

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 812 280**

51 Int. Cl.:

C12N 15/67 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

C12N 15/63 (2006.01)

A61K 39/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.02.2013** **E 18153324 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.06.2020** **EP 3348645**

54 Título: **Ácido nucleico que comprende o codifica para un tallo-bucle de histona y una secuencia poli(A) o una señal de poliadenilación para aumentar la expresión de un antígeno patogénico codificado**

30 Prioridad:

15.02.2012 WO PCT/EP2012/000673

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

16.03.2021

73 Titular/es:

**CUREVAC AG (100.0%)
Friedrich-Miescher-Straße 15
72076 Tübingen, DE**

72 Inventor/es:

**THESS, ANDREAS;
SCHLAKE, THOMAS y
PROBST, JOCHEN**

74 Agente/Representante:

BUENO FERRÁN , Ana María

ES 2 812 280 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

Ácido nucleico que comprende o codifica para un tallo-bucle de histona y una secuencia poli(A) o una señal de poliadenilación para aumentar la expresión de un antígeno patogénico codificado

5

La presente invención se refiere a una secuencia de ácido nucleico como se define en las reivindicaciones adjuntas, que comprende o codifica para una región codificante, codificando para al menos un péptido o proteína que comprende un antígeno patogénico o un fragmento del mismo, al menos un tallo-bucle de histona y una secuencia poli(A). Además, la presente invención proporciona el uso del ácido nucleico para aumentar la expresión de dicho péptido o proteína codificados *in vitro*. También se describe su uso para la preparación de una composición farmacéutica, en especial una vacuna, por ejemplo para utilizarse en el tratamiento de enfermedades infecciosas. La presente invención describe además un método *in vitro* o *ex vivo* para aumentar la expresión de un péptido o proteína que comprende un antígeno patogénico o un fragmento del mismo utilizando el ácido nucleico que comprende o codifica para un tallo-bucle de histona y una secuencia poli(A).

10

El aumento de una inmunidad adaptativa mediante vacunación se dirige a estimular respuestas efectivas contra antígenos específicos presentes en patógenos *in vivo*. Los métodos tradicionales de vacunación utilizando patógenos atenuados vivos o muertos por calor han tenido éxito en la prevención y el tratamiento de enfermedades infecciosas tales como viruela, polio y difteria, pero existen enfermedades graves para las que no está disponible una vacuna efectiva (por ejemplo malaria y VIH), o la vacuna disponible sólo proporciona una protección transitoria o parcial (por ejemplo cólera y gripe). Las estrategias más modernas se dirigen a antígenos seleccionados diana para subconjuntos de células presentadoras de antígenos y que dirigen el sistema inmune hacia las respuestas inmunes de tipo Th1 y/o Th2 asociadas con la protección contra el patógeno específico. Estas estrategias exclusivamente dirigidas también pueden conducir al desarrollo de vacunas terapéuticas capaces de superar algunas de las deficiencias inmunitarias inducidas por patógenos para una evasión inmune (Gamvrellis, A., D. Leong *et al.* (2004), *Immunology and Cell Biology* 82, 506–516.). Una de estas estrategias novedosas es la vacunación genética.

15

20

25

La terapia génica y la vacunación genética son métodos de medicina molecular que ya se han probado en la terapia y la prevención de enfermedades y, en general, tienen un efecto considerable sobre la práctica médica diaria, en particular respecto al tratamiento de enfermedades como se mencionó anteriormente. Ambos métodos, la terapia génica y la vacunación genética, se basan en la introducción de ácidos nucleicos en las células o tejido del paciente y en el procesamiento posterior de la información codificada por el ácido nucleico introducido en las células o tejido, es decir la expresión (proteína) de los polipéptidos deseados.

30

En los procedimientos de terapia génica, se utiliza típicamente ADN, incluso aunque también se conoce el ARN de desarrollos recientes. Es de señalar que en todos estos procedimientos de terapia génica el ARNm funciona como mensajero para la información de secuencia de la proteína codificada independientemente de si se utiliza ADN, ARN viral o ARNm.

35

En general se considera que el ARN es una molécula inestable: las ARNsas son ubicuas y notoriamente difíciles de inactivar. Además, el ARN también es químicamente más lábil que el ADN. Así, quizá es sorprendente que el “estado predeterminado” de un ARNm de una célula eucariota esté caracterizado por una estabilidad relativa y se requieren señales específicas para acelerar la degradación de los ARNm individuales. La razón principal de este hallazgo parece ser que el ARNm descompuesto dentro de las células es catalizado casi exclusivamente por exonucleasas. Sin embargo, los extremos de los ARNm eucariotas están protegidos contra estas enzimas por estructuras terminales específicas y sus proteínas asociadas: un m7GpppN CAP en el extremo 5' y típicamente una secuencia poli(A) en el extremo 3'. La eliminación de estas dos modificaciones terminales se consideran así limitantes de la velocidad de degradación del ARNm. Aunque se ha caracterizado un elemento estabilizante en la 3' UTR del ARNm de la alfa-globina, las secuencias de ARN que afectan al recambio de los ARNm eucariotas típicamente actúan como un promotor de la degradación general al acelerar la desadenilación (revisado en Meyer, S., C. Temme, *et al.* (2004), *Crit Rev Biochem Mol Biol* 39(4): 197-216.).

40

45

Como se mencionó anteriormente, los extremos 5' de los ARNm eucariotas típicamente están modificados post-transcripcionalmente para portar una estructura CAP metilada, por ejemplo m7GpppN. Además de las funciones de empalme, estabilización y transporte del ARN, la estructura CAP mejora significativamente el reclutamiento de la subunidad ribosómica 40S en el extremo 5' del ARNm durante el inicio de la traducción. La última función requiere el reconