

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 017 684**

51 Int. Cl.:

A61K 39/12 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

A61K 35/76 (2015.01)

A61K 35/768 (2015.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.04.2016** **PCT/EP2016/058347**

87 Fecha y número de publicación internacional: **20.10.2016** **WO16166285**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.04.2016** **E 16717129 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.12.2024** **EP 3283104**

54 Título: **Arenavirus para su aplicación en el tratamiento de un tumor en un ser humano**

30 Prioridad:

17.04.2015 DE 102015207036

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
13.05.2025

73 Titular/es:

ABALOS THERAPEUTICS GMBH (100.00%)
Merowingerplatz 1A
40225 Düsseldorf, DE

72 Inventor/es:

LANG, KARL, SEBASTIAN y
KALKAVAN, HALIME

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 3 017 684 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

Arenavirus para su aplicación en el tratamiento de un tumor en un ser humano

Campo de aplicación y estado de la técnica

La invención se refiere a arenavirus para su aplicación en el tratamiento de tumores que se definen en las reivindicaciones.

Los arenavirus pertenecen a la familia de los virus de ARN polimorfos patógenos para el ser humano. Las enfermedades con estos virus pertenecen a las zoonosis, debido a su reservorio natural en animales, predominantemente roedores. Como zoonosis se designan enfermedades que son transmisibles desde el animal al ser humano y a la inversa desde el ser humano al animal.

Se sabe que al menos ocho arenavirus provocan una enfermedad en el ser humano. Son típicos la meningitis séptica y la fiebre hemorrágica. Virus conocidos que pueden desencadenar una enfermedad en el ser humano son el virus de la coriomeningitis linfocítica (LCMV), el virus guanarito (GTOV), el virus Junín (JUNV), el virus de Lassa (LASV), el virus Lujo (LUJV), el virus Machupo (MACV), el virus Sabiá (SABV), así como el virus Whitewater-Arroyo (WWAV).

Los arenavirus se dividen en general en dos grupos, concretamente en los arenavirus del Viejo Mundo y los arenavirus del Nuevo Mundo. Estos grupos se diferencian geográfica y genéticamente. Los arenavirus del Viejo Mundo, como por ejemplo el virus de la coriomeningitis linfocítica, se encontraron en países del hemisferio oriental, como por ejemplo países europeos, asiáticos y africanos. Por el contrario, los del Nuevo Mundo se encontraron en países del hemisferio occidental, como por ejemplo Argentina, Bolivia, Venezuela, Brasil y los Estados Unidos de América.

El nombre de la familia de virus deriva del latín *arenosus* (arenoso) o *arena* (arena), para describir así la estructura ribosómica arenosa en el interior de los viriones. Los viriones de los arenavirus tienen una forma de redonda a irregular y tienen un diámetro según la especie y la preparación del material de prueba de 50 nm a 300 nm, en la mayoría de los casos de entre 110 nm y 130 nm de alto. En la cubierta vírica se almacenan espículas de glicoproteína claviformes que tienen de 8 nm a 10 nm de largo. Las espículas individuales consisten en un tetrámero de la proteína de la envoltura viral.

Los viriones contienen además dos cápsides que están cerradas en forma de anillo y que presentan simetría helicoidal. La longitud de las cápsides varía entre 450 nm y 1300 nm. Cada una tiene una molécula de ARN (ácido ribonucleico) polimerasa (proteína L) viral almacenada en la misma.

Cada cápside contiene una molécula de un ARN monocatenario con polaridad mixta (es decir, ambisentido, +/-). Las dos moléculas de ARN monocatenario representan en este sentido el genoma viral. Se designan como L (grande) y S (pequeña) y tienen un tamaño aproximado de 7,5 kb (kilobases) o 3,5 kb (kilobases). Aunque las cápsides están cerradas en forma de anillo, las cadenas de ARN son lineales y así no circulares. Una secuencia larga de 19 a 30 bases en el extremo 3' del ARN está presente en ambas cadenas y también se conserva dentro de la familia de virus.

Morfológicamente es muy inusual la presencia de un número variable de ribosomas celulares dentro de los viriones, que confieren a las partículas víricas su aspecto "arenoso". Asimismo, se encuentra en las preparaciones de virus purificadas varios ARN celulares diferentes (incluyendo también ARN ribosómico), así como formas replicativas del ARN viral, como varios ARNm virales (ácidos ribonucleicos mensajeros unidos a los ribosomas) y cadenas complementarias completas del genoma viral. Todos estos ARN no genómicos se encuentran fuera de las cápsides mencionadas anteriormente en cantidades variables.

Es conocido el uso de arenavirus como vectores vacunales. Un ejemplo destacado es el virus vacunal Candid #1 utilizado contra la fiebre hemorrágica argentina. En el presente documento consiste en una variante vacunal del virus Junín.

Por el documento WO 2009/083210 A1 se conoce el uso de partículas de arenavirus (viriones) con defectos de replicación, es decir, modificados por ingeniería genética entre otros para el tratamiento de enfermedades neoplásicas, como por ejemplo melanoma, carcinoma de próstata, carcinoma de mama y carcinoma de pulmón. En la publicación "Development of replication-defective lymphocytic choriomeningitis virus vectors for the induction of potent CD8+ T cell immunity" (Nature Medicine, vol. 16, n.º 3, marzo de 2010, págs. 339-345; doi: 10.1038/nm.2104) se menciona la inmunoterapia antineoplásica como posible campo de aplicación para tales partículas víricas.

Además, por el documento WO 2006/008074 A1 se conoce el uso de células de empaquetamiento que producen viriones retrovirales, pseudotipados con glicoproteína de arenavirus para la terapia génica de tumores sólidos.

Kelly, E. y Russell, S. (2007) Molecular Therapy, vol. 15, n.º 4, 651-659 describen la historia de los virus oncolíticos: desde su origen hasta la ingeniería genética. Molomut, N. y Padnos, M. (1965) Nature, vol. 208, n.º 5014, 948-950

dan a conocer la inhibición de tumores trasplantables y espontáneos en ratones por el virus M-P. Reiserova, L. *et al.* (1999) *Virology*, vol. 257, n.º 1, 73 – 83 dan a conocer la identificación del patógeno MaTu-MX como una nueva cepa del virus de la coriomeningitis linfocítica (LCMV) y evidencia serológica de propagación horizontal del LCMV en la población humana. Koma, T *et al.* (2013) *J. Mol. Biol.*, vol. 425, n.º 24, 4893-4903 describen la respuesta inmunitaria innata a las infecciones por arnavirus, centrándose en los arnavirus hemorrágicos altamente patógenos del Nuevo Mundo. Groseth, A. *et al.* (2011) *PLOS Neglected tropical diseases*, vol. 5, n.º 5, e1137 dan a conocer que la infección con el virus Tacaribe, pero no con el virus Junín, induce la liberación de citocinas de monocitos y macrófagos humanos primarios. Webb, H. E. *et al.* (1975) *Clinical Oncology* 1975, vol. 1, n.º 2, 157 – 169 dan a conocer el tratamiento de 18 casos de enfermedades malignas con un arnavirus. Schadler, Keri L. *et al.* (2014) *Cancer research*, vol. 74, n.º 8, 2171-2181 dan a conocer vigilancia inmunitaria a través de la antiangiogénesis, en particular, la detención del crecimiento tumoral por la trombospodina-1 producida por las células T.

Los métodos descritos en el estado de la técnica para el tratamiento de tumores se basan en el uso de partículas víricas muy complejas de producir mediante ingeniería genética. En los métodos de tratamiento de terapia génica, a menudo tampoco es posible lograr una transducción suficiente y terapéuticamente efectiva del tejido tumoral con viriones producidos mediante ingeniería genética o células de empaquetamiento que producen viriones.

Objetivo y solución

Por tanto, la presente invención se basa en el objetivo de proporcionar, al contrario que en el estado de la técnica, una solución terapéutica más sencilla y, en particular, más eficaz para tumores, en particular, carcinomas y sarcomas.

Este objetivo se alcanza según la invención mediante un arnavirus para su aplicación según la reivindicación independiente 1. Formas de realización preferidas se definen en las reivindicaciones dependientes.

Según un primer aspecto la invención se refiere a un arnavirus para su aplicación en el tratamiento de un tumor, preferiblemente un tumor maligno, es decir, pernicioso en un ser humano, provocando una regresión tumoral, estando el arnavirus libre de ARN exógeno genómico, siendo el arnavirus el virus de la coriomeningitis linfocítica, cepa WE.

El arnavirus se caracteriza por estar libre de ARN exógeno genómico, es decir, no presenta ningún ARN exógeno genómico. Dicho de otro modo, el genoma (genotipo) del arnavirus está libre de ARN exógeno o no presenta preferiblemente ningún ARN exógeno.

A los efectos de la presente invención, se entiende por el término “ARN exógeno genómico” un ARN (ácido ribonucleico) o una secuencia de ARN que no se produce o no está contenido en el genoma de un arnavirus silvestre o en el genoma de un mutante de un arnavirus silvestre (arnavirus mutado), en particular en el genoma de un mutante natural de un arnavirus silvestre (arnavirus naturalmente mutado). Ejemplos para ARN exógeno son moléculas de ARN artificiales o sintéticas, ARN de organismos, así como ARN de otros virus.

A los efectos de la presente invención, se entiende (de acuerdo con el entendimiento del experto en la técnica) por el término “arnavirus silvestre” un arnavirus cuyo genoma aparece en la forma genética normal en la naturaleza.

A los efectos de la presente invención, se entiende (de acuerdo con el entendimiento del experto en la técnica) por el término “mutante de un arnavirus silvestre” o “arnavirus mutado” un arnavirus cuyo genoma presenta un cambio espontáneo, es decir, provocado de manera natural, o inducido por mutágeno, en comparación con el genoma silvestre.

Por consiguiente, a los efectos de la presente invención, se entiende (de acuerdo con el entendimiento del experto en la técnica) por el término “mutante natural de un arnavirus silvestre” o “arnavirus naturalmente mutado” un arnavirus cuyo genoma presenta un cambio espontáneo, es decir, provocado de manera natural, en comparación con el genoma silvestre. Un arnavirus naturalmente mutado puede producirse preferiblemente mediante pases, en particular pases en serie, que se discutirán con más detalle a continuación.

La invención se basa en el hallazgo sorprendente de que los arnavirus sin ARN exógeno genómico son capaces de provocar una regresión tumoral. La regresión tumoral se basa en una activación o estimulación producida por los arnavirus de células inmunitarias innatas y adaptativas. Las células inmunitarias activadas secretan citocinas antitumorales en abundancia como interferón- α e interferón- γ , con lo que se combate o se rechaza el tumor. Otro hallazgo sorprendente es el descubrimiento de que los arnavirus en el caso de una manifestación tumoral provocan una secreción significativamente elevada de citocinas antitumorales. Por consiguiente, los arnavirus sin ARN exógeno genómico sirven para su aplicación en el tratamiento antineoplásico. El solicitante pudo comprobarlo con éxito mediante experimentos con animales. Para este fin se utilizaron, entre otros, ratones en los que es posible el crecimiento de tumores humanos.

El arnavirus está libre de ARN exógeno no genómico. A los efectos de la presente invención, se entiende por el término “ARN exógeno no genómico” un ARN o una secuencia de ARN fuera del genoma del arnavirus, que no se produce o no está contenido en un arnavirus silvestre o un mutante de un arnavirus silvestre (arnavirus mutado),

en particular, un mutante natural de un arnavirus silvestre (arnavirus naturalmente mutado). Dicho de otro modo, el arnavirus presenta en esta forma de realización en conjunto ningún ARN exógeno, es decir, ni ARN exógeno genómico ni ARN exógeno no genómico.

5 A los efectos de la presente invención, se entiende de acuerdo con el entendimiento del experto en la técnica por el término "pase" una introducción múltiple, regular del arnavirus en animales huésped y/o células huésped. A los efectos de la presente invención, se entiende de acuerdo con el entendimiento del experto en la técnica por el término "pase en serie" una introducción múltiple, regular del arnavirus en diferentes animales huésped, preferiblemente del mismo tipo, y/o diferentes células, preferiblemente del mismo tipo. Debido a los múltiples cambios en el entorno (animal huésped y/o célula huésped), el arnavirus está expuesto a una mayor presión de adaptación o presión de mutación, con lo que aumenta la probabilidad de mutaciones en el genoma del arnavirus que sean ventajosas desde el punto de vista de regresión tumoral.

En una forma de realización el tumor se elige del grupo que presenta o consiste en carcinoma, melanoma, blastoma, linfoma y sarcoma.

15 A los efectos de la presente invención, se entiende (de acuerdo con el entendimiento del experto en la técnica) por el término "carcinoma" una neoplasia maligna de origen epitelial.

A los efectos de la presente invención, se entiende (de acuerdo con el entendimiento del experto en la técnica) por el término "sarcoma" una neoplasia maligna de origen mesodérmico.

A los efectos de la presente invención, se entiende (de acuerdo con el entendimiento del experto en la técnica) por el término "melanoma" una neoplasia maligna de origen melanocítico.

20 A los efectos de la presente invención, se entiende (de acuerdo con el entendimiento del experto en la técnica) por el término "linfoma" una neoplasia maligna de origen linfocítico.

A los efectos de la presente invención, se entiende (de acuerdo con el entendimiento del experto en la técnica) por el término "blastoma" una neoplasia maligna de origen embrionario.

25 En una forma de realización preferida el carcinoma se elige del grupo que presenta o consiste en carcinoma de ano, carcinoma bronquial, carcinoma de pulmón, carcinoma de endometrio, carcinoma de la vesícula biliar, carcinoma hepatocelular, carcinoma de testículo, carcinoma colorrectal, carcinoma de laringe, cáncer de esófago, carcinoma de estómago, carcinoma de mama, carcinoma renal, carcinoma de ovario, tumor pancreático, carcinoma de faringe, carcinoma de próstata, carcinoma de tiroides y carcinoma de cuello uterino.

30 En una forma de realización preferida el sarcoma se elige del grupo que presenta o consiste en angiosarcoma, condrosarcoma, sarcoma de Ewing, fibrosarcoma, sarcoma de Kaposi, liposarcoma, liomiosarcoma, fibrohistiocitoma maligno, sarcoma neurógeno, osteosarcoma y rabiomiosarcoma.

El arnavirus consiste en el virus de la coriomeningitis linfocítica (LCMV), cepa WE.

El arnavirus puede estar presente para una administración en forma de viriones, es decir en forma de partículas de arnavirus que se encuentra fuera de una célula.

35 Alternativamente, el arnavirus está previsto, preferiblemente preparado, para una administración local, en particular, intramuscular, intraperitoneal o subcutánea. Dicho de otro modo, el arnavirus se usa para una administración local, en particular, intramuscular, intraperitoneal o subcutánea.

40 Preferiblemente el arnavirus está previsto, preferiblemente preparado, para la administración local en una dosis de desde 1 UFP (unidades formadoras de placas)/kg de peso corporal hasta 10^{12} UFP/kg de peso corporal, en particular, de 10^2 UFP/kg de peso corporal a 10^6 UFP/kg de peso corporal, preferiblemente de 10^3 UFP/kg de peso corporal a 10^5 UFP/kg de peso corporal. Dicho de otro modo, el arnavirus se usa preferiblemente para administración local en una dosis de desde 1 UFP (unidades formadoras de placas)/kg de peso corporal hasta 10^{12} UFP/kg de peso corporal, en particular, de 10^2 UFP/kg de peso corporal a 10^6 UFP/kg de peso corporal, preferiblemente de 10^3 UFP/kg de peso corporal a 10^5 UFP/kg de peso corporal.

45 Alternativamente, el arnavirus está previsto, preferiblemente preparado, para una administración sistémica, en particular intravenosa. Dicho de otro modo, el arnavirus se usa en una forma de realización alternativa para una administración sistémica, en particular, intravenosa.

50 Preferiblemente el arnavirus está previsto, preferiblemente preparado para la administración sistémica en una dosis de desde 1 UFP/kg de peso corporal hasta 10^{12} UFP/kg de peso corporal, en particular de 10^2 UFP/kg de peso corporal a 10^6 UFP/kg de peso corporal, preferiblemente de 10^3 UFP/kg de peso corporal a 10^5 UFP/kg de peso corporal. Dicho de otro modo, el arnavirus se usa preferiblemente para la administración sistémica en una dosis de desde 1 UFP/kg de peso corporal hasta 10^{12} UFP/kg de peso corporal, en particular de 10^2 UFP/kg de peso corporal a 10^6 UFP/kg de peso corporal, preferiblemente de 10^3 UFP/kg de peso corporal a 10^5 UFP/kg de peso corporal.

Según un segundo aspecto la invención se refiere a un medicamento para su aplicación en el tratamiento de un tumor en un ser humano, en particular tumores malignos.

El medicamento se caracteriza porque presenta un arenavirus tal como se describió anteriormente.

5 El medicamento presenta preferiblemente además un portador farmacéuticamente aceptable. En particular, el portador puede elegirse del grupo que presenta o consiste en agua, solución salina, disolución tampón y medio de cultivo celular.

El medicamento presenta además un principio activo. El principio activo puede ser, en particular, un citostático, un anticuerpo y/o una citocina.

10 Con respecto a otras características y ventajas del medicamento, en particular, del arenavirus, así como del tumor, se hace referencia íntegramente a la descripción anterior para evitar repeticiones.

Otras características y ventajas de la invención se obtienen a partir de la siguiente descripción de formas de realización preferidas en forma de ejemplos de realización, las figuras asociadas, así como las reivindicaciones.

Parte de ejemplos

1. Métodos y materiales

15 1.1 Ratones

A menos que se indique lo contrario, los ratones usados eran de un trasfondo genético de C57BL/6. Los ratones *Map3k14^{aly/aly}* carecen de señales de NF-κB y, por consiguiente, están fuertemente inmunodeprimidos. Los ratones *Irf3 × Irf7^{-/-}* no pueden producir interferón. Los ratones NOD.SCID no tienen sistema inmunitario adaptativo. Por consiguiente, es posible un crecimiento de tumores humanos en estos ratones. Los ratones LoxP-Tag desarrollan de manera espontánea tumores hepáticos.

1.2 Líneas celulares y reactivos

25 Las células MOPC son células de carcinoma bucofaríngeo murino. Mc38 son células de carcinoma de colon murino. Las células Raw son macrófagos inmortalizados. A431 son células de carcinoma de pulmón humano; Sw40 son células de carcinoma de colon humano, Hela son células de carcinoma de cuello uterino humano. Se cultivaron macrófagos primarios por medio de M-CSF a partir de células precursoras de médula ósea. Se mantuvieron las células en medio de Eagle modificado con Dulbecco con suero bovino fetal al 10 % (Sigma-Aldrich), L-glutamina 2 mmol/l y penicilina 100 U/ml. Todas las células se cultivaron en el 5 % de CO₂.

1.3 Virus

30 La cepa WE de LCMV se obtuvo del laboratorio del Prof. Zinkernagel (Inmunología Experimental, Zúrich, Suiza) y se reprodujo en células L929. Candid#1 se obtuvo de la Profesora Paula Cannon (Universidad del Sur de California).

1.4 Crecimiento tumoral y tratamientos

Se inyectaron por vía subcutánea aproximadamente 5×10^5 células tumorales (en 100 microlitros) en el costado derecho en ratones de 6 a 12 semanas. El diámetro del tumor más largo se midió mediante. Se trató a los ratones con inyecciones peritumorales de 2×10^4 UFP de LCMV-WE o Candid#1 (en 100-200 microlitros).

35 1.5 Análisis morfométrico de vasos tumorales

Se realizaron análisis morfométricos con sucesivas etapas de congelación, en las que se tiñeron marcadores celulares endoteliales CD31. La cuantificación de la densidad de vasos (MVD) se calculó usando el promedio de tres cortes tumorales. Se calculó MVD como el número de vasos por área tumoral.

1.6 Detección de hipoxia

40 Las zonas tumorales hipóxicas se detectaron mediante la formación de aductos de pimonidazol después de la inyección de pimonidazol en animales trasplantados con tumores durante 30 min. Se tiñeron los cortes tumorales usando el kit Hypoxyprobe-1 Plus según las instrucciones del fabricante (Pharmacia Natur International, Inc.).

1.7 ELISA de IFN-α

45 Se determinó el nivel de IFN-α en suero mediante ELISA según las instrucciones del fabricante (Research Diagnostics RDI, Flandes, NJ).

1.8 Análisis estadístico

Se compararon las medias usando una prueba de la t de Student bilateral para datos independientes. Los datos se

representan como media $\pm$ EEM. El nivel de la significación estadística se estableció en $p < 0,05$.

2. Estudios

2.1 Los macrófagos inmortalizados (células tumorales) y los macrófagos (primarios) generados a partir de médula ósea primaria se infectaron con LCMV (cepa WE). La replicación se midió después de 24 horas ($n = 3$).

- 5 A este respecto, pudo demostrarse que LCMV (cepa WE) se replicó tanto en células inmortalizadas como también en células sanas. Los resultados obtenidos se representan gráficamente en la figura 1.

La figura 1 tiene las siguientes leyendas:

Ordenada: LCMV ($\log_{10}$ UFP/ml)

Abscisa: Células tumorales/macrófagos sanos (primarios)

- 10 2.2 Se trató a ratones WT C57BL/6 con 5×10^5 células MOPC (día 3). Se trató adicionalmente por vía peritumoral a un grupo de ratones con 2×10^4 UFP de LCMV (cepa WE) (día 0). Se observó el crecimiento tumoral.

A este respecto, pudo demostrarse que el tratamiento con LCMV provocó una regresión tumoral casi completa. Los resultados obtenidos se representan gráficamente en la figura 2.

La figura 2 tiene las siguientes leyendas:

- 15 Ordenada: Diámetro del tumor (cm)

Abscisa: Tiempo (días)

2.3 Se trató a ratones WT C57BL/6 con 5×10^5 células MC38 (día 3). Se trató adicionalmente por vía peritumoral a un grupo de ratones con 2×10^4 UFP de LCMV (cepa WE) (día 0). Se observó el crecimiento tumoral.

- 20 A este respecto, pudo demostrarse que el tratamiento con LCMV provocó una regresión tumoral significativa. Los resultados obtenidos se representan gráficamente en la figura 3.

La figura 3 tiene las siguientes leyendas:

Ordenada: Diámetro del tumor (cm)

Abscisa: Tiempo (días)

- 25 2.4 Se infectaron por vía intravenosa ratones LoxP-Tag de aproximadamente nueve meses con carcinoma hepático desarrollado de manera espontánea con 2×10^6 UFP de LCMV o se dejaron sin tratar. Los nódulos tumorales (diámetro ≥ 3 mm) se cuantificaron de manera microscópica en el día 6 ($n = 3$) y el día 20 ($n = 4-5$).

A este respecto, pudo demostrarse que el tratamiento con LCMV redujo significativamente el número de nódulos hepáticos carcinomatosos. Los resultados obtenidos se representan gráficamente en la figura 4.

La figura 4 tiene las siguientes leyendas:

- 30 Ordenada: Nódulos hepáticos (número)

Abscisa: Tiempo

2.5 Se inyectó a ratones WT C57BL/6 ($n = 4$ /grupo) por vía subcutánea con 5×10^5 células MOPC (día -3) o 2×10^4 UFP de LCMV (cepa WE) (día 0) o tanto 5×10^5 células MOPC (día -3) como 2×10^4 UFP de LCMV (día 0). Se recogieron las muestras de suero en el día 3, y se llevó a cabo un ELISA de IFN- α .

- 35 A este respecto, pudo demostrarse que el LCMV en animales de experimentación a los que se les administró al mismo tiempo células de carcinoma, provocó un aumento drástico de la secreción del interferón- γ . Los resultados obtenidos se representan gráficamente en la figura 5.

La figura 5 tiene las siguientes leyendas:

Ordenada: IFN- α (pg/ml)

- 40 2.6 Se trató a ratones *Map3k14^{aly/aly}* y ratones WT con 5×10^5 células MOPC (día 3). Se trató adicionalmente por vía peritumoral a un grupo de ratones con 2×10^4 UFP de LCMV (cepa WE) (día 0). Se observó el crecimiento tumoral.

A este respecto, pudo demostrarse que el tratamiento con LCMV provocó una regresión tumoral. Los resultados obtenidos se representan gráficamente en la figura 6.

La figura 6 tiene las siguientes leyendas:

Ordenada: Diámetro del tumor (cm)

Abscisa: Tiempo (días)

- 5 2.7 Se trató a ratones *lrf3* × *lr7^{-/-}* y ratones WT con 5×10^5 células MOPC (día 3). Se trató adicionalmente por vía peritumoral a un grupo de ratones con 2×10^4 UFP de LCMV (cepa WE) (día 0). Se observó el crecimiento tumoral.

A este respecto, pudo demostrarse que el tratamiento con LCMV provocó una regresión tumoral. Los resultados obtenidos se representan gráficamente en la figura 7.

La figura 7 tiene las siguientes leyendas:

Ordenada: Diámetro del tumor (cm)

- 10 Abscisa: Tiempo (días)

2.8 Se trató a ratones WT con 5×10^5 células MOPC (día 3). Se trató adicionalmente por vía peritumoral a un grupo de ratones con 2×10^4 UFP de LCMV (cepa WE) (día 0). En el día 9 después de la administración de tumores se analizaron histológicamente los tumores con tinciones de CD31. Se cuantificó la densidad de vasos (MVD) y la distancia vaso-vaso.

- 15 A este respecto, pudo demostrarse que el tratamiento con LCMV provocó una disminución de la densidad de vasos tumorales. Los resultados obtenidos se representan gráficamente en la figura 8A.

La figura 8A tiene las siguientes leyendas:

Lado izquierdo:

Lado derecho:

Ordenada: MVD [mm^3]

Ordenada: Distancia vaso-vaso (μm)

Abscisa: tumor/tumor LCMV Abscisa: tumor/tumor LCMV

- 20 2.9 Se trató a ratones WT con 5×10^5 células MOPC (día 3). Se trató adicionalmente por vía peritumoral a un grupo de ratones con 2×10^4 UFP de LCMV (cepa WE) (día 0). En el día 9 se les inyectó a los animales pimonidazol, y posteriormente se analizaron histológicamente los tumores para detectar áreas hipóxicas.

A este respecto, pudo demostrarse que el tratamiento con LCMV provocó una falta de oxígeno en el tejido de carcinoma. Los resultados obtenidos se representan gráficamente en la figura 8B.

La figura 8B tiene las siguientes leyendas:

Ordenada: Áreas hipóxicas/tumor (%)

- 25 Abscisa: tumor/tumor LCMV

2.10 Se inyectó por vía subcutánea a ratones WT C57BL/6 con 5×10^5 células MOPC en el costado derecho (día 3). En el día 0 se trató a un grupo de animales con 2×10^4 UFP de LCMV (cepa WE) en el costado derecho (ipsilateral), el costado izquierdo (contralateral) o por vía intravenosa. Se observó el crecimiento tumoral.

- 30 A este respecto, pudo demostrarse que el tratamiento con LCMV provocó una regresión tumoral también en la administración sistémica. Los resultados obtenidos se representan gráficamente en la figura 9.

La figura 9 tiene las siguientes leyendas:

Ordenada: Diámetro del tumor (cm)

Abscisa: Tiempo (días)

- 35 2.11 Se inyectó por vía subcutánea a ratones NOD.SCID con 5×10^5 células A431 (día -3) y luego o bien se dejaron sin tratar o bien se trataron con 2×10^4 UFP de LCMV (cepa WE). Se midió el tamaño del tumor (diámetro más largo) en el día indicado. Se sacrificó a los ratones cuando el tamaño del tumor alcanzó 12 mm.

A este respecto, pudo demostrarse que el tratamiento con LCMV aumento la tasa de supervivencia en los animales de experimentación. Los resultados obtenidos se representan gráficamente en la figura 10.

La figura 10 tiene las siguientes leyendas:

- 40 Ordenada: Supervivencia (%)

Abscisa: Tiempo (días)

2.12 Se trató a ratones NOD.SCID con 5×10^5 células Sw40 (día 0). Se trató adicionalmente por vía peritumoral a un grupo de ratones con 2×10^4 UFP de LCMV (cepa WE) o 2×10^4 UFP de Candid#1 (día 0). Se observó el crecimiento tumoral.

- 5 A este respecto, pudo demostrarse que el tratamiento con LCMV y Candid#1 provocó una regresión tumoral. Los resultados obtenidos se representan gráficamente en la figura 11.

La figura 11 tiene las siguientes leyendas:

Ordenada: Diámetro del tumor (cm)

Abscisa: Tiempo (días)

- 10 2.13 Se trató a ratones NOD.SCID con 5×10^5 células Hela (día 0). Se trató adicionalmente por vía peritumoral a un grupo de ratones con 2×10^4 UFP de LCMV (cepa WE) (día 3). Se observó el crecimiento tumoral.

A este respecto, pudo demostrarse que el tratamiento con LCMV provocó una regresión tumoral. Los resultados obtenidos se representan gráficamente en la figura 12.

La figura 12 tiene las siguientes leyendas:

- 15 Ordenada: Diámetro del tumor (cm)

Abscisa: Tiempo (días)

2.14 Se trató a ratones NOD.SCID con 5×10^5 células HepG2 (día -10) y luego se trató adicionalmente por vía peritumoral con o sin 2×10^4 UFP de Candid #1 (día 0). Se observó el crecimiento tumoral.

- 20 A este respecto, pudo demostrarse que el tratamiento con Candid#1 en este tipo de tumor provocó una regresión tumoral. Los resultados obtenidos se representan gráficamente en la figura 13.

La figura 13 tiene las siguientes leyendas:

Ordenada: Diámetro del tumor (cm)

Abscisa: Tiempo (días)

- 25 2.15 Se infectaron células humanas primarias (hepatocitos, células epiteliales de colon, melanocitos) y células tumorales del mismo tejido de origen con LCMV (MOI 1). Se midió la cantidad de virus en el sobrenadante después de 1, 2 y 3 días.

En este experimento pudo demostrarse que los arenavirus se replican más en las células tumorales en comparación con el tejido sano

La figura 14 tiene las siguientes leyendas:

- 30 Ordenada: Virus infeccioso en el sobrenadante del cultivo celular (logaritmo de las unidades formadoras de placas)

Abscisa: Tiempo (días)

2.16 Diámetro del tumor (A) y supervivencia (B) de ratones C57BL/6 que portaban una metástasis en el hombro y una metástasis en el costado (células MOPC), que se dejaron sin tratar o se trataron por vía intravenosa con 2×10^6 UFP de LCMV.

- 35 En este experimento pudo demostrarse que una terapia intravenosa de LCMV actúa de manera muy eficaz sobre dos metástasis locales y, por consiguiente, se prolonga la supervivencia.

La figura 15 A tiene las siguientes leyendas:

Ordenada: Diámetro del tumor de ambas metástasis (cm)

Abscisa: Tiempo (días)

- 40 La figura 15 B tiene las siguientes leyendas:

Ordenada: Supervivencia en porcentaje

Abscisa: Tiempo (días)

2.17 Diámetro del tumor de ratones C57BL/6 que portaban un melanoma (células B16F10) que se dejaron sin tratar o se trataron por vía intratumoral con 2×10^4 UFP de LCMV.

En este experimento pudo demostrarse que una terapia local con LCMV actúa de manera muy eficaz en el melanoma.

5 La figura 16 tiene las siguientes leyendas:

Ordenada: Diámetro del tumor del melanoma (cm)

Abscisa: Tiempo (días)

2.18 Número de melanomas de ratones MT/*ret* (que desarrollan melanomas endógenos) que se dejaron sin tratar o se trataron por vía intravenosa con 2×10^6 UFP de LCMV.

10 En este experimento pudo demostrarse que una terapia sistémica con LCMV actúa de manera muy eficaz en el melanoma.

La figura 17 tiene las siguientes leyendas:

Ordenada: Número de melanomas

15 2.19 Diámetro del tumor (A) y supervivencia (B) de ratones NOD.SCID que portaban un fibrosarcoma humano (células Sw872), que se dejaron sin tratar o se trataron por vía intratumoral con 2×10^6 UFP de Candid#1.

En este experimento pudo demostrarse que el Candid#1 también actúa de manera muy eficaz en el fibrosarcoma y, por consiguiente, se alarga la supervivencia.

La figura 18 A tiene las siguientes leyendas:

Ordenada: Diámetro del tumor (cm)

20 Abscisa: Tiempo (días)

La figura 18 B tiene las siguientes leyendas:

Ordenada: Supervivencia en porcentaje

Abscisa: Tiempo (días)

25 2.20 Diámetro del tumor (A) y supervivencia (B) de ratones NOD.SCID, que portaban un carcinoma de faringe humano (células FaDu) y se dejaron sin tratar o se trataron por vía intratumoral con 2×10^6 UFP de LCMV.

En este experimento pudo demostrarse que el LCMV también actúa de manera muy eficaz en el carcinoma de faringe humano y, por consiguiente, se alarga la supervivencia.

La figura 19 A tiene las siguientes leyendas:

Ordenada: Diámetro del tumor (cm)

30 Abscisa: Tiempo (días)

La figura 19 B tiene las siguientes leyendas:

Ordenada: Supervivencia en porcentaje

Abscisa: Tiempo (días)

35 2.21 Expresión de receptores de células T específicas de tumor (PD-1, receptor de IL2, receptor de IL7), que influyen en la función de las células T. Las células T específicas de tumor proceden de la sangre de ratones con tumores B16F10, que se trataron adicionalmente por vía intratumoral con o sin LCMV.

En este experimento pudo demostrarse que el LCMV influye positivamente en las células T específicas de tumor.

La figura 20 tiene las siguientes leyendas:

Ordenada: Magnitud de la expresión de los diferentes receptores (intensidad media de fluorescencia)

40 2.22 Diámetro del tumor (A) y supervivencia (B) de ratones C57BL/6, que portaban un linfoma subcutáneo murino (células EL4) que se trataron con o sin células T específicas de tumor (células OT1) y se trataron adicionalmente por vía intratumoral con o sin LCMV (2×10^6 UFP).

En este experimento pudo demostrarse que el LCMV actúa de manera sinérgica con una terapia con células T.

La figura 21 A tiene las siguientes leyendas:

Ordenada: Diámetro del tumor (cm)

Abscisa: Tiempo (días)

5 La figura 21 B tiene las siguientes leyendas:

Ordenada: Supervivencia en porcentaje

Abscisa: Tiempo (días)

2.23 Supervivencia de ratones C57BU6 y ratones deficientes en PD-1 (ratones *Pdcd1*^{-/-}), que portaban carcinoma de faringe murino (células MOPC) y se trataron por vía intratumoral con LCMV (2×10^4 UFP).

10 En este experimento pudo demostrarse que el LCMV actúa de manera sinérgica con un bloqueo de PD-1.

La figura 22 tiene las siguientes leyendas:

Ordenada: Supervivencia en porcentaje

Abscisa: Tiempo (días)

15 Las secuencias de ácidos nucleicos SEQ ID NO. 1 a SEQ ID NO. 6 mencionadas en la descripción general corresponden a las secuencias de ácidos nucleicos dadas a conocer en el siguiente protocolo de secuencias.

Protocolo de secuencias

(LISTA DE SECUENCIAS)

<110> Lang Karl Sebastian

20 <120> Arenavirus para su aplicación en la terapia de carcinomas o sarcomas, así como procedimiento para la producción de arenavirus con una acción inmunoterapéutica mejorada frente a carcinomas o sarcomas

<130> Documento P54975WO

<160> 6

25 <170> BiSSAP 1.3

<210> 1

<211> 3413

<212> ARN

30 <213> Virus Junín

<220>

<223> Virus Junín, cepa Candid-1, segmento S - AY746353 - virus; virus de cadena negativa de ARNss; *Arenaviridae*; arenavirus; arenavirus del Nuevo Mundo

35

<400> 1

ES 3 017 684 T3

gtgcagtaag gggatcctag gcgatttgg ttacgctata attgtaactg tttctgttt 60

ggacaacatc aaaaacatcc attgcacaat ggggcagttc attagcttca tgcaagaaat 120

accaaccttt ttgcaggagg ctctgaacat tgctctgtt gcagtcagtc tcattgccat 180

cattaagggt atagtgaact tglacaaaag tggttattc caattcttg tattcctagc 240

gcttcagga agatcctgca cagaagaagc ttcaaaatc ggactgcaca ctgagttcca 300

gactgtgtcc ttctcaatgg tgggtctctt ttcaacaat ccacatgacc taccttgtt 360

gtgtacctta aacaagagcc atctttacat taaggggggc aatgcttcat ttcatcag 420

cttgatgat attgcagtat tgttgccaca gtatgatgtt ataataaac atccagcaga 480

tatgagctgg tgtccaaaa gtgatgatca aatttggtg tctcagtggt tcatgaatgc 540

tgtggggcat gattggcatc tagaccacc atttctgtt aggaaccgtg caaagacaga 600

aggcttcac ttcaagtca acacctcaa gactggtgtc aatggaaat atgctaagaa 660

gtttaagact ggcacatc atttatatag agaatactt gacccttgct tgaatggcaa 720

ES 3 017 684 T3

actgtgctta atgaaggcac aacctaccag ttggcctctc caatgtccac tcgaccacgt 780

taacacatta cacttcctta caagaggtaa aaacattcaa ctccaagga ggtccttgaa 840

agcattcttc tctgtgtctt tgacagactc atccggcaag gatacccctg gaggctattg 900

tctagaagag tggatgctcg tagcagccaa aatgaagtgt ttggcaata ctgctgtagc 960

aaaatgcaat tgaatcatg actctgaatt ctgtgacatg ttgaggctct ttgattacaa 1020

caaaaatgct atcaaaaccc taaatgatga aactaagaaa caagtaaact tgatggggca 1080

gacaatcaat gccctgatat ctgacaattt attgatgaaa aacaaaatta gggaactgat 1140

gagtgtcctt tactgcaatt acacaaaatt ttggtatgtc aaccacacac tticaggaca 1200

acactcatta ccaagggtgt ggtaataaaa aaacaacagc tatttgaaca tctctgactt 1260

ccgtaatgac tggatattag aaagtgactt ctaatttcti gaaatgctaa gcaaagagta 1320

ttcggacagg cagggtaaaa ctctttgac tttagttgac atctgtattt ggagcacagt 1380

attcttcaca gcgtcactct tccttcactt ggtgggtata cctctccaca gacacatcag 1440

gggcgaagca tgccctttgc cacacagggt gaacagcttg ggtggttgca gatgtggtaa 1500

gtaccccaat ctaaagaaac caacagtttg gcgtagagga cactaagacc tctgagggt 1560

ccccaccagc ccgggcactg cccgggctgg tgtggcccc cagtccgcgg cctggccgcg 1620

gactggggag gcaactgctta cagtgcatag gctgccttcg ggaggaacag caagctcggt 1680

ggtaatagag gtgtagggtc ctctcatag agcttccat ctagcactga ctgaaacatt 1740

atgcagtcta gcagagcaca gtgtggttca ctggaggcca actgaaggg agtatccttt 1800

tcctctttt tctattgac aaccactcca ttgtgatatt tgcataagt accatatttc 1860

ES 3 017 684 T3

tcccagacct gttgatcaaa ctgcctggct tgttcagatg tgagcttaac atcaaccagt 1920

ttaagaatctc ttctccatg gaggtcaaac aacttcctga tgtcatcgga tccttgagta 1980

gtcacaacca tgtctggagg cagcaagccg atcacgtaac taagaactcc tggcattgca 2040

tcttctatgt ccttcattaa gatgccgtga gagtgtctgc taccatttt aaacccttc 2100

tcacatgtg gtttctgaa gcagtgaatg tactgcttac ctgcagggtg gaataatgcc 2160

atctcaacag ggtcagtggc tggctctca atgtcgagcc aaaggggtgt ggtggggctg 2220

agtttccca ctgcctctct gatgacagct tctgtatct ctgtcaagtt agccaatctc 2280

aaattctgac cgttttttc cggtgtcta ggaccagcaa ctggtttct tgcagatca 2340

atacttgtgt tgtccatga cctgcctgtg attgtgatc tagaaccaat ataaggccaa 2400

ccatgccag aaagacaaag ttgtacaaa aggtttcat aaggatttct attgcctggt 2460

ttctcatcaa taaacatgcc ttctcttctg ttaacctgaa tggttgatt tatgaggaa 2520

gagaagttt ctggggtgac tctgattgt tccaacatgt ttccaccatc aagaatagat 2580

gtccagcct ttactgcagc tgaagactg aagttgtaac cagaaatatt gatggagctt 2640

tcacttttag tcacaatctg aaggcagtc tgttctgag tcagtctgtc aaggtcactt 2700

aagtttgat acttcacagt gtatagaagc ccaagtgagg ttaaagcttg tatgacactg 2760

ttcattgtct cacctccttg aacagtcatg catgcaattg tcaatgcagg aacagagcca 2820

aactgattgt tttagcttga aggtcttta acatccata tcctcaccac accatttccc 2880

ccagtccctt gctgttgaaa tccagtggt ctcaatatct ctgatcttt agcaagttgt 2940

gactgggaca agttacccat gtaaaccccc tgagagcctg tctctgctct tcttatcttg 3000

ES 3 017 684 T3

tttttaatt tctcaaggtc agacgccaac tccatcagtt catccctccc cagatctccc 3060

accttgaaaa ctgtgtttcg ttgaacactc ctcattggaca tgagtctgtc aacctcttta 3120

ttcagggtccc tcaacttgtt gaggtcttct tccccctttt tagtcttct gagtgccgc 3180

tgcacctgtg ccacttggtt gaagtcgatg ctgtcagcaa ttagcttggc gtcctcaaa 3240

acatctgact tgacagtctg agtgaattgg ctcaaaccctc tccctaagga ctgagtcctat 3300

ctaaagcttg gaacctcctt ggagtggtcc atgccagaag ttctggtgat ttgatctag 3360

aatagagttg ctcagtgaaa gtgtagaca ctatgcctag gatccactgt gcg 3413

<210> 2

<211> 7114

5 <212> ARN

<213> Virus Junín

<220>

10 <223> Virus Junín, cepa Candid #1, segmento L - AY819707 - virus; virus de cadena negativa de ARNss; *Arenaviridae*; arenavirus; arenavirus del Nuevo Mundo

<400> 2

ES 3 017 684 T3

cgcacagtgg atcctaggcg taacttcac attaaaaatc cagattctgc tctgagtgtg 60
 acttactgcg aagaggcaga caaatgggca actgcaacgg ggcaccaag tctaaccagc 120
 cagactcctc aagagccaca cagccagccg cagaatttag gagggtagct cacagcagtc 180
 tatatggtag atataactgt aagtgtgct ggtttgctga taccaattg ataacctgta 240
 atgatcacta cctttgtta aggtgccatc agggatgtt aaggaattca gatctctgca 300
 atatctgctg gaagcccctg cccaccacaa tcacagtacc ggtggagcca acagcaccac 360
 caccataggg agactgcaca ggtcagacc cgacccccg gggggcccc atggggaccc 420
 cccgtggggg aacccggggg gtgatgcgc attagtcaat gctttgatc tcgactttgt 480
 gcttcagtgg cctgcatgtc accccttca atctgaactg ccctgggga tctgatatca 540
 gcaggtcatt taaagatctg ctgaatgcca ccttgaaatt tgagaattcc aaccagtcac 600
 caaattatc aagtgaacgg atcaactgct cttgtgtag atcataaacg aggacaaagt 660
 cctctgctg aaataatatt gttgtgatg ttgttttag ataaggccat agttggctta 720
 ataaggttc cacactatca atgtcctcta gtgtccaat tgccttgact atgacatccc 780
 cagacaactc aactctatat gttgacaacc ttcatcacc tctgtaaaag ataccctctt 840
 tcaagacaag aggttctcct ggttatctg gcccaatgag gtcatatgca tacttgttac 900
 ttgttcaga ataaaagtca ccaaagtga acttaacatg gctcagaata ttgtcatcat 960
 ttgtcgcagc gtagcctgca tcaataaaca agccagctag gtcaaagctc tcatggcctg 1020
 tgaacaatgg taggctagcg ataaccagt caccatcaa caatgagtgg cttccctcag 1080
 acccagaaac acattgactc attgcatcca cattcagctc taattcaggg gtaccgacat 1140

