtta tttctaccgg gtcattaaat ctgcctcaa tgtcaatcca	2160
tgttaggagcg ttagggtaaa tacctcccat gaggtccttc agcaacattt gttggctgt	2220
gcttaagccc acctgagggtg ggcccgctgc cccaggcgct ggttgggtg agttggccat	2280
aggcctctca tttgtcagat caattgttgtt gttctcccat gctctcccta caactgtatgt	2340
tctacaagct atgtatggcc accccctcccc taaaagacag actttgtaga ggatgttctc	2400
gtaaggattc ctgtctccaa cctgatcaga aacaaacatg ttgagttct tcttggcccc	2460
aagaactgct ttcaggagat cctcactgtt gcttggctta attaagatgg attccaacat	2520
gttaccccca tctaacaagg ctgccttc ttcacagca gcaccgagac taaaattgt	2580
gccagatatg ttgatgcttag actgctgctc agtgtatgact cccaaagactg ggtgcttgc	2640
tttcagccct tcaagggtcac ttagggtcgg gtacttgact gtgtaaagca gccaagggtc	2700
tgtgagtgtc tgcacaacgt cattgagtga gttttgtgat tttggccca tacaagccat	2760
tgttaagctt ggcattgtgc cgaattgatt gttcagaagt gatgagtct tcacatcccc	2820
gaccctcacc acaccatttg cactctgctg aggtctcttc attccaacca tttgcagaat	2880
ctgagatctt tggtaagct gttgtgtgt taaaatttttccca atgttagactc cagaagttag	2940

# ES 2 934 698 T3

aggccttca gacctcatga ttttagcctt cagttttca aggtcagctg caagggacat	3000
cagttttctt gcaactaagcc tccctacttt tagaacattt ttttttgatg ttgactttag	3060
gtccacaagg gaatacacag tttggttgag gcttctgagt ctctgtaaat ctttgcattc	3120
cctttctctt ttccatcatga tcctctgaac attgctcacc tcagagaagt ctaatccatt	3180
cagaaggctg gtggcatctt tgatcacagc agctttcaca tctgatgtga agccttgaag	3240
ctctctcctc aatgcctggg tccattgaaa gcttttaact tctttggaca gagacatttt	3300
gtcactcagt ggatttccaa gtcaaatgcg caatcaaaat gccttaggatc cactgtgcg	3359

<210> 15

<211> 558

5 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Proteína NP de la cepa MP de LCMV

10

<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

5 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Proteína GP de la cepa MP de LCMV

10

<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 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  
385 390 395 400

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 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  
465 470 475 480

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

5 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Proteína L de la cepa MP de LCMV

10

<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 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 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 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

5 <211> 90

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

# ES 2 934 698 T3

<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	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

gccgcaccggg	gatcctaggc	gtaacttcat	cattaaaatc	tcagattctg	ctctgagtgt	60
-------------	------------	------------	------------	------------	------------	----

gacttaactgc	gaagaggcag	acaaatgggc	aactgcaacg	gggcatccaa	gtctaaccag	120
-------------	------------	------------	------------	------------	------------	-----

ccagactcct	caagagccac	acagccagcc	gcagaattta	ggagggttagc	tcacagcagt	180
------------	------------	------------	------------	-------------	------------	-----

ctatatggta	gatataactg	taagtgctgc	tggtttgctg	ataccaattt	gataaacctgt	240
------------	------------	------------	------------	------------	-------------	-----

aatgatcaact	acctttgttt	aaggtgccat	cagggtatgt	taaggaattc	agatctctgc	300
-------------	------------	------------	------------	------------	------------	-----

aatatatctgct	ggaagccct	gcccaccaca	atcacagtac	cggtggagcc	aacagcacca	360
--------------	-----------	------------	------------	------------	------------	-----

15

ccaccatagg	cagactgcac	agggtcagac	ccgacccccc	ggggggccccc	catggggacc	420
------------	------------	------------	------------	-------------	------------	-----