ES 3 017 684 T3

catccactcc tagtgaactg acaatgggtg aactgtacac catctttctt ctaagtttaa 1200

attttgtcga aactcgtgtg tgttctactt gaatgatcaa ttttagtttc acagcttctt 1260

ggcaagcaac attgcgcaac acagtgtgca ggtccatcat gtcttctga ggcaacaagg 1320

agatgtgtc aacagagaca cctcaagga aaaccttgat attatcaaag ctagaacta 1380

cataacccat tgcaatgtct tcaacaaaca ttgctctga tactttatta ttctaactg 1440

acaaggtaaa atctgtgagt tcagctagat ctacttgact gtcacttct agatctagaa 1500

cttcattgaa ccaaaagaag gatttgagac acgatgtga catgactagt gggttatca 1560

tcgaagataa gacaactgc accatgaagt tctgcaaac ttgctgtggg ctgatgcaa 1620

cttccaatt tglactct gactgtctaa catgggctga agcgcaatca ctctgttca 1680

caatataaac attattatct ctactttca ataagtact tataatccct aagtttcat 1740

tcacatgtc tagagccaca cagacatcta gaaacttgag tctccacta tccaaagatc 1800

tggtcactg aagatcattc ataaagggg ccaaattgtc ttcaaatagt ttggggtaat 1860

ttctcgtat agaatgcaat acatgggtca tgctaattg gtctctatc tgcgtactg 1920

cttggggtt aacagcccag aagaaattct tattacataa gaccagaggg gcctgtggac 1980

tctaatagc aaaaaacacc cactccccta actcacaggc attgtcagc accaaagaga 2040

agtaatcca caaaattggt ttgaaaaatt ggtaacttc tttaagtgt tttgacagt 2100

aaataacttt aggccttctc tcacaaattc cacaagaca tggcattatt cgagtaaata 2160

tgtccttat atacagaaat ccgcctttac catccctaac acacttact cccatactct 2220

tacaaaaccc aatgaagcct gaggcaacag aagactgaaa tgcagatttg tgattgact 2280

ES 3 017 684 T3

ctgccaagat cttcttcacg cctttgtga aatttctga cagcctggac tgtattgtcc 2340

ttatcaatgt tggcatctct tcttctcta acactctcg actgtcatg agtttggtcc 2400

tcaagaccaa cctcaagtc ccaaagctcg ctaaattgac ccatctgtag tctagagttt 2460

gtctgattc atcttacta caccggcat attgcaggaa tccggataaa gcctcatccc 2520

ctcccctgct tatcaagttg ataaggttt cctcaaagat ttgcctctc ttaatgtcat 2580

tgaacacttt cctcgcgag ttcttataa acattgtctc ctatcatca gaaaaaatag 2640

cttcaattt cctctgtaga cggtagctc tagaccatc aaccagttt ttgacattt 2700

gttctcaat agtccaaac ggagtctctc tgatccaga gtatctaac aattgggtga 2760

ctctaagga aatcttgac actatagag tgctaacccc attagcaata cattgatcac 2820

aaattgttc talggtctct gacagtgtg ttggagttt acactaacg ttgtgtagag 2880

cagcagacac aaacttggtg agtaaaggag tctctcacc catgacaaa aatcttgact 2940

taaactcagc aacaaaagt cctatcacac tcttgggt gataaactg ttaatttag 3000

aagataagaa ttcatggaag cacaccattt ccagcagttc tgcctgtct tgaaacttt 3060

catcactaag gcaaggaatt ttataaggc taacctggtc atcgctggag gtataagtga 3120

caggatcac atcatacaat aagtcagtg cataacacag aaattgttca gtaattagcc 3180

catataaatc tgatgtgtg tgcaagattc cctggcccat gtccaagaca gacattatat 3240

ggctggggac ctggtccctt gactgcagat actggtgaaa aaactctca ccaacactag 3300

tacagtcaca acccataaaa cctaaagatc tcttcaattt cctacacag taggcttctg 3360

caacattaat tgaacttca acgacctat gaagatgcca ttgagaatg ttcattactg 3420

ES 3 017 684 T3

gttcaagatt caccttggc ctatctcgg gattctcaa ttctaattg tacaaaaag 3480

aaaggaaaag tgctgggctc atagtgggc cccattgga gtggcatat gaacaggaca 3540

agtcaccatt gtaacagcc atttcatat cacagattgc acgttogaat tcctttctg 3600

aattcaagca tgtgtattc attgaactac ccacagctc tgagaagtct tcaactaacc 3660

tggtcatcag ctagtggtg aggtctcca catacagtic tctattgag ccaacctgct 3720

ccttataact tagtccaaat ttcaagttcc ctgtattga gctgatgct gtgaactctg 3780

taggagagtc gtcgaatag aaacataaat tccgtagggc tgcatttga aaataactt 3840

tgtctagct atcagcaatg gcttcagaat tgcttcctt ggtactaagc cgaacctcat 3900

ccttagtct cagaacttca ctggaaaagc ccaatctaga tctactcta tgctcataac 3960

taccaattt ctgatcataa tgccttgaa taaaagata ctgaagcat tcaaagaatt 4020

catctcttg gtaggctatt gttgcaaat ttttaataa caaacccaaa gggcagatgt 4080

cctgcggtc ttcaagaaaa taagtcaatt taaatggaga tagataaaca gcatcacata 4140

actcttata cacatcagac ctgagcacat ctggatcaaa atccttcacc tcatgcattg 4200

acacctctgc ttaatctct ctcaacactc caaaaggggc ccacaatgac tcaagagact 4260

ctcgctcgc aacagatgga tttttgatt tcaacttgg gatctcaact ttgtccct 4320

cactattagc catctggct agtgcattt gtacgtcatt tctaataccc tcaaaggccc 4380

ttactgatc ctctgtaaa ctctcataca tcaactgataa ttctcttga ttggtctgg 4440

ttctgaacc ggtgctcaca agacctgtta gatttttaa tattaagtag tccatggaat 4500

caggatcaag attatactg cctttgttt taaacctctc agccatagta gaaacgcatg 4560

ES 3 017 684 T3

ttgaaacaag ttctcctta tcataaacag aaagaatatt tccaagttcg tcgagcttgg 4620
 ggattaccac acttttattg ctgacagat ccagagctgt gctagtgatg ttaggcctgt 4680
 agggattgct ttcagtica cctgtaactt taagtcttcc tctattgaag agagaaatgc 4740
 agaaggacaa aatctcttta cacactcctg gaatttgagt atctgaggaa gtcttagcct 4800
 ctttgaaaa gaatctgtcc aatctcttta tcatggtgtc ctctgttcc agtgtagac 4860
 tcccacttag agggggggtt acaacaacac aatcaaactt gactttgggc tcaataaact 4920
 tctcaaaaca ctgatttga tctgtcaggc gatcaggtgt ctcttgggtt accaagtgc 4980
 acagataact aacatttaat agatatttaa accttcttgc aaagtaaaga tctgcatctt 5040
 cccctcacc caaaattgtc tggaaaagtt ccacagccat cctctgaatc agcacctctg 5100
 atccagacat gcagtcgacc ctaactttg acatcaaac ccatgatgg atttgatttg 5160
 catatgcat caagaaatat ctagacctt gtaaaaatgt ctggttcctt ttggaagggg 5220
 aacagagtac agctaacact aacaatctta atattggcct tgcattgtc atgagttcgt 5280
 ggctaaaac caaccagctg gtcatttcct cacacattc aattaacaca tctccgaaa 5340
 atataggcag gaaaaatc tttggatcac agtaaaaaga gcctgttct tccaatacc 5400
 cattgatgga tagatagata gaatagcacc ttgacttct acctgtttt tggtaaaaca 5460
 agagaccaa tgtattctt gtcagatgaa atcttgtac ataacactct ctagtctaa 5520
 catcccaa atactagaa tactctctt cattgattaa caatcgggag gaaatgatg 5580
 tctcatga gttgaccaat gcaagggaaa tggaggacaa aatcctaaat aatttctt 5640
 gctcacctc cactaagctg ctgaatggct gatgtctaca gattttctca aattcctgt 5700

ES 3 017 684 T3

taatagtata tctcatcact ggtctgtcag aaacaagtc ctgagctaaa atcatcaagc 5760

tatccatc aggggtgttt attagtttt ccagctgtga ccagagatct tgatgagagt 5820

tctcaatgt tctggaacac gcttgaaccc acttggggct ggtcatcaat ttcttccta 5880

ttagttaat cgctccaga atatctaga gtcgtcatt gactaacatt aacattgtc 5940

caacaactat tccgcattt ctaacctta caattgcac atcatgcgtt ttgaaaagat 6000

cacaaagtaa attgagtaaa actaagtcca gaaacagtaa agtgtttctc ctggtgttga 6060

aaacttttag accttctact ttgttacaca cggaaagggc ttgaagataa cacctctcta 6120

cagcatcaat agatataga ttctcatctg actggctttc catgttgact tcatctattg 6180

gatgcaatgc gatagagtag actacatcca tcaactgtt tgcacaaaaa gggcagctgg 6240

gcacatcact gctttgttg cttctaata agatcaagtc attataagc ttagactttt 6300

gtgaaaattt gaattcccc aactgctgt caaaaatctc cttctaaac caaacctta 6360

actttatgag ttcttctt atgacagatt ctctaattgc tctctaacc ccaacaaga 6420

gggattcatt taacctctca tcataacca aagaattctt ttcaagcat tcgatgttt 6480

ctaataccaa gctctggtt ttgtgttg acaactatg gatcaatgc tggattctt 6540

gttctcaat attaatctt tgcataaatt ttgattctt taggatgtc atcagcaacc 6600

accgaactct ttaacaacc caatcagca ggaatctatt gctgtagcta gatctgcat 6660

caaccacagg aaccaacgta atccctgcc ttagtaggtc ggactttagg tttaagagct 6720

ttgacatgc actcttccat ttctctcaa actcatcagg attgacccta acaaagggtt 6780

ccaataggat gagtgtttc cctgtgagt tgaagccac cggaatgact ttggaaggg 6840

ES 3 017 684 T3

tgggacatag tatgcatag tcagacagga tcacatcaac aaacttctga tctgaattga 6900

tctgacaggc gtgtgcctca caggactcaa gctctactaa acttgacaga agtttgaacc 6960

cttccaacaa cagagagctg gggatgatgt gagataaaaa gatgtccctt tggatgcta 7020

gctcctgtct ttctggaaaa tgctttctaa taaggctttt tatttcattt actgattcct 7080

ccatgctcaa gtgccgccta ggatccactg tgcg 7114

<210> 3

<211> 3410

5 <212> ARN

<213> Mamarenavirus de Junín

<220>

10 <223> Virus Junín, cepa Candid #1, segmento S, secuencia completa. -NÚMERO DE REGISTRO FJ969442-
VERSIÓN FJ969442.1-GI:264665554 - Virus; virus de ARNss; virus de cadena negativa de ARNss; *Arenaviridae*;
Mamarenavirus.

<400> 3

cgcacagtgg atcctaggcg attttggta cgctataatt gtaactgttt tctgtttgga 60

ES 3 017 684 T3

caacatcaaa aacatccatt gcacaatggg gcagttcatt agcttcatgc aagaaatacc 120
 aaccttttg caggaggctc tgaacattgc tctgttgca gtcagtctca ttgccatcat 180
 taagggtgta gtgaacctgt acaaaagtgg ttgttccaa ttcttgtat tcttagcact 240
 cgcaggaaga tctgcacag aagaagcttt taaaatcgga ctgcacacag agttccagac 300
 tgtgtccttc tcaatggtgg gtctctttc caacaatcca catgacctgc ctctgttg 360
 taccttaaac aagagccatc ttacattaa ggggggcaat gcttcatttc agatcagctt 420
 tgatgatatt gcagtattgt tgccacagta tgatgtata atacaacatc cagcagatat 480
 gagctggtgt tccaaaagtg atgatcaaat ttggtgtct cagtgggtca tgaatgctgt 540
 gggacatgat tggcatctag acccaccatt tctgttagg aaccgtgcaa agacagaagg 600
 ctcatcttt caagtcaaca cctccaagac tgggtgcaat ggaaattatg ctaagaagtt 660
 taagactggc atgcatcatt tatatagaga atatcctgac ccttgcttga atggcaaact 720
 gtgcttaatg aaggcacaac ctaccagttg gcctctcaa tgtccactcg accacgttaa 780
 cacattacac ttcttataa gaggtaaaaa cattcaactt ccaaggaggt cctgaaagc 840
 attctctcc tggctttga cagactcatc cggcaaggat acccctggag gctattgtct 900
 agaagagtgg atgctcgttg cagccaaaat gaagtgttt ggcaatactg ctgtagcaaa 960
 atgcaatctg aatcatgact ctgaattctg tgacatgctg aggcttttg attacaacaa 1020
 aaatgctatc aaaacctta atgatgaaac taagaaacaa gtaaattctga tgggacagac 1080
 aatcaatgcg ctgatatctg acaatttatt gatgaaaaac aaaattaggg aactgatgag 1140
 tgtcccttac tgcaattaca caaaatttg gtatgtcaac cacacactt caggacaaca 1200

ES 3 017 684 T3

ctcattacca aggtgctggg taataaaaaa caacagctat ttgaacatct ctgactccg 1260
taatgactgg atattagaaa gtgactctt aatttctgaa atgctaagca aagagtattc 1320
ggacaggcag ggtaaaactc cttgacttt agttgacatc tgtatttga gcacagtatt 1380
cttcacagcg tcaactctcc ttcacttggg gggatatccc tcccacagac acatcagggg 1440
cgaagcatgc ccttgccac acaggttgaa cagcttggg ggttcagat gtggttaagta 1500
ccccaatcta aagaaccaa cagttggcg tagaggacac taagacctcc tgagggtccc 1560
caccagcccg ggcactgccc gggctgggt ggccccccag tccgcgccct ggccgaggac 1620
tggggaggca ctgcttacag tgcataggct gccttcggga ggaacagcaa gctcgggtgt 1680
aatagagggt taggttctc ctcatagagc ttccatcta gcactgactg aaacattatg 1740
cagcttagca gagcacagtg tggttactg gaggccaact tgaaggaggt atcctttcc 1800
ctcttttct tattgacaac cactccattg tgatattgc ataagtacc atattctcc 1860
cagacctgtt gatcaaatg cctggctgt tcagatgtga gcttaacatc aaccagttta 1920
agatctctc ttcatggag gtcaaacaac ttctgatgt catcgatcc ttgagtagtc 1980
acaacctgt ctggaggcag caagccgatc acgtaactaa gaactcctgg cattgcatct 2040
tctatgtct tcattaagat gccgtgagag tgtctgtac catTTTTAA ccctttctca 2100
tcatgtggtt ttctgaagca gtgaatatac tgcttacctg caggctggaa caacgccatc 2160
tcaacagggt cagtagctgg tcctcaatg tcgagccaaa gggatttggg ggggtcagat 2220
ttccccactg cctctctgat gacagcttct tgtatctctg tcaagttagc caatctcaaa 2280
ttctgaccgt tctttccgg ttgtctaggt ccagcaactg gtttcttgt cagatcaata 2340

ES 3 017 684 T3

cttgtgtgt cccatgacct gcctatgatt tgtgatctgg aaccaatata aggccaacca 2400
 tcgccagaaa ggcaaagttt gtacagaagg ttccataag gggttctatt gcctggtttc 2460
 tcatcaataa acatgccttc tcttcgttta acctgaatgg ttgattttat gagggaagaa 2520
 aagttatctg gggtgactct gattgtctcc aacatatttc caccatcaag aatggatgca 2580
 ccagccttta ctgcagctga aagactaaag ttgtagccag aaatgttgat ggagctttca 2640
 tccttagtca caatctggag gcagtcattt tctgagtc atctgtcaag gtcactcaag 2700
 ttggatact tcacagtgtg tagaagccca agagagggtta aagcctgtat gacactgttc 2760
 attgtctcac ctcttgaac agtcattgat gcaattgtca atgcaggaac agaaccacaaac 2820
 tgattgttaa gtttgaagg atctttaaca tcccatacc tcaccacacc attccccca 2880
 gttccttgct gtgaaatcc cagtgtctc aatatctctg atctctggc cagttgtgat 2940
 tgagacaagt tacccatgta aacccttga gagcctgtct ctgctctct aatcttgttt 3000
 ttaatttct caaggtcaga cgccaactcc atcagttcat cctccccag atctcccacc 3060
 ttgaaaactg tgttcgttg aacactcctc atggacatga gtctgtcaac ctctttattc 3120
 aggtccctca acttattgag gtctcttcc ccccttttag tctttctgag tgcccgtgc 3180
 acctgtgcct ctgggtgaa gtcaatgctg tcagcaatta gcttggcatc cttcagaaca 3240
 tccgactga cagtctgagt aaattgactc aaacctctcc ttaaggactg agtccatcta 3300
 aagcttgga cctcttggga gtgtgccatg ccagaagttc tggatgattt gatctagaat 3360
 agagttgctc agtgaaagtg ttagacacta tgcttaggat ccactgtgcg 3410

<210> 4

<211> 7114

5 <212> ARN

<213> Mamarenavirus de Junín

<220>

ES 3 017 684 T3

<223> Virus Junín, cepa Candid #1, segmento L, secuencia completa. -NÚMERO DE REGISTRO AY819707-
 VERSIÓN AY819707.2-GI:227957900-Virus; virus de ARNss; virus de cadena negativa de ARNss; *Arenaviridae*;
 Mamarenavirus.

5 <400> 4

```

cgcacagtgg atcctaggcg taacttcac attaaaaatct cagattctgc tctgagtgtg      60

acttactgcg aagaggcaga caaatgggca actgcaacgg ggcaccaag tctaaccagc      120

cagactcctc aagagccaca cagccagccg cagaatttag gagggtagct cacagcagtc      180

tatatggtag atataactgt aagtgtgct ggtttgctga taccaattg ataacctgta      240

atgatcacta cctttgttta aggtgccac agggtaigt aaggaattca gatctctgca      300

atatctgctg gaagcccctg cccaccacaa tcacagtacc ggtggagcca acagcaccac      360

caccataggc agactgcaca gggtcagacc cgaccccccg gggggcccc atggggaccc      420
  
```

ES 3 017 684 T3

cccgtggggg aaccccgggg gtgatgcgcc attagtcaat gtccttgatc tcgactttgt 480
 gcttcagtg cctgcatgtc accccttca atctgaactg ccctgggga tctgatatca 540
 gcaggtcatt taaagatctg ctgaatgcca ccttgaaatt tgagaattcc aaccagtcac 600
 caaatattac aagtgaacgg atcaactgct cttgtgtag atcataaacg aggacaaagt 660
 cctcttgctg aaataatatt gttgtgatg ttgttttag ataaggccat agttggctta 720
 ataaggtttc cacactatca atgtcctcta gtgtccaat tgccttgact atgacatccc 780
 cagacaactc aactctatat gttgacaacc ttcatcacc tctgtaaaag ataccctctt 840
 tcaagacaag aggttctcct gggttatctg gcccaatgag gtcatatgca tacttgttac 900
 ttagttcaga ataaaagtca ccaaagtga acttaacatg gtcagaata ttgtcatcat 960
 ttgtgcagc glagcctgca tcaataaaca agccagctag gtcaaagctc tcatggcctg 1020
 tgaacaatgg taggctagcg ataaccagt caccatcaa caatgagtg cttccctcag 1080
 acccagaaac acattgactc attgcatcca cattcagctc taattcaggg gtaccgacat 1140
 catccactcc tagtgaactg acaatggtgt aactgtacac catctttctt ctaagtttaa 1200
 atttgtcga aactcgtgtg tgtctactt gaatgatcaa ttttagttc acagcttctt 1260
 ggcaagcaac attgcgcaac acagtgtgca ggtccatcat gcttctctga ggcaacaagg 1320
 agatgtgtc aacagagaca cctcaagga aaaccttgat attatcaaag ctagaaacta 1380
 cataacccat tgcaatgtct tcaacaaca ttgctctga tactttatta ttctaactg 1440
 acaaggtaaa atctgtgagt tcagctagat ctacttgact gtcattctct agatctagaa 1500
 ctcatcgaa ccaaaagaag gatttgagac acgatgtga catgactagt gggttatca 1560

ES 3 017 684 T3

tcgaagataa gacaactgc accatgaagt tcctgcaaac ttgctgtggg ctgaltccaa 1620
cttccaatt tgtatactct gactgtctaa catgggctga agcgcaatca cctgtttca 1680
caatataaac attattatct cttactttca ataagtgact tataatccct aagttttcat 1740
tcatcatgtc tagagccaca cagacatcta gaaactgag tottcacta tccaaagatc 1800
tgttcactg aagatcattc ataaagggg ccaaattgtc ttcaaatagt ttggggtaat 1860
ttctcgtat agaatgcaat acatggttca tgcctaattg gtcttctatc tgcgtactg 1920
ctttgggtt aacagcccag aagaaattct tattacataa gaccagaggg gcctgtggac 1980
tctaatagc aaaaaacacc cactccccta actcacaggc attgtcagc accaaagaga 2040
agtaatccca caaaattggt ttgaaaaatt ggtaacttc ttaagtgat ttgacagt 2100
aaataacttt aggccttctc tcacaaattc cacaagaca tggcattatt cgagtaaata 2160
tgtccttat atacagaaat ccgcctttac catccctaac acacttactc cccatactct 2220
tacaaaaccc aatgaagcct gaggcaacag aagactgaaa tgcagatttg ttgattgact 2280
ctgccaagat ctcttcacg cctttgtga aatttctga cagcctggac tgtattgtcc 2340
ttatcaatgt tggcatctct tcttctcta acactcttcg actgtcatg agtttggtcc 2400
tcaagaccaa cctcaagtc ccaaagctcg ctaaattgac ccatctgtag tctagagttt 2460
gtctgatttc atcttacta caccggcat attgcaggaa tccggataaa gcctcatccc 2520
ctcccctgct tatcaagtg ataaggttt cctcaaagat ttgcctctc ttaatgtcat 2580
tgaacacttt cctcgcgag ttcttataa acattgtctc ctatcatca gaaaaaatag 2640
cttcaattt cctctgtaga cggtaacctc tagaccatc aaccagctt ttgacatctt 2700

ES 3 017 684 T3

gttcttcaat agctccaaac ggagtcctc tgatccaga gtatctaac aattgggtga 2760

ctctaattga aatcttgac actatagag tgctaacccc attagcaata cattgatcac 2820

aaattgtgc tatggctct gacagtgtg ttggagttt acactaacg ttgtgtagag 2880

cagcagacac aaacttggtg agtaaaggag tctctcacc catgacaaaa aatcttgact 2940

taaactcagc aacaaaagtt cctatcacac tcttgggct gataaactg ttaatttag 3000

aagataagaa ttcatggaag cacaccattt ccagcagttc tgcctgtct tgaaacttt 3060

catcactaag gcaaggaatt ttataaggc taacctgtc atcgctggag gtataagtga 3120

caggatcac atcatacaat aagicaagt cataacacag aaattgtca gtaattagcc 3180

catataaatc tgatgtgtg tgcaagattc cctggcccat gtccaagaca gacattatat 3240

ggctggggac ctggtccctt gactgcagat actggtgaaa aaactctca ccaacactag 3300

tacagtcaca acccattaaa cctaaagat tcttcaatt ccctacacag taggcttctg 3360

caacattaat tgaacttca acgacctat gaagatgcca ttgagaatg ttcattactg 3420

gttcaagatt caccittgtt ctatctctg gattcttcaa ttctaattg tacaaaaaag 3480

aaaggaaaag tgctgggctc atagtgggc ccatttga gtggtcatat gaacaggaca 3540

agtcaccatt gtaacagcc atttcatat cacagattgc acgttgaat tcttttctg 3600

aattcaagca tgttatttc attgaactac ccacagctt tgagaagtct tcaactaacc 3660

tggtcatcag cttagtgtg aggtctcca catacagttc tctattgag ccaacctgct 3720

cctataact tagtccaaat tcaagttcc ctgtattga gctgatgct gtgaactctg 3780

taggagagtc gtctgaatag aaacataaat tccgtagggc tgcatttga aaataacttt 3840

ES 3 017 684 T3

tgtctagctt atcagcaatg gcttcagaat tgctttccct ggtactaagc cgaacctcat 3900
 cctttagtct cagaacttca ctggaaaagc ccaatctaga tctacttcta tgctcataac 3960
 tacccaattt ctgatcataa tgccttgaa ttaaagata ctgaagcat tcaaagaatt 4020
 catcttcttg gtaggctatt gttgtcaa ttttaataa caaacccaaa gggcagatgt 4080
 cctgcggtgc ttcaagaaaa taagtcaatt taaatggaga tagataaaca gcatcacata 4140
 actctttata cacatcagac ctgagcacat ctggatcaaa atccttcacc tcatgcattg 4200
 acacctctgc ttaatctct ctcaacactc caaaaggggc ccacaatgac tcaagagact 4260
 ctgcctcctc aacagatgga tttttgatt tcaacttgg gatctcaact tttgtcccct 4320
 cactattagc catctggct agtgtcatt gtacgtcatt tctaataccc tcaaaggccc 4380
 ttactgatc ctctgtaaa ctctcataca tcactgataa ttcttctga ttggtctgg 4440
 ttctgaacc ggtgctcaca agacctgtta gatTTTTTaa tattaagtag tccatggaat 4500
 caggatcaag attatacctg cctttgttt taaacctctc agccatagta gaaacgcatg 4560
 ttgaaacaag ttctcctta tcataaacag aaagaatatt tccaagttcg tcgagcttgg 4620
 ggattaccac acttttattg ctgacagat ccagagctgt gctagtgatg ttaggcctgt 4680
 agggattgct ttcagtca cctgtaact taagtcttc tctattgaag agagaaatgc 4740
 agaaggacaa aatctctta cacactcctg gaattgagt atctgaggaa gtcttagcct 4800
 ctttgaaaa gaatctgtcc aatcctcta tcatgggtgc ctctgttcc agtgtagac 4860
 tcccacttag aggggggttt acaacaacac aatcaaact gactttgggc tcaataaact 4920
 tctcaaaaca ctgatttga tctgtcaggc gatcaggtgt ctcttggt accaagtgc 4980

ES 3 017 684 T3

acagataact aacatttaat agatatttaa accttcttgc aaagtaaaga tctgcatctt 5040

cccttcacc caaaattgtc tggaaaagtt ccacagccat cctctgaatc agcacctctg 5100

atccagacat gcagtcgacc ctaactttg acatcaaac cacatgatgg atttgatttg 5160

catatgccat caagaaatat ctagacctt gtaaaaatgt ctggttcctt ttggaagggg 5220

aacagagtac agctaacact aacaatctta atattggcct tgcattgtc atgagttcgt 5280

ggctaaaac caaccagctg gtcatttct cacaatttc aattaacaca tctccgaaa 5340

atataggcag gaaaaatctc ttggatcac agtaaaaaga gcctgttct tccaataccc 5400

cattgatgga tagatagata gaatagcacc tgacttctc acctgtttt tggtaaaaca 5460

agagaccaa tgtattctt gtcagatgaa atctttgtac ataactctt ctagtctaa 5520

cattccaaa atatctagaa tactctctt cattgattaa caatcgggag gaaaatgatg 5580

tctcatcga gttgaccaat gcaagggaaa tggaggacaa aatcctaaat aatttctt 5640

gtcaccttc cactaagctg ctgaatggct gatgtctaca gattttctca aattccttgt 5700

taatagtata tctcatcact ggtctgtcag aaacaagtgc ctgagctaaa atcatcaagc 5760

tatccatac aggggtttt attagtttt ccagctgtga ccagagatct tgatgagagt 5820

tctcaatgt tctggaacac gctgaaccc actggggct ggtcatcaat ttcttctta 5880

ttagtttaat cgcctcaga atatctagaa gtctgtcatt gactaacatt aacattgtc 5940

caacaactat tccgcattt ctaacctta caattgcac atcatgcgtt ttgaaaagat 6000

cacaaagtaa attgagtaaa actaagtcca gaaacagtaa agtgttctc ctggtgttga 6060

aaacttttag accttcact ttgttacaca cggaaagggc ttgaagataa cacctctta 6120

ES 3 017 684 T3

cagcatcaat agatatagaa ttctcatctg actggcttcc catgttgact tcattatttg 6180

gatgcaatgc gatagagtag actacatcca tcaactgtt tgacacaaaa gggcagctgg 6240

gcacatcact gtcttctgg ctctctaata agatcaagtc atttataagc tttagctttt 6300

gtgaaaattt gaatttcccc aactgcttgc caaaaatctc ctcttaaac caaacctta 6360

actttatgag ttcttctct atgacagatt ctctaagtc tctctaacc ccaacaaaga 6420

gggattcatt taacctctca tcataaccca aagaattctt ttcaagcat tcgatgtttt 6480

ctaataccaa gctctggtt ttgtgttg acaactatg gatcaatgc tggatttctt 6540

gttcttcaat attaatctct tcataaatt ttgatttct taggatgtcg atcagcaacc 6600

accgaactct ttaacaacc caatcagcaa ggaatctatt gctgtagcta gatctgcat 6660

caaccacagg aaccaacgta atccctgccc tttagagtc ggactttagg tttaagagct 6720

ttgacatgc actcttccat ttctctcaa actcatcagg attgacctta acaaagggtt 6780

ccaataggat gagtggttcc cctgtgagtt tgaagccatc cggaatgact ttggaaggg 6840

tgggacatag tatgcatag tcagacagga tcacatcaac aaacttctga tctgaattga 6900

tctgacaggc gtgtgcctca caggactcaa gctctactaa acttgacaga agtttgaacc 6960

ctccaacaa cagagagctg gggatgagtt gagataaaaa gatgtccctt tggatgcta 7020

gctcctgtct ttctggaaaa tgcttctaa taaggctttt tattcattt actgattcct 7080

ccatgctcaa gtgcgccta ggatccactg tgcg 7114

<210> 5

<211> 3377

5 <212> ARN

<213> Virus mamarenavirus de la coriomeningitis linfocítica (LCMV)

<220>

10 <223> Virus de la coriomeningitis linfocítica, clon 13, segmento S, secuencia completa. NÚMERO DE REGISTRO DQ361065-VERSIÓN DQ361065.2-GI:116563461.-virus de ARNss; virus de cadena negativa de ARNss; *Arenaviridae*; Mamarenavirus.

ES 3 017 684 T3

<400> 5

gcgcaccggg gatcctaggc ttttggatt gcgcttct ctagatcaac tgggtgtcag 60
gccctatcct acagaaggat gggtcagatt gtgacaatgt ttgaggctct gcctcacatc 120
atcgatgagg tgatcaacat tgcattatt gtgcttatcg tgatcacggg tatcaaggct 180
gtctacaatt ttgccacctg tgggatattc gcattgatca gtttctact tctggctggc 240
aggctctgtg gcatgtacgg tcttaaggga cccgacattt acaaaggagt ttaccaattt 300
aagtcagtgg agttgatat gtcacatctg aacctgacca tgcccaacgc atgttcagcc 360
aacaactccc accattacat cagtatgggg acttctggac tagaattgac cttaccaat 420
gattccatca tcagtcacaa ctttgcaat ctgacctcg cttcaacaa aaagaccttt 480

ES 3 017 684 T3

gaccacacac tcatgagtat agtttcgagc ctacacctca gtatcagagg gaactccaac 540

tataaggcag talcctgcga ctcaacaat ggcataacca tccaatacaa ctgacattc 600

tcagatgcac aaagtgtca gagccagtgt agaacctca gaggtagagt cctagatatg 660

ttagaactg ccttcggggg gaaatacatg aggagtggct ggggctggac aggctcagat 720

ggcaagacca cctgggttag ccagacgagt taccaatacc tgattataca aaatagaacc 780

tgggaaaacc actgcacata tgcaggtcct ttgggatgt ccaggattct ccttcccaa 840

gagaagacta agttcctcac taggagacta gcgggcacat tcacctggac ttgtcagac 900

tcttcagggg tggagaatcc aggtgggtat tgcctgacca aatggatgat tctgtctga 960

gagcttaagt gtttcgggaa cacagcagt tgcgaaatga atgtaaatca tgatgaagaa 1020

tctgtgaca tgcctgcgact aattgactac aacaaggctg ctttgagtaa gttcaaagag 1080

gacgtagaat ctgccttgca ctattcaaa acaacagtga attctttgat ttcatgcaa 1140

ctactgatga ggaaccactt gagagatctg atgggggtgc catattgcaa ttactcaaag 1200

tttgggtacc tagaacatgc aaagaccggc gaaactagt tcccaagtgc ctggcttgc 1260

accaatggtt ctacttaaa tgagaccac ttcagtgcac aaatcgaaca ggaagccgat 1320

aacatgatta cagagatgtt gaggaaggat tacataaaga ggcaggggag tcccccta 1380

gcattgatgg acctctgat gtttccaca tctgcatac tagtcagcat ctctctcac 1440

ctgtcaaaa taccaacaca caggcacata aaaggtggct catgtcaaaa gccacaccga 1500

ttaaccaaca aaggaattg tagttgtgt gcatttaagg tgcctggtgt aaaaaccgtc 1560

tggaaaagac gctgaagaac agcgctccc tgactctca cctcgaaaga ggtggagagt 1620

ES 3 017 684 T3

cagggaggcc cagagggctc tagagtgtca caacatttgg gcctctaaaa attaggatcat 1680

gtggcagaat gttgtgaaca gtttcagat ctgggagcct tgctttggag gcgctttcaa 1740

aaatgatgca gtccatgagt gcacagtgcg gggatgctc ttcttctt ttgtccctta 1800

ctattccagt atgcatctta cacaaccagc catatttgc ccacactttg tcttcatact 1860

ccctcgaagc ttccctggtc attcaacat cgataagctt aatgtcctc ctattctgtg 1920

agtcagaag ctttctgatg tcatcgagc cttgacagct tagaaccatc cctgcggaa 1980

gagcacctat aactgacgag gtcaacccgg gttgcgcat gaagaggtcg gcaagatcca 2040

tgccgtgtga gtacttgaa tctgtctga attgttttg atcaacgggt tccctgtaa 2100

agtgtatgaa ctgcccgtc tgggttga aaattgctat ttccactgga tcattaaac 2160

taccctaat gtcaatccat gtaggagcgt tgggtcaat tctcccatg aggtcttta 2220

aaagcattgt ctggctgtag ctaagccca cctgaggtgg acctgctgt ccaggcgctg 2280

gcctgggtga attgactgca ggttctgc ttgtgagatc aattgtgtg ttcccatg 2340

ctctcccac aatcgatgt ctacaagcta tgtatggcca tcttcacct gaaaggcaaa 2400

ctttatagag gatgtttca taagggttc tgtcccaac ttggtctgaa acaaacatgt 2460

tgagtttct ctggccccc agaactgcct tcaagaggtc ctgctgttg ctggctga 2520

tcaaaattga cttaacatg ttaccccat ccaacagggc tgcccctgcc ttcacggcag 2580

caccaagact aaagtatag ccagaaatgt tgatgctga ctgctgtca gtgatgacc 2640

ccagaactgg gtgctgtct tcagcctt caagatcatt aagatttga tactgactg 2700

tgtaaagcaa gccaaagtct gtgagcgct gtacaacgtc attgagcgga gtctgtgact 2760

ES 3 017 684 T3

gtttggccat acaagccata gtttagactg gcattgtgcc aaattgattg ttcaaaagtg 2820

atgagtcttt cacatcccaa actcttacca caccacttgc accctgctga ggctttctca 2880

tccaactat ctgtaggatc tgagatcttt ggtctagtgt ctgtgtgtt aagttcccca 2940

tatafcccc tgaagcctgg ggccttcag acctcatgat ctggccttc agcttctcaa 3000

ggtcagccgc aagagacatc agttctctg cactgagcct cccacttcc aaaacattct 3060

tcttgatgt tgactttaa tccacaagag aatgtacagt ctggttgaga cttctgagtc 3120

tctgtaggtc ttgtcatct ctctttctct tctcatgat cctctgaaca ttgctgacct 3180

cagagaagtc caaccattc agaagggtgg ttgcatcctt aatgacagca gccttcacat 3240

ctgatgtgaa gctctgcaat tctcttctca atgctgcgt ccattggaag ctcttaactt 3300

ccctagacaa ggacatcttg ttgctcaatg gtttctcaag acaaatgcgc aatcaaatgc 3360

ctaggatcca ctgtgcg 3377

<210> 6

<211> 7229

<212> ARN

5 <213> Virus mamarenavirus de la coriomeningitis linfocítica (LCMV)

<220>

<223> Virus de la coriomeningitis linfocítica, clon 13, segmento L, secuencia completa. -NÚMERO DE REGISTRO DQ361066-VERSIÓN DQ361066.1-GI:86440167.-virus de ARNss; virus de cadena negativa de ARNss; *Arenaviridae*; Mamarenavirus