## ES 2 934 698 T3

ccccgtgggg	gaaccccggg	ggtgatgcgc	cattagtcaa	tgtcttgat	ctcgactttg	480
tgcttcagtg	gcctgcatgt	caccccttc	aatctgaact	gcccttgggg	atctgatatc	540
agcaggtcat	ttaaagatct	gctgaatgcc	accttgaat	ttgagaattc	caaccagtca	600
ccaaatttat	caagtgaacg	gatcaactgc	tctttgtgt	gatcataaac	gaggacaaag	660
tcctcttgct	gaaataatat	tgtttgtat	gttgggttta	gataaggcca	tagttggctt	720
aataagggtt	ccacactatc	aatgtcctct	agtgcctcaa	ttgccttgac	tatgacatcc	780
ccagacaact	caactctata	tgttgacaac	cttcattac	ctctgtaaaa	gataccctct	840
ttcaagacaa	gagggtctcc	tgggttatct	ggcccaatga	ggtcatatgc	atacttgtta	900
cttagttcag	aataaaagtc	accaaagttg	aacttaacat	ggctcagaat	attgtcatca	960
tttgcgcag	cgtgcctgc	atcaataaac	aagccagcta	ggtcaaagct	ctcatggcct	1020
gtgaacaatg	gtaggctagc	gataaccagt	gcaccatcca	acaatgagtg	gcttccctca	1080
gacccagaaa	cacattgact	cattgcatcc	acattcagct	ctaattcagg	ggtaccgaca	1140
tcatccactc	ctagtgaact	gacaatggtg	taactgtaca	ccatcttct	tctaagttta	1200
aattttgtcg	aaactcggt	gtgttctact	tgaatgatca	attttagttt	cacagcttct	1260
tggcaagcaa	cattgcgcaa	cacagtgtgc	aggtccatca	tgtcttcctg	aggcaacaag	1320
gagatgttgt	caacagagac	accctcaagg	aaaaccttga	tattatcaaa	gctagaaaact	1380
acataaccca	ttgcaatgtc	ttcaacaaac	attgcttttg	atactttatt	attcctaact	1440
gacaaggtaa	aatctgtgag	ttcagctaga	tctacttgac	tgtcattttc	tagatctaga	1500
acttcattga	acccaaaagaa	ggatttgaga	cacgatgtt	acatgactag	tgggtttatc	1560
atcgaagata	agacaacttg	caccatgaag	ttcctgcaaa	cttgctgtgg	gctgatgcca	1620
acttcccaat	ttgtataactc	tgactgtcta	acatgggctg	aagcgcaatc	actctgtttc	1680
acaatataaa	cattattatc	tcttactttc	aataagtgac	ttataatccc	taagttttca	1740
ttcatcatgt	ctagagccac	acagacatct	agaaaacttga	gtcttccact	atccaaagat	1800
ctgttcactt	gaagatcatt	cataaaagggt	gccaatgtt	cttcaaata	tttgggttaa	1860
tttcttcgta	tagaatgcaa	tacatggttc	atgcctaatt	ggtcttctat	ctgtcgtact	1920
gctttgggtt	taacagccca	gaagaaaattc	ttattacata	agaccagagg	ggcctgtgga	1980
ctcttaatag	cagaaaacac	ccactccct	aactcacagg	catttgcag	caccaaagag	2040
aagtaatccc	acaaaattgg	tttagaaaat	tggtaactt	ctttaagtga	tttttgacag	2100
taaataactt	taggctttct	ctcacaattt	ccacaaagac	atggcattat	tcgagtaat	2160
atgtccctta	tatacagaaa	tccgccttta	ccatccctaa	cacacttact	ccccataactc	2220
ttacaaaacc	caatgaagcc	tgaggcaaca	gaagactgaa	atgcagattt	gttgattgac	2280

ES 2 934 698 T3

tctgccaaga tcttcttcac gcctttgtg aaatttctg acagcctgga ctgtattgtc 2340  
cttatcaatg ttggcatctc ttctttct aacactctc gactgtcat gagttggtc 2400  
ctcaagacca acctcaagtc cccaaagctc gctaaattga cccatctgt a gtc tagagtt 2460  
tgtctgattt catcttcaact acacccggca tattgcagga atccggataa agcctcatcc 2520  
cctccctgc ttatcaagtt gataaggttt tcctcaaaga ttttgcctct cttaatgtca 2580  
ttgaacactt tcctcgcgca gttcctata aacattgtct ccttatcatc agaaaaaaaata 2640  
gcttcaattt teatctgttag acggtaacct ctagaccat caaccagtc tttgacatct 2700  
tgttcttcaa tagctccaaa cgaggtctct ctgtatccag agtatctaat caattggttg 2760  
actctaattgg aaatcttga cactatatga gtgctaaccc cattagcaat acattgtca 2820  
caaattgtgt ctatggtctc tgacagtgt gttggagtt tacacttaac gttgtgtaga 2880  
gcagcagaca caaacttgggt gагтaaагга gтctcttac ccatgacaaa aaatcttgac 2940  
ttaaacttcag caacaaaагт tcctatcaca ctcttggc tgataaactt gtttaattta 3000  
gaagataaga attcatggaa gcacaccatt tccagcagg tctgtccgtc ttgaaacttt 3060  
tcatcactaa ggcaaggaat ttttataagg ctaacctgg tcatcgctgga ggtataagtg 3120  
acaggtatca catcatacaa taagtcaagt gcataacaca gaaattgttc agtaattgc 3180  
ccatataaaat ctgatgtgtt gtgcaagatt ccctggccca tgccttacaca gtaggcttct 3240  
tggctgggaa cctggccct tgactgcaga tactggtgaa aaaactctt accaacaacta 3300  
gtacagtcac aaccattaa acctaaagat ctcttcaatt tccctacaca gtaggcttct 3360  
gcaacattaa ttggaaacttc aacgacccta tgaagatgcc atttgagaat gttcattact 3420  
ggttcaagat tcaccttgt tctatctctg ggattctca attctaatgt gtacaaaaaaa 3480  
gaaaggaaaa gtgctggct catagttggt ccccatgg agtggtcata tgaacaggac 3540  
aagtccacat tgtaaacagc catttcata tcacagattt cacggtcgaa ttccctttct 3600  
gaattcaagc atgtgtattt cattgaacta cccacagctt ctgagaagtc ttcaactaac 3660  
ctggtcataca gtttagtgg tgggtctccc acatacagg tcttatttga gcaacactgc 3720  
tccttataac tttagtccaaa ttcaagttt cctgtattt gactgtatgt tgcacttct 3780  
gtaggagagt cgtctgaata gaaacataaaa ttccgttaggg ctgcatttgg aaaataactt 3840  
ttgtcttagt tatcagcaat ggcttcagaa ttgctttccc tggtaactaag ccgaacactca 3900  
tcctttagtc tcagaacttc actggaaaag cccaatctag atctacttct atgctcataa 3960  
ctacccaatt tctgtatcata atgtccctga attaaaagat acttgaagca ttcaaaagaat 4020  
tcatcttctt ggttaggctat tggtaactaag tttttaata acaaacccaa agggcagatg 4080  
tcctgcgtgt cttcaagaaa ataagtcaat taaaatggag atagataaac agcatcacat 4140  
aactctttat acacatcaga cctqagcaca tctggatcaa aatcccttcac ctcatgcatt 4200