10

<400> 6

ES 3 017 684 T3

gcgacccggg gatcctaggg gtttagttgc gctgtttggt tgcacaactt tcttcgtgag 60

gctgtcagaa gtggacctgg ctgatagcga tgggtcaagg caagtccaga gaggagaaag 120

gcaccaatag taaaacagg gccgaaatcc taccagatac cacctatctt ggccctttaa 180

gctgcaaatac ttgtggcag aaatttgaca gcttggttaag atgccatgac cactaccttt 240

gcaggcactg tttaaactt ctgctgtcag tatccgacag gtgtcctctt tgtaaatac 300

cattaccaac cagattgaag atatcaacag cccaagctc tccacctccc tacgaagagt 360

aacaccgtcc ggccccggcc ccgacaaaca gcccagcaca agggaaccgc acgtcaccca 420

acgcacacag acacagcacc caacacagaa cagcgacaca cacacacaca cacaccaca 480

cgcacgcgcc cccaccaccg gggggcgccc cccccgggg ggcgggcccc cgggagcccg 540

ggcggagccc caggagatg cccatcagtc gatgtcctcg gccaccgacc cgcccagcca 600

atcgtcgcag gacctccctt tgagtctaaa cctgcccccc actgtttcat acatcaaagt 660

gctcctagat ttgctaaaac aaagtctgca atccttaaag gcgaaccagt ctggcaaaag 720

cgacagtgga atcagcagaa tagatctgtc tatacatagt tcttgaggga ttacattat 780

ctctgaaccc aacaaatgtt caccagttct gaatcgatgc aggaagaggt toccaaggac 840

atcactaatc tttcatagc cctcaagtc tgctagaaag actttcatgt ctttgtctc 900

ES 3 017 684 T3

cagcttcaca atgatatttt ggacaagggt tcttccttca aaaagggcac ccatctttac 960

agtcagtggc acaggctccc actcaggltcc aactctctca aagtcaatag atctaattccc 1020

atccagtatt cttttggagc ccaacaactc aagctcaaga gaatcaccaa gtatcaaggg 1080

atcttccatg taatctctca actcttcaga tctgatatca aagacaccat cggtcacctt 1140

gaagacagag tctgtctca gtaagtggag gcattcatcc aacattcttc tatctatctc 1200

acccttaaag aggtgagagc atgataaaag ttcagccaca cctggattct gtaattggca 1260

cctaaccaag aatatcaatg aaaatttcct taaacagtca gtattattct gattgtgcgt 1320

aaagtcact gaaattgaaa actccaatac cctttttgtg tagttgagca ttagtccca 1380

cagatccttt aaggatttaa atgcctttgg gttgtcagg cctgcctaa tcaacatggc 1440

agcattacac acaacatctc ccattcggtg agagaaccac caaaaccaa actgcaaadc 1500

attcctaacc ataggcctct ccacatttt gttcaccacc ttgagacaa atgattgaaa 1560

ggggccaggt gcctcagcac catcttcaga tggcatcatt tctttatgag ggaaccatga 1620

aaaattgcct aatgtcctgg ttgttgaac aaattctga acaaatgatt caaaatacac 1680

ctgttttaag aagtcttgc agacatccct cgtgctaaca acaaatcat caaccagact 1740

ggagtcagat cgctgatgag aattggcaag gtcagaaaac agaacagtgt aatgttcac 1800

ccttttcac ttaacaacat gagaaatgag tgacaaggat tctgagttaa tatcaattaa 1860

aacacagagg tcaaggaatt taattctggg actccacctc atgtttttg agctcatgtc 1920

agacataaat ggaagaagct gatcctcaaa gatcttggga tatagccgcc tcacagattg 1980

aatcacttgg ttcaaattca cttgtctc cagtagcctt gagctctcag gcttcttgc 2040

ES 3 017 684 T3

tacataatca catgggttta agtgcttaag agttaggttc tcactgttat tcttccttt 2100
 ggtcgggttct gctaggaccc aaacacccaa ctcaaaagag ttgctcaatg aaatacaaat 2160
 gtagtcccaa agaagaggcc ttaaaaggca tatatgatca cggtagggctt ctggatgaga 2220
 ctgtttgtca caaatgtaca gcgttatacc atcccgattg caaactcttg tcacatgatc 2280
 atctgtggtt agatcctcaa gcagctttt gatatacaga ttttcctat tttgtttct 2340
 cacacacctg cttcctagag tttgcaaag gcctataaag ccagatgaga tacaactctg 2400
 gaaagctgac ttgttgattg cttcgacag cagcttctgt gcaccccttg tgaatttact 2460
 acaaagtttg ttctggagtg tctgatcaa tgaagggtt ctttctctt ggaaagtcatt 2520
 cactgatgga taaaccacct ttgtcttaa aaccatcctt aatgggaaca ttcatcatt 2580
 attcaaccag ttaacatctg ctaactgatt cagatctct tcaagaccga ggaggtctcc 2640
 caattgaaga atggcctct tttatctct gttaaataag tctaagaaa attctcatt 2700
 aaattcacca tttttagct tatgatgcag ttccttaca agctttcta caaccttgt 2760
 ttcattagga cacagttcct caatgagtct ttgtattctg taacctctag aacctccag 2820
 ccaatcttc acatcagtgt tggattcag tagaaatgga tccaaaggga aattggcata 2880
 cttaggagg tccagtgttc tctttggat actattaact agggagactg ggacgccatt 2940
 tgcgatggct tgatctgcaa ttgatctat tgttcacaa agttgatgtg gctcttaca 3000
 cttgacattg ttagcgctg cagatacaaa cttgtgaga agagggactt cctccccc 3060
 tacatagaat ctagatttaa attctgcagc gaacctcca gccacactt ttgggtgat 3120
 aaattgttt aacaagccgc tcagatgaga ttgaattcc aacaggacaa ggacttcctc 3180

ES 3 017 684 T3

cggalcactt acaaccaggt cactcagcct cctatcaa ataaagtgatct gatcatcact 3240
 tgatgtgtaa gcctctgggc ttgcgcaaa gataacacca atgcagtagt tgatgaacct 3300
 ctgcctaagc aaaccataga agtcagaagc attatgcaag attccctgcc ccatatcaat 3360
 aaggctggat atatgggatg gcactatccc catttcaaaa tattgtctga aaattctctc 3420
 agtaacagtt gtttctgaac ccctgagaag ttttagcttc gacttgacat atgattcat 3480
 cattgcattc acaacaggaa aggggacctc gacaagctta tgcattgtgcc aagtaacaa 3540
 agtgctaaca tgatctttcc cggaacgcac atactggta tcacctagtt tgagattttg 3600
 tagaaacatt aagaacaaaa atgggcacat cattggctcc catttgctgt gatccatact 3660
 atagttaag aacccttccc gcacattgat agtcattgac aagattgcat ttcaaattc 3720
 ctatcattg ttaaacagg agcctgaaaa gaaactgaa aaagactcaa aataatcttc 3780
 tattaacctt gtgaacattt ttgtctcaa atctccaata tagagtctc tatttcccc 3840
 aacctgctct ttataagata gtgcaaattt cagcctcca gagtcaggac ctactgaggt 3900
 gtatgatgtt ggtgattctt ctgagtagaa gcacagattt tcaaagcag cactcataca 3960
 ttgtgtcaac gacagagctt tactaaggga ctgagaatta cttccctct cactgattct 4020
 cagcttctt tccagtttgt ccagtcaaa ttgaaattc aagccttgc ttgcatatg 4080
 cctgtattc cctgagtacg catttgcat catttgcaac agaattcatc tcatgcaaga 4140
 aaaccaatca ttctagaaa agaacttct acaaagggtt ttgccatct catcgaggcc 4200
 aactgatct ttaatgactg aggtgaaata caaaggtagc agctctgtgg aaccctaac 4260
 agcctcacag ataaattca tgcattcatt ggtagacat gatgggtcaa agtctctac 4320

ES 3 017 684 T3

taaattggaaa gatatttctg acaagataac ttttctaag tgagccatct tccctgtag 4380

aataagctgt aaatgatga gtcctttgt attgtaagt ttttccat ctcctttgc 4440

attggccctc ctacctctc tgtaccgtgc tatttggtg ttgaccttt ctcgagact 4500

ttgaagaag ctgtctctt ctctccatc aaaacatatt tctgccaggt tgtctccga 4560

tctccctgc tcttccct tggaaccgat gaccaatcta gagactaact tggaaactt 4620

atattcatag tctgagtgc tcaactata ctttgttt ctacgaaac tctcgtat 4680

ttgactcaca gcactaaca gcaattgtt aaagcatat tccagaagtc gtttccatt 4740

tagatgcta ttaaccacca cactttgt actagcaaga tctaagtctg tcgcacatcc 4800

agagtagtc atgggatcta ggctgttag ctctctct ccttgaaaa taaagtgc 4860

gtgttaa at gaagacacca ttaggctaaa ggctccaga ttaacacctg gagttgatg 4920

ctgacagtca atttcttac tagtgaatct ctcatctgc tcatagaaca cacattctc 4980

ctcaggagt attgcttct tgggttgac aaaaaacca aattgactt tgggtcaaa 5040

gaactttca aaacattta tctgatctg tagcctgca ggggtctct ttgatcaa 5100

atgacacagg tatgacacat tcaacataaa ttlaattt gcactcaaca acacctctc 5160

accagtacca aaaatagtt ttattaggaa tctaagcagc ttataacca cctctcagc 5220

aggtgtgatc agatcctcc tcaactatc catatgat gtagatgaaa aatctgacac 5280

tattgccatc accaaatc tgacactctg tacctgctt tgattctct ttgtgggtt 5340

ggtgagcatt agcaacaata gggctcag tgcaacctca atgctggtga gacagtctt 5400

c aaatcagga catgatctaa tccatgaaat catgatgtct atcatattgt ataagacctc 5460

ES 3 017 684 T3

atctgaaaaa attggtaaaa agaacctttt aggatctgca tagaaggaaa ttaaagacc 5520

atccgggcct tgtatggagt agcacctga agattctcca gtctctggt ataatagggt 5580

gtattctca gagtccagtt ttattacttg gcaaaacact tcttgcatt ctaccacttg 5640

atatctcaca gacctattt gatcttgcct tagtctagca actgagctag ttctcatact 5700

gtttgtaag gccagacaaa cagatgataa tctctcagg ctctgtatgt tctcagctg 5760

ctctgtgctg ggttggaat tgtaatctc aaacttcgta taatacatta tcgggtgagc 5820

tccaatttc ataaagtct caaattcagt gaatggtatg tggcattctt gctcaagggt 5880

ttcagacagt ccgtaatgct cgaaactcag tcccaccact aacaggcatt ttgaatttt 5940

tgcaatgaac tcactaatag atgccctaaa caattctca aaagacacct ttctaaacac 6000

cttgacttt ttctattcc tcaaaagtct aatgaactcc tcttagtgc tgtgaaagct 6060

taccagccta tcattcacac tactatagca acaaccacc cagtgttat catTTTTaa 6120

cccttgaat ttcgactgtt ttatcaatga ggaaagacac aaaacatcca gatttaacaa 6180

ctgtctcctt ctagtattca acagttcaa actcttgact ttgttaaca tagagaggag 6240

cctctcatat tcagtctag tctcacttc ccttcgtgc ccatgggtct ctgcagttat 6300

gaatctcatc aaaggacagg attcgactgc ctccctgctt aatgttaaga tatcatcact 6360

atcagcaagg ttctcataga gctcagagaa ttcttgatc aagccttcag ggttacttt 6420

ctgaaagttt ctcttaatt tccacttc taaatctctt ctaaactgc tgaaaagaga 6480

gtttattcca aaaaccacat catcacagct catgtgggg ttgatgcctt cgtggcacat 6540

cctcataatt tcatcattgt gagttgacct cgcacttc agaatttca tagagtccat 6600

ES 3 017 684 T3

accggagcgc ttgtcgatag tagtcttcag ggactcacag agtctaaaat attcagactc 6660

ttcaaagact ttctcatttt ggtagaata ctccaaaagt ttgaataaaa ggtctctaaa 6720

ttgaagttt gccactctg gcataaaact attatcataa tcacaacgac catctactat 6780

tggaactaat gtgacacccg caacagcaag gtcttcctg atgcatgccca atttgtagt 6840

gtcctctata aatttctct caaaactggc tggagtgtc ctaacaaaac actcaagaag 6900

aatgagagaa ttgtctatca gcttgtaacc atcaggaatg ataagtgga gtctgggca 6960

tacaattcca gactccacca aaattgttc cacagactta tcgtcgtgtg tgtgtgtgca 7020

gccactctg tctgcactgt ctatttcaat gcagcgtgac agcaactga gtccctcaat 7080

cagaaccatt ctgggttccc ttgtcccag aaagtgagt ttctgcctg acaacctctc 7140

atcctgttct atatagtta aacataactc tctcaattct gagatgattt catccattgc 7200

gcatcaaaaa gcctaggatc ctgggtgcg 7229

REIVINDICACIONES

1. Arenavirus para su aplicación en el tratamiento de un tumor en un ser humano, provocándose una regresión tumoral, estando el arenavirus libre de ARN exógeno genómico, siendo el arenavirus el virus de la coriomeningitis linfocítica, cepa WE.
- 5 2. Arenavirus para su aplicación según la reivindicación 1, comprendiendo el tratamiento la activación de células inmunitarias innatas y adaptativas, con lo que se provoca una regresión tumoral.
3. Arenavirus para su aplicación según la reivindicación 1 o 2, siendo el tumor un carcinoma, melanoma, blastoma, linfoma o sarcoma.
- 10 4. Medicamento para su aplicación en el tratamiento de un tumor, en un ser humano presentado el medicamento un arenavirus según una de las reivindicaciones anteriores, así como preferiblemente un portador farmacéuticamente aceptable.