gacacctctg cttaatctc tctcaacact cccacaatga ctcaagagac	4260
tctcgctcat caacagatgg atttttgat ttcaacttgg tgatctcaac ttttgtcccc	4320
tcactattag ccatcttggc tagtgcatt tgtacgtcat ttctaataacc ctcaaaggcc	4380
cttacttgat cctctgttaa actctcatac atcactgata attcttcttgc attggttctg	4440
gttcttgaac cggtgctcac aagacctgtt agattttta atattaagta gtccatggaa	4500
tcaggatcaa gattataccct gcctttgtt ttaaacctct cagccatagt agaaacgcatt	4560
gttgaacaa gtttctcctt atcataaaca gaaagaatat ttccaaggtc gtcgagcttgc	4620
gggattacca cacttttatt gcttgacaga tccagagctg tgctagtgtat gtaggcctg	4680
tagggattgc tttttagttc acctgttaact ttaagtcttc ctctattgaa gagagaaatg	4740
cagaaggaca aaatctctt acacactcct ggaatttgag tatctgagga agtcttagcc	4800
tctttggaaa agaatctgtc caatccttattt atcatgggtt cctcttgc cagtgttaga	4860
ctccccactta gaggggggtt tacaacaaca caatcaaact tgactttggg ctcaataaac	4920
ttctcaaaac actttatttgc atctgtcagg cgatcagggtg tctctttgtt taccaagtga	4980
cacagataac taacatttaa tagatattta aaccttcttgc caaagtaaag atctgcattct	5040
tccccttcac cccaaattgt ctggaaaagt tccacagcca tcctctgaat cagcacctct	5100
gatccagaca tgcagtcac ccttaacttt gacatcaaattt ccacatgatg gatttgattt	5160
gcatatgcca tcaagaataa tcttagacct tgtaaaaatg tctgggtcct tttggaaagg	5220
gaacagagta cagctaacad taacaatctt aatattggcc ttgtcattgt catgagttcg	5280
tggctaaaat ccaaccagct ggtcatttcc tcacacattt caattaacac atcctccgaa	5340
aatataggca ggaaaaatct ctttggatca cagtaaaaag agccttggc ttccaataacc	5400
ccattgtatgg atagatagat agaatagcac ctgtacttct cacctgtttt ttggtaaaac	5460
aagagaccaa atgtattctt tgcagatga aatctttgtt cataacactc tcttagtcta	5520
acattcccaa aatatctaga atactcttctt tcattgatta acaatcgaa ggaaaatgtat	5580
gtcttcattcg agttgacca tgcaaggaa atggaggaca aaatcctaaa taatttcttc	5640
tgcacacccctt ccactaagct gctgaatggc tgatgtctac agatttctc aaattccttgc	5700
ttaatagtat atctcatcac tggctgtca gaaacaagtgc cctgagctaa aatcatcaag	5760
ctatccatat cagggtgttt tattagttt tccagctgtg accagagatc ttgtatgagag	5820
ttcttcattgt ttctggacaca cgcttgaacc cacttggggc tggctcatcaa tttcttcatt	5880
attagtttaa tcgcctccag aatatctaga agtctgtcat tgactaacat taacattgt	5940
ccaaacaacta ttcccgatt tcttaacctt acaattgcatt catcatgcgt tttggaaaggaa	6000
tcacaaagta aattgagtaa aactaagtcc agaaacagta aagtgtttct cctgggtttgc	6060

aaaactttta gaccttcac tttgttacac acggaaaggg cttgaagata acacctct	6120
acagcatcaa tagatataga attctcatct gactggctt ccatgttgac ttcatctatt	6180
ggatgcaatg cgatagagta gactacatcc atcaacttgt ttgcacaaaa agggcagctg	6240
ggcacatcac tgtcttgc gcttcataat aagatcaagt cattataag cttagacttt	6300
tgtgaaaatt tgaatttccc caactgcttgc tcaaaaatct ctttcttaaa ccaaaacctt	6360
aactttatga gttcttcctt tatgacagat tctctaattgt ctcccttaac cccaacaaag	6420
agggattcat ttaaccttc atcataaccc aaagaattct tttcaagca ttgcatttt	6480
tctaattccca agctctggtt ttttgcgtt gacaaactat ggatcaatcg ctggattct	6540
tgttcttcaa tattaatctc ttgcataaat tttgatttct ttaggatgtc gatcagcaac	6600
caccgaactc tttcaacaac ccaatcagca aggaatctat tgctgttagt agatctgcca	6660
tcaaccacag gaaccaacgt aatccctgcc ctttagtaggt cgacttttag gtttaagagc	6720
tttgacatgt cactcttcca ttttctctca aactcatcag gattgaccct aacaagggtt	6780
tccaatagga tgagtgtttt ccctgtgagt ttgaagccat ccggaatgac ttttggagg	6840
gtgggacata gtatgccata gtcagacagg atcacatcaa caaactctg atctgaattt	6900
atctgacagg cgtgtgcctc acaggactca agctctacta aacttgacag aagtttgaac	6960
ccttccaaca acagagagct ggggtgatgt tgagataaaa agatgtccct ttgttatgct	7020
agctcctgtc tttctggaaa atgcttcata ataaggctt ttatttcatt tactgattcc	7080
tccatgctca agtgccgcct aggatcctcg gtgcg	7115

&lt;210&gt; 20

&lt;211&gt; 3411

5 &lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Secuencia Artificial

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Virus Junín Candid No. 1 Segmento S

10

&lt;400&gt; 20

gcccacccggg gatcctaggc gattttggtt acgctataat tgtaactgtt ttctgtttgg	60
acaacatcaa aaacatccat tgcacaatgg ggcagttcat tagcttcattt caagaaatac	120
caacctttt gcaggaggct ctgaacattt ctcttgcgtt agtcagtctc attgcccattca	180
ttaagggtat agtgaacttg tacaaaatgt gtttattcca attctttgtt ttccctagcgc	240
ttgcaggaag atcctgcaca gaagaagctt tcaaaaatcg actgcacact gagttccaga	300
ctgtgtcctt ctcaatgttgc ggtctttt ccaacaatcc acatgaccta cttttttgtt	360
gtaccttaaa caagagccat cttaacatta aggggggcaaa tgcttcattt cagatcagct	420
ttgatgatat tgcaatgttgc ttgcacagt atgatgttat aataacaat ccagcagata	480
tgagctggtg ttccaaaatgtt gatgtcaaa ttgggttgc tcagtggttc atgaatgctg	540

tgggacatga ttggcatcta gacccaccat ttctgtgtag gaaccgtgca aagacagaag	600
gcttcatctt tcaagtcaac acctccaaga ctgggtgtcaa tggaaattat gctaagaagt	660
ttaagactgg catgcatcat ttatatacgag aatatcctga cccttgcttg aatggcaaac	720
tgtgcttaat gaaggcacaa cctaccagtt gcgcctctcca atgtccactc gaccacgtta	780
acacattaca cttccttaca agaggtaaaa acattcaact tccaaggagg tccttgaaag	840
cattcttctc ctggtctttg acagactcat cccgcaggaa tacccttggaa ggctattgtc	900
tagaagagtg gatgctcgta gcagccaaaa tgaagtgttt tggcaatact gctgttagcaa	960
aatgcaattt gaatcatgac tctgaattct gtgacatgtt gaggctctt gattacaaca	1020
aaaatgctat caaaacccata aatgatgaaa ctaagaaaca agtaaatctg atggggcaga	1080
caatcaatgc cctgatatct gacaatttt tgatgaaaaaaa caaaatttagg gaactgtat	1140
gtgtccctta ctgcaattac acaaaaattttt ggtatgtcaa ccacacactt tcaggacaac	1200
actcattacc aagggtctgg ttaataaaaaa acaacagcta tttgaacatc tctgacttcc	1260
gtaatgactg gatatttagaa agtgacttct taatttctga aatgctaagc aaagagtatt	1320
cggacaggca gggtaaaact cctttgactt tagttgacat ctgtatttgg agcacagttat	1380
tcttcacagc gtcacttttc cttcacttgg tgggtatacc ctcccacaga cacatcagg	1440
gcgaaggcatg ccctttgcca cacaggttga acagcttggg tgggtgcaga tgtggtaagt	1500
accccaatct aaagaaacca acagttggc gttagaggaca ctaagacccctc ctgagggtcc	1560
ccaccagccc gggcactgcc cgggctggtg tggcccccgtt gtccgcggcc tggccgcgg	1620
ctggggaggc actgcttaca gtgcataaggc tgccttcggg aggaacagca agctcgggtgg	1680
taatagaggt gttagttctt ctcatacgag ctcccatct agcactgact gaaacattat	1740
gcagtctagc agagcacagt gtgggtcaact ggaggccaac ttgaaggag tatcctttc	1800
cctctttttc ttattgacaa ccactccatt gtgatatttg cataagtgac catatttctc	1860
ccagacctgt tgatcaaact gcctggcttg ttcatgtgt agcttaacat caaccagttt	1920
aagatctctt cttccatgga ggtcaaacaa ctccctgtat tcatacgatc cttgagtagt	1980
cacaaccatg tctggaggca gcaaggccat cacgttaacta agaactcctg gcattgcatt	2040
ttctatgtcc ttcattaaga tgccgtgaga gtgtctgcta ccattttaa accctttctc	2100
atcatgtggt ttctgtaaagc agtgaatgtt ctgcttacat gcagggttgg ataatgccc	2160
ctcaacaggg tcagtggtgc gtcctcaat gtcgagccaa aggggtttgg tgggtcgag	2220
tttccccact gcctctctga tgacagcttc ttgtatctt gtcaagtttag ccaatctcaa	2280
attctgaccg ttttttccg gctgtctagg accagcaact ggttcccttg tcagatcaat	2340
acttgggttg tcccatgacc tgcctgtat ttgtatctt gaaaccaat aaggccaaacc	2400