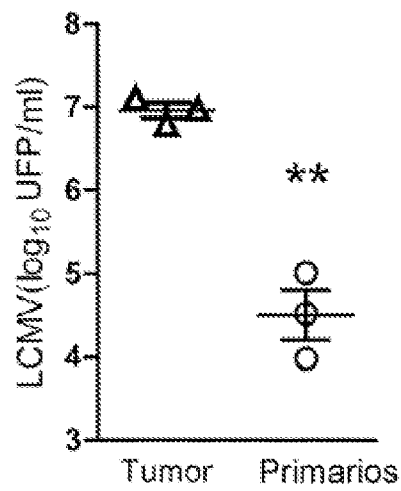


Figura 1

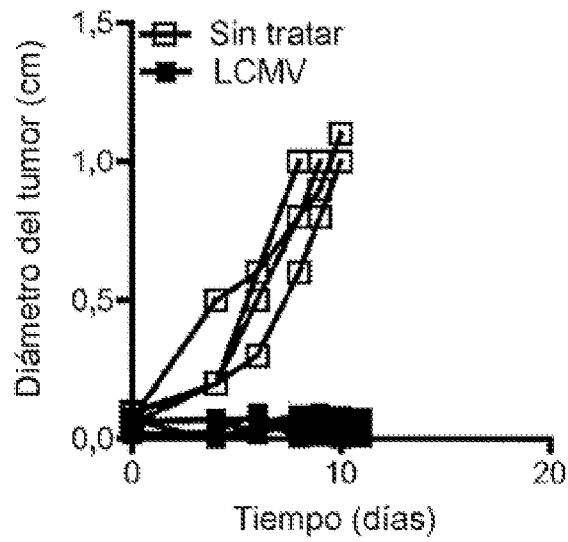


Figura 2

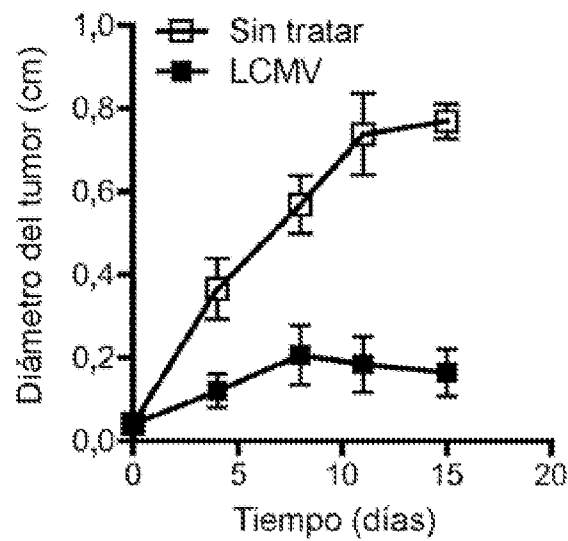


Figura 3

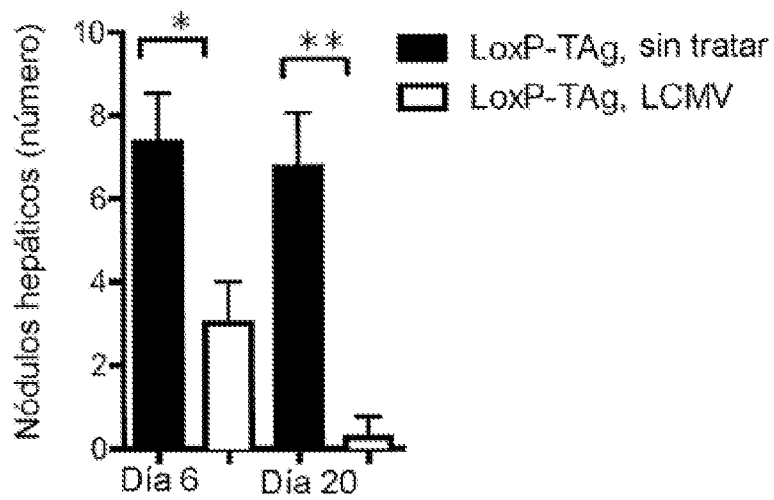


Figura 4

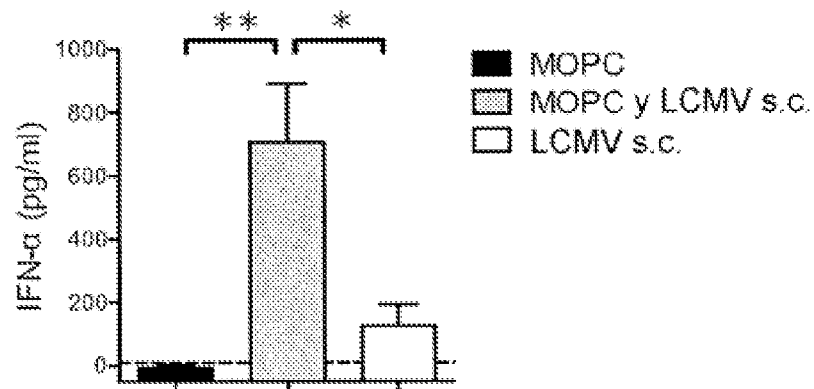


Figura 5

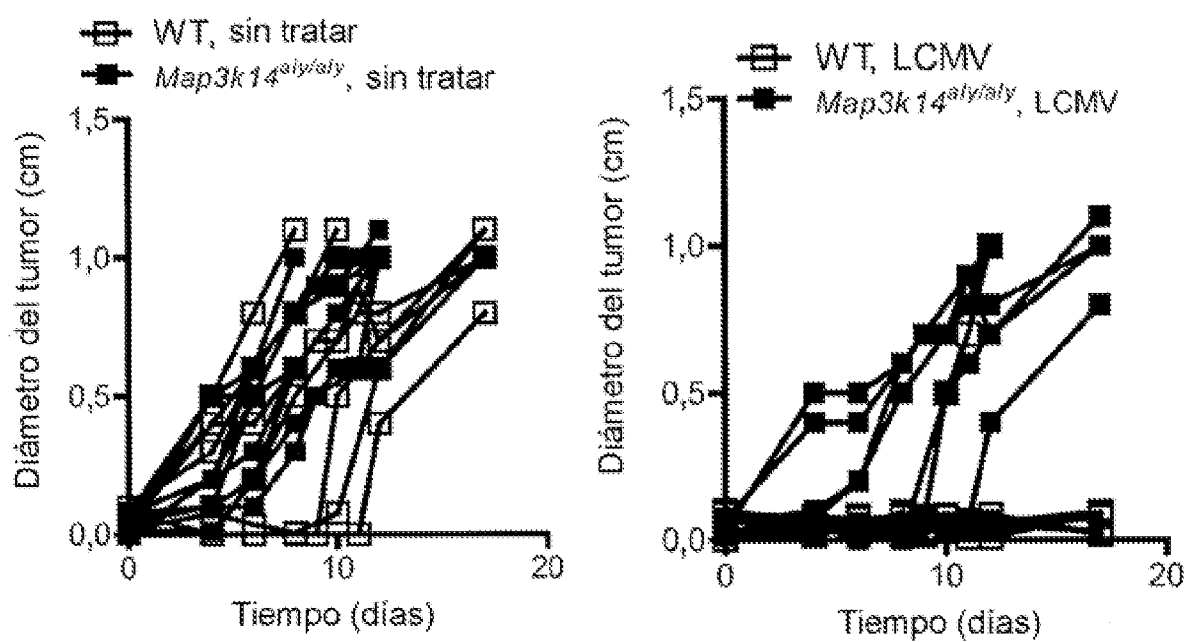


Figura 6

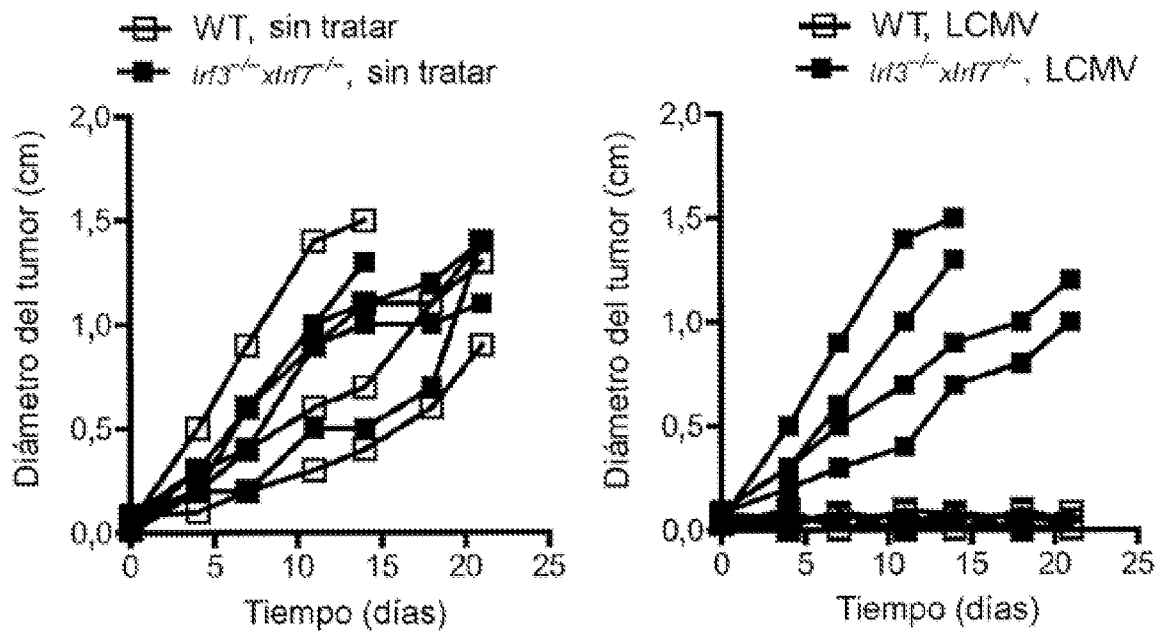


Figura 7

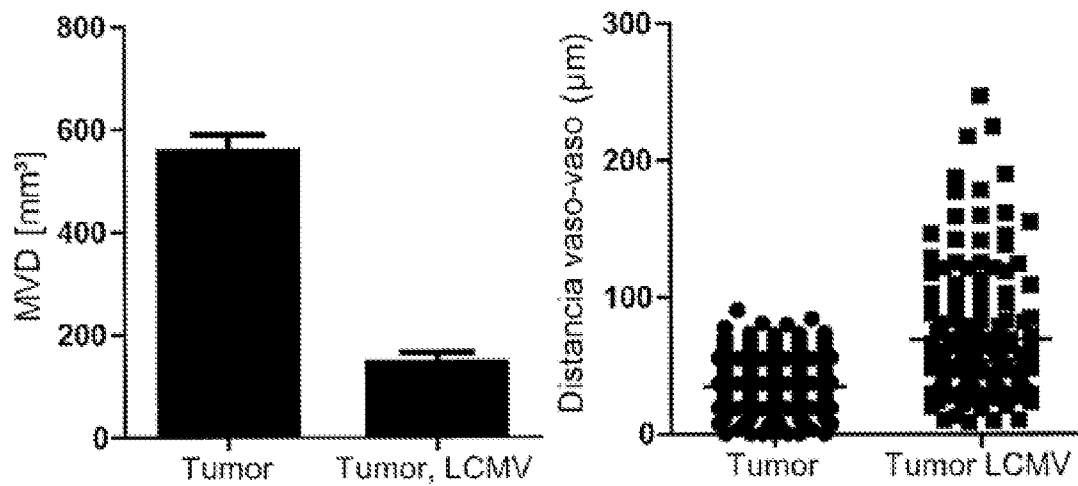


Figura 8A

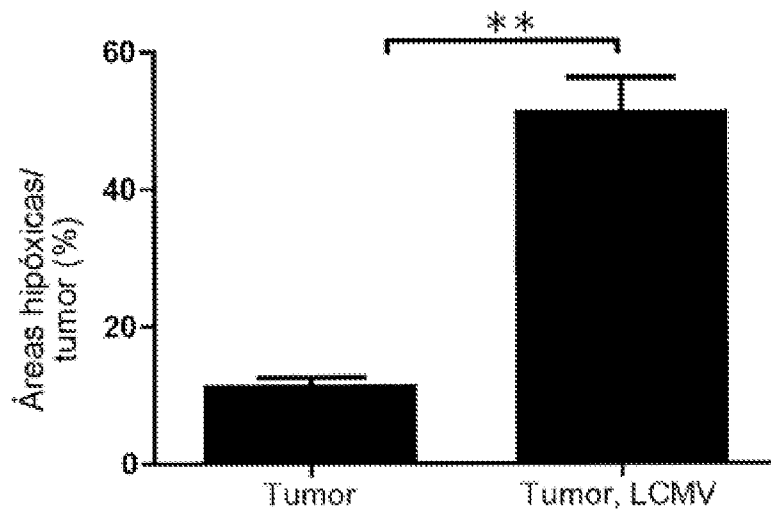


Figura 8B

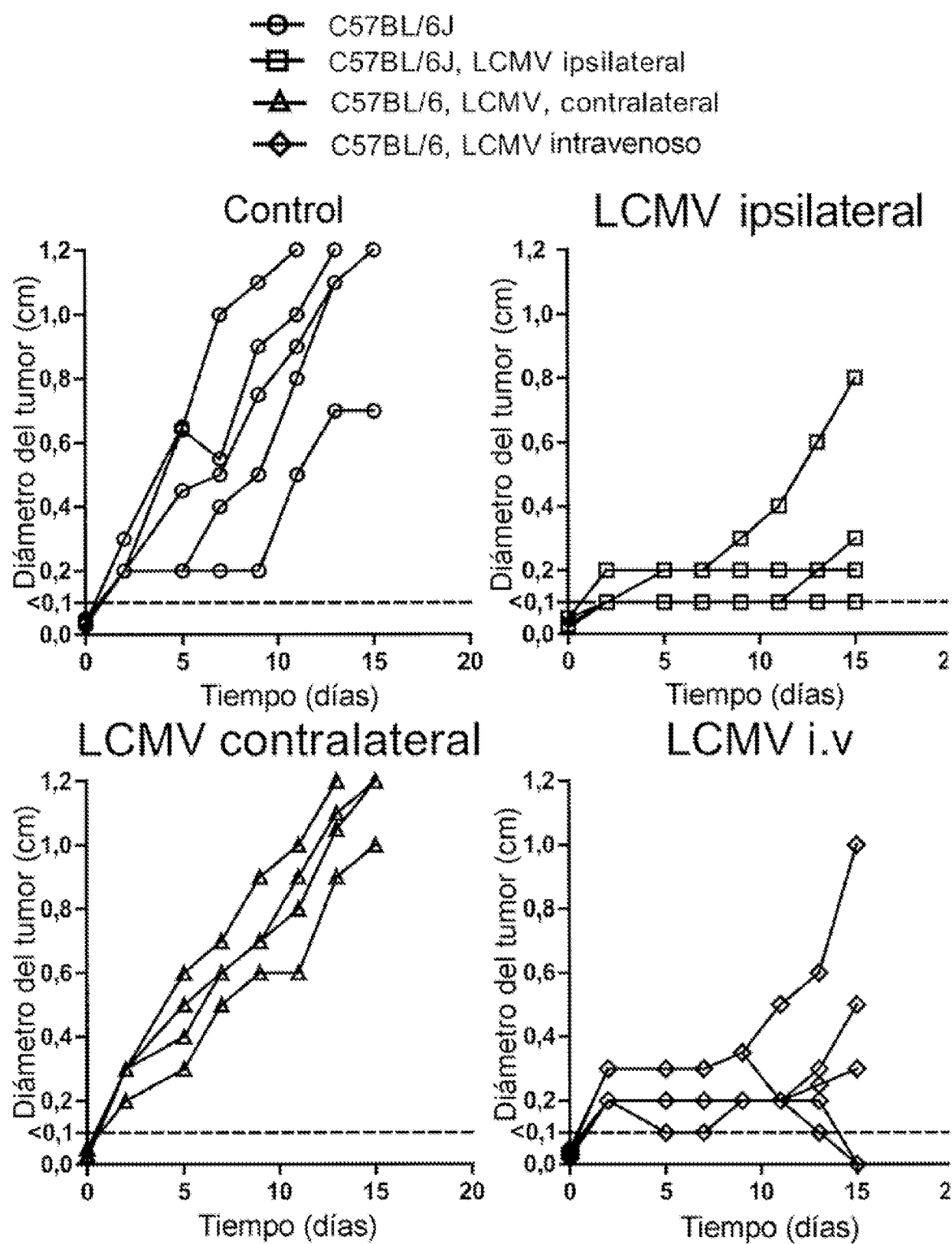


Figura 9

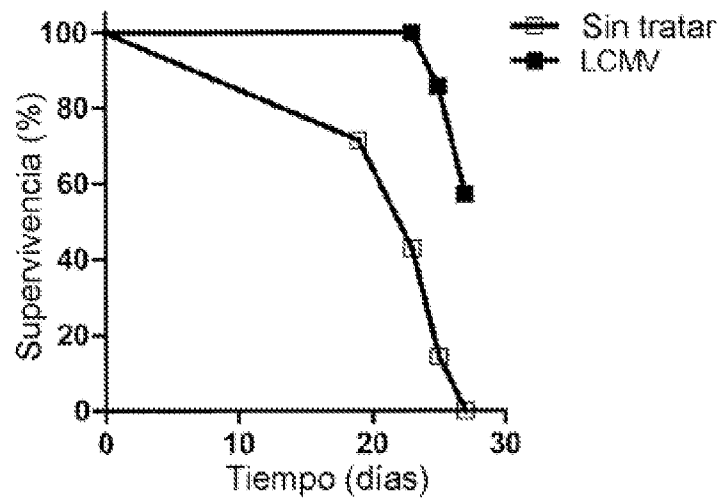


Figura 10

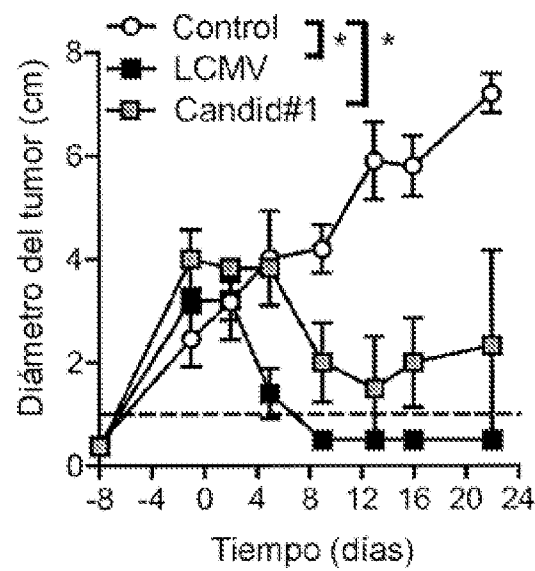


Figura 11

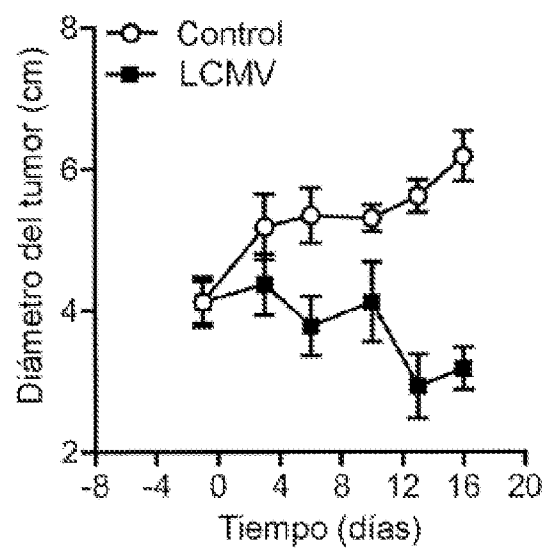