ES 2 934 698 T3

atcgcccagaa agacaaaagtt tgtacaaaag gtttcataa ggatttctat tgcctggtt	2460
ctcatcaata aacatgcctt ctcttcgttt aacctgaatg gttgatttttgaagggaaaga	2520
gaagtttct ggggtgactc tgattgttc caacatgtt ccaccatcaa gaatagatgc	2580
tccagccctt actgcagctg aaagactgaa gttgtAACCA gaaatattga tggagcttc	2640
atcttagtc acaatctgaa ggcagtcatg ttccctgagtc agtctgtcaa ggtcacttaa	2700
gtttggatac ttcacagtgt atagaagccc aagtgaggaa aagcttgtatgacactgtt	2760
cattgtctca cctccttgaa cagtcatgca tgcaatttgc aatgcaggaa cagagccaaa	2820
ctgattgtt agcttgaag ggtctttaac atcccatatc ctcaccacac catttcccc	2880
agtcccttgc tttgaaatc ccagtgttct caatatctct gatcttttag caagttgtga	2940
ctgggacaag ttacccatgt aaacccctg agagcctgtc tctgctttc ttatcttg	3000
tttaatttc tcaaggtcag acgccaactc catcagttca tccctccccaa gatctccac	3060
cttggaaaact gtgttcgtt gaacactcct catggacatg agtctgtcaa cctctttatt	3120
caggtccctc aacttggta ggtcttcttc cccctttta gtcttctga gtgcccgtg	3180
cacctgtgcc acttggta agtcgatgct gtcagcaatt agctggcgt cttcaaaac	3240
atctgacttg acagtctgag tgaattggct caaacctctc cttaaggact gagtccatct	3300
aaagcttggaa acctccttgg agtgtgccat gccagaagtt ctggtgattt tgatctagaa	3360
tagagttgtc cagtggaaatgtttagagactatgccttagga tccactgtgc g	3411

<210> 21

<211> 558

5 <212> PRT

### <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Proteína NP de la cepa Clon 13 de LCMV (GenBank No. de Acceso

10 ABC96002.1; GI:86440166)

<400> 21  
Mat. Sam.

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>

<223> Proteína GP de la cepa Clon 13 de LCMV (GenBank No. de  
10 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

5 <210> 23  
<211> 2210  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

ES 2 934 698 T3

<220>

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

5 <400> 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 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 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 Gln Ala Ile Ala Asn	Gly Val Pro Val Ser	Leu Val Asn
1415	1420	1425
Ser Ile Gln Arg 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 Asn Glu Thr	Lys Val Val Arg	Lys Leu Val Arg
1475	1480	1485
Lys 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 Asp Leu Leu Gly	Leu Glu Glu Asp Leu Asn	Gln Leu Ala
1520	1525	1530
Asp Val Asn Trp Leu Asn Leu	Asn Glu Met 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 Glu Asn Leu Tyr Ile Lys	Lys Leu Leu Glu Asp	Leu Thr Thr
1625	1630	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

5 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Proteína Z de la cepa Clon 13 de LCMV (GenBank  
10 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 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

15 <210> 25

<211> 498

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

20 <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

5 <211> 450

# ES 2 934 698 T3

<212> ADN  
<213> Secuencia Artificial

5 <220>  
<223> Antígeno HBe del HBV (GenBank No. de Acceso E15688.1; GI: 5710371)

<400> 26		
atggacattt acacgtataa agaatttgga gctactgtgg agttactctc gttttgcct	60	
tctgacttct ttccctccgt cagagatctc ctagacacccg cctcagctct gtatcgagaa	120	
gccttagagt ctcctgagca ttgctcacct caccatactg cactcaggca agccattctc	180	
tgctgggggg aattgtatgac tctagctacc tgggtgggta ataatttgga agatccagca	240	
tccagggatc tagtagtcaa ttatgttaat actaacatgg gtttaaagat caggcaacta	300	
ttgtggtttc atatatcttg ctttactttt ggaagagaga ctgtacttga atatttggtc	360	
tcttcggag tgtggattcg cactcctcca gcctatagac caccaaatgc ccctatctta	420	
tcaacacttc cgaaaaactac tgttgtttaa	450	

## REIVINDICACIONES

1. Un vector viral de arenavirus infeccioso, en donde un marco de lectura abierto de arenavirus se elimina y se reemplaza por una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en:
- una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína HBc del HBV o un fragmento antigénico de la misma;
  - una secuencia de nucleótidos que codifica una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigénicos de las mismas; y
  - 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.
2. El vector viral de la reivindicación 1, en donde
- 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;
  - 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
  - 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:
- una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína HBc del HBV o un fragmento antigénico de la misma;
  - una secuencia de nucleótidos que codifica una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigénicos de las mismas; y
  - 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.
4. El vector viral de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el arenavirus es:
- virus de la coriomeningitis linfocítica;
  - 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;
  - bisegmentado y deficiente en replicación; o
  - 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 arenavirus se elimina o se inactiva funcionalmente.
6. El vector viral de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde la información genómica que codifica el vector viral de arenavirus 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.
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 arenavirus 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 arenavirus es un 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 y en donde la administración del vector viral de arenavirus 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 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;

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 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).

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

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

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

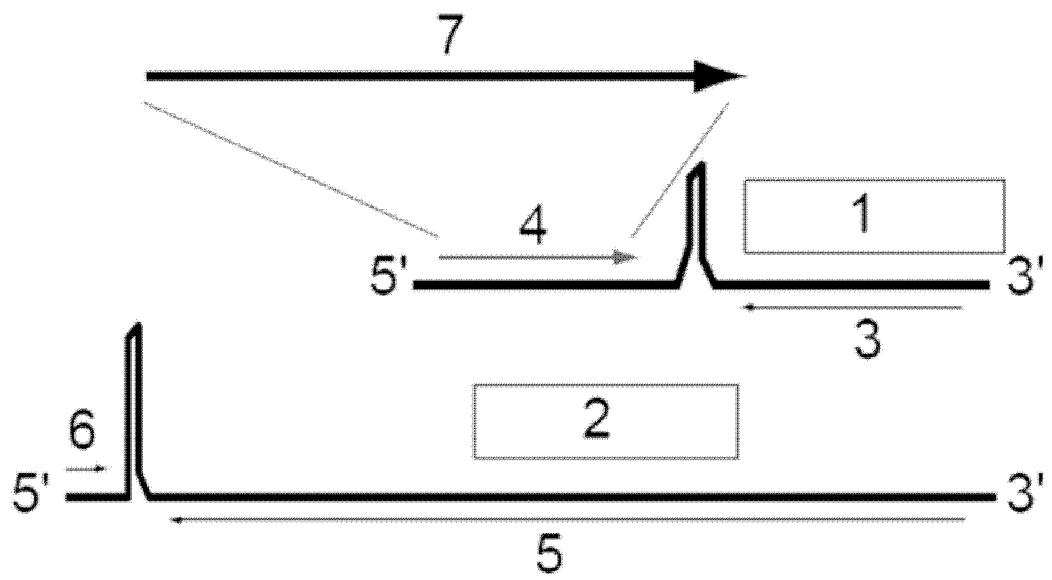
b. mantener la célula huésped bajo condiciones adecuadas para la formación de virus; y