Figura 12

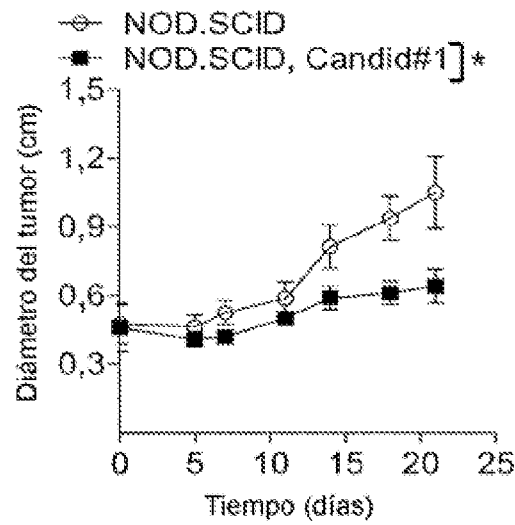


Figura 13

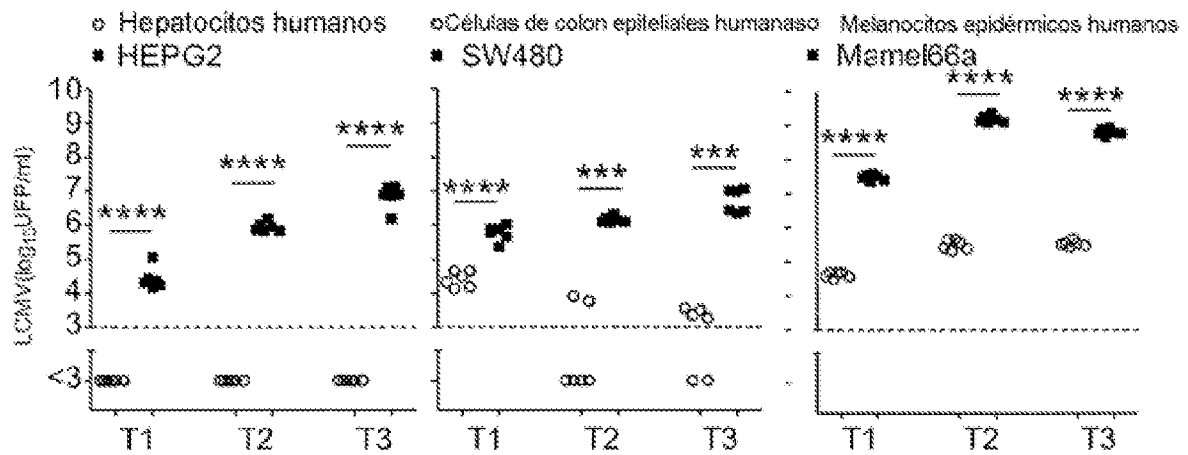


Figura 14

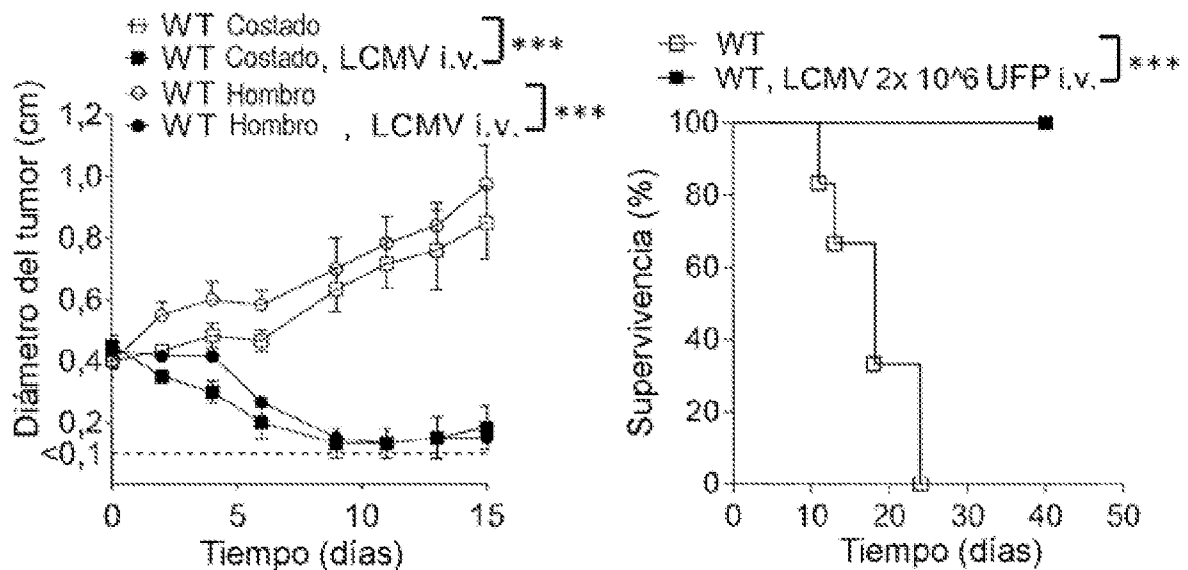


Figura 15 A

Figura 15 B

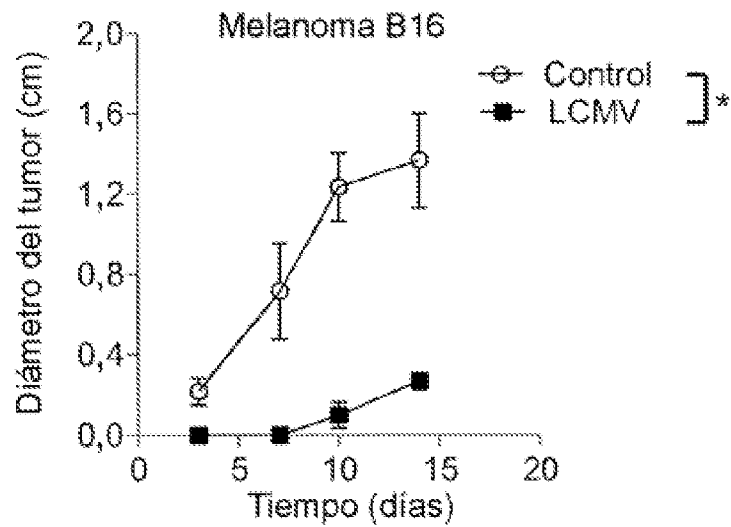


Figura 16

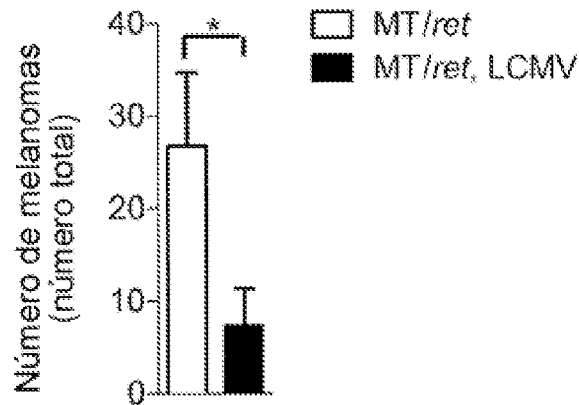


Figura 17

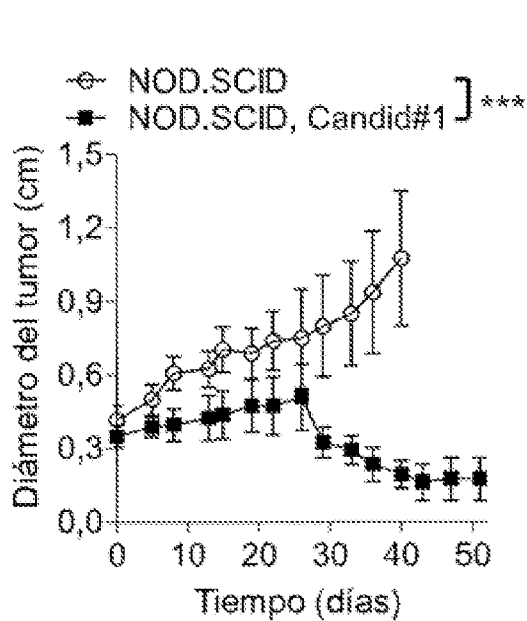


Figura 18 A

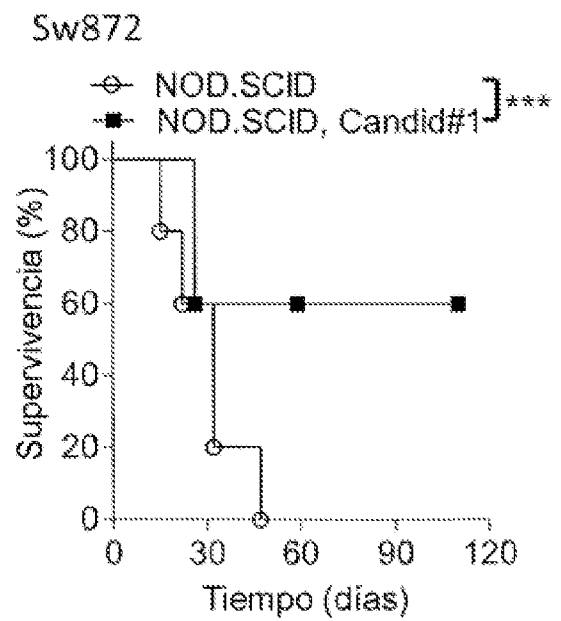


Figura 18 B

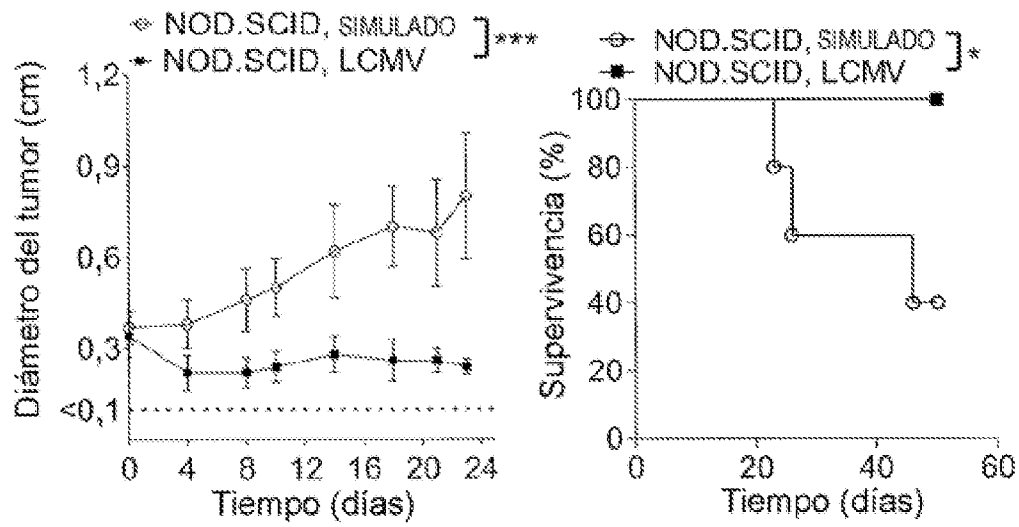


Figura 19 A

Figura 19 B

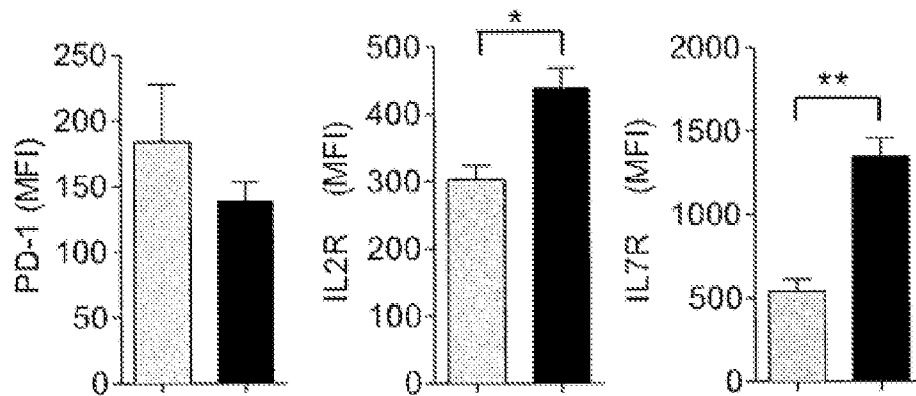


Figura 20

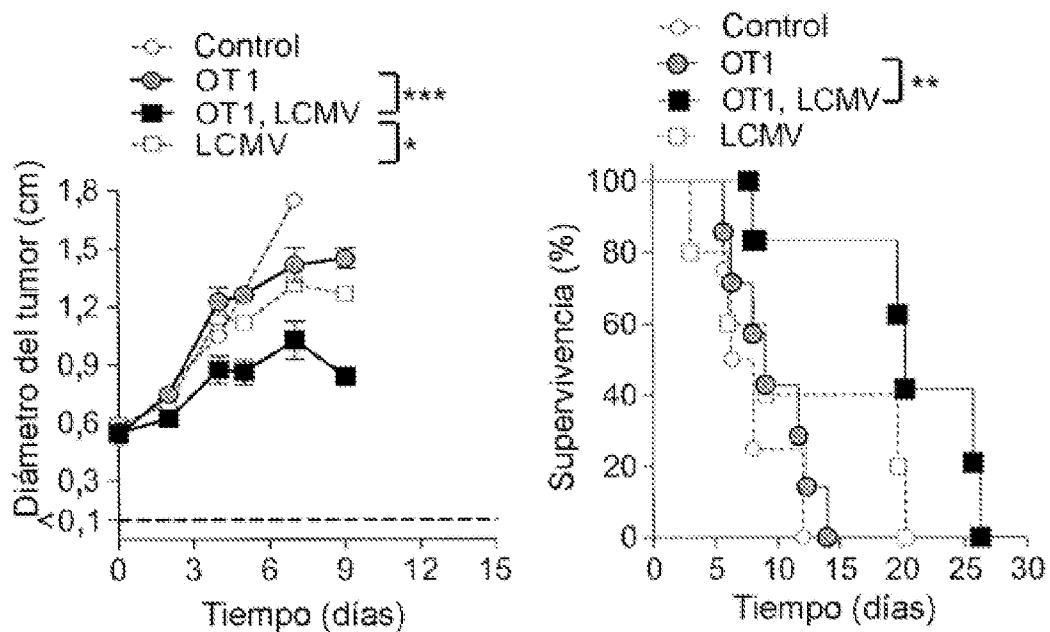


Figura 21 A

Figura 21 B

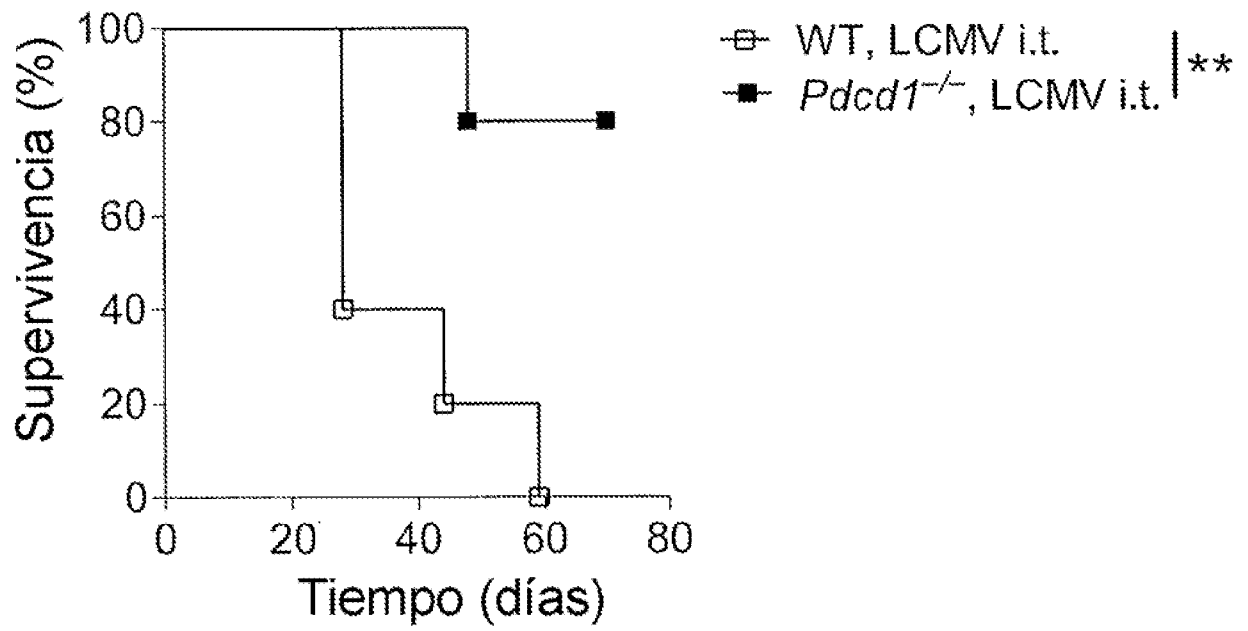


Figura 22