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

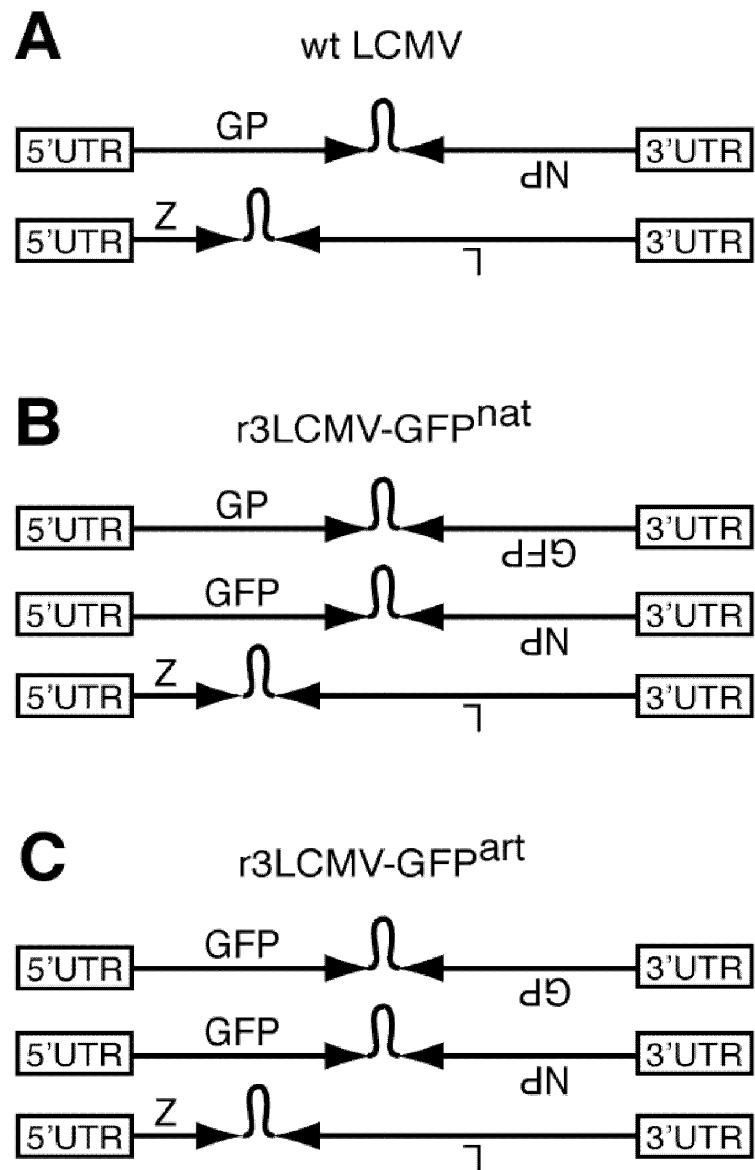
en donde la célula huésped expresa el marco de lectura abierto del segmento genómico que se elimina o inactiva funcionalmente;

50 opcionalmente en donde el método comprende además en la etapa 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.

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:
- una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína HBc del HBV o un fragmento antigénico de la misma;
  - una secuencia de nucleótidos que codifica una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigénicos de las mismas; y
  - una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma;
- 10 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:
- una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína HBc del HBV o un fragmento antigénico de la misma;
  - una secuencia de nucleótidos que codifica una fusión de proteínas HBs y HBc del HBV o fragmentos antigénicos de las mismas; y
  - una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína pre-S2/S del HBV o un fragmento antigénico de la misma;
- 20 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.
- 25 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**

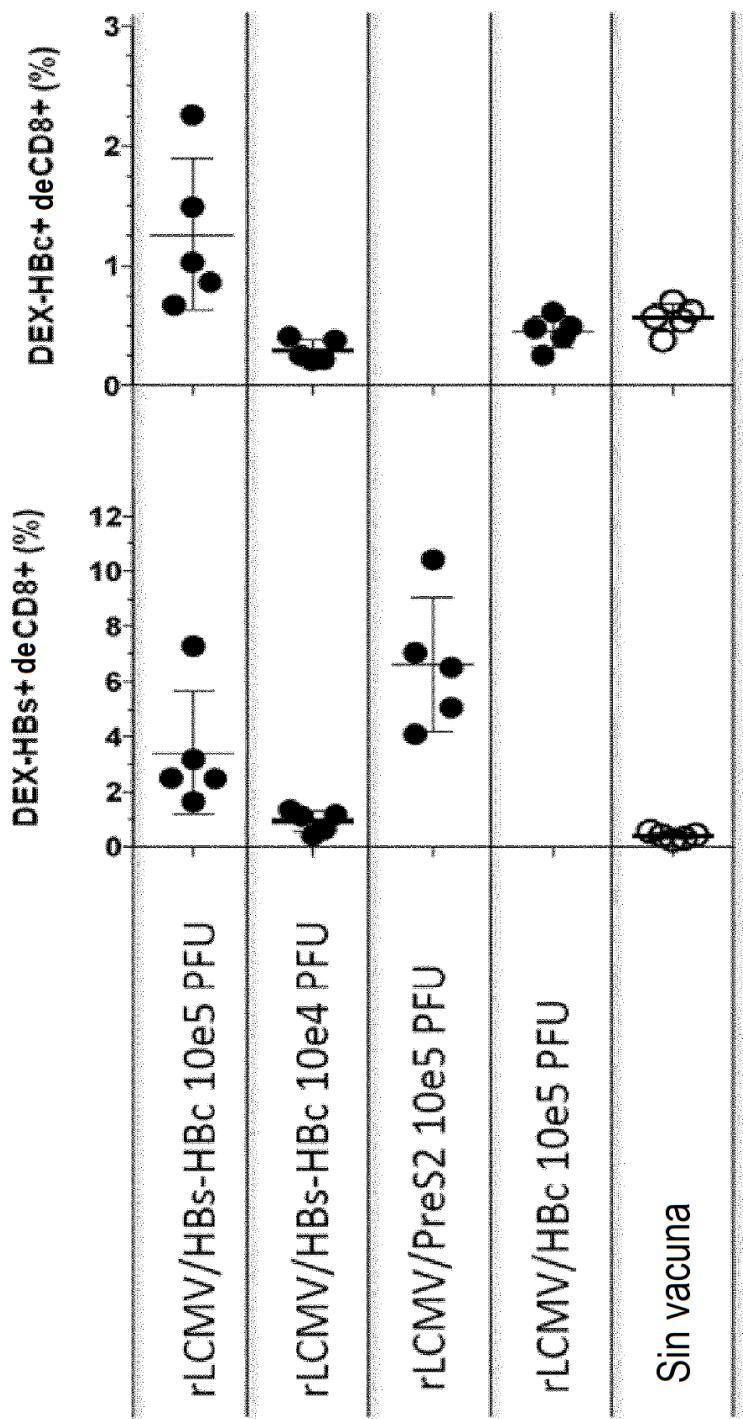


Fig. 3

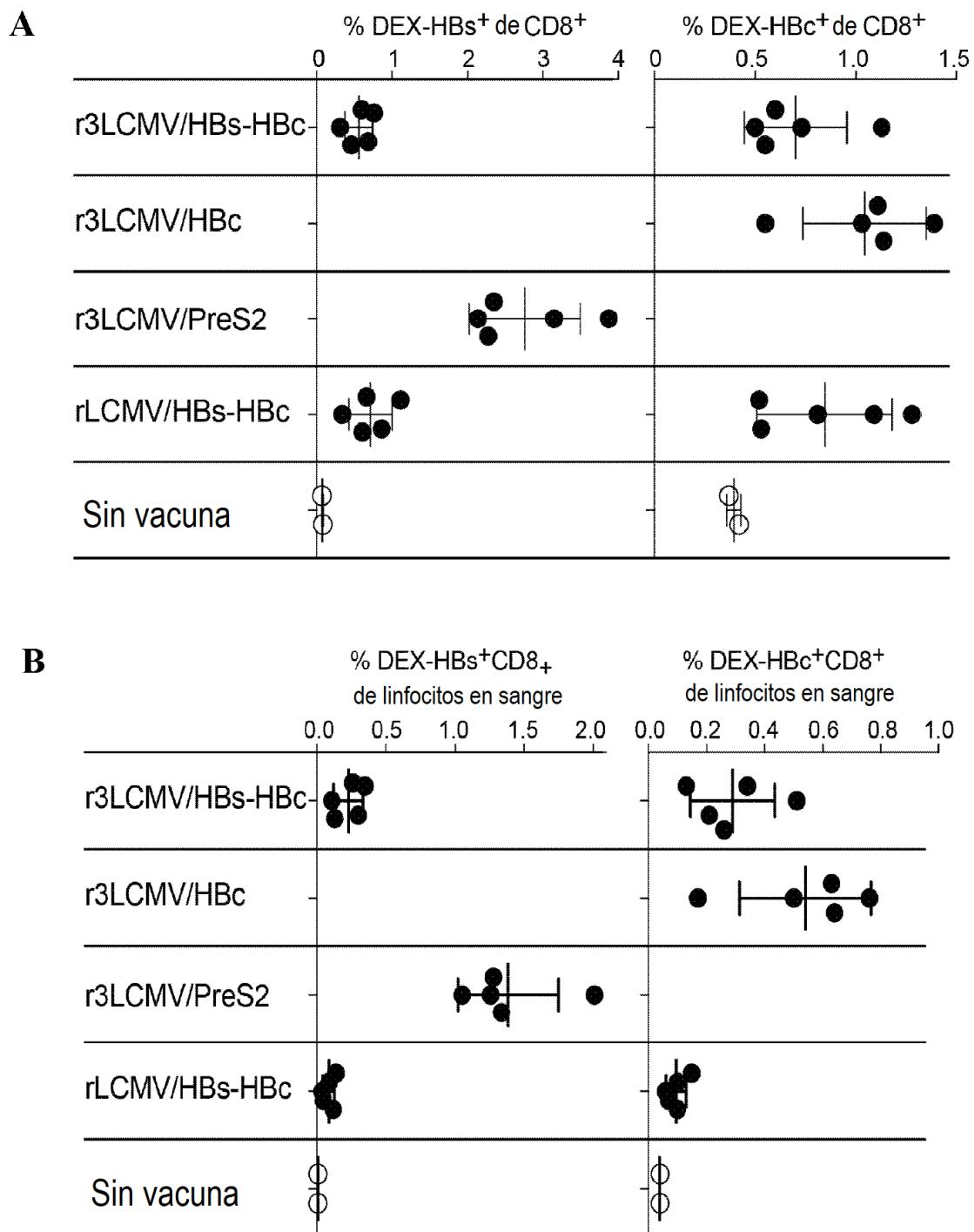


Fig. 4A - 4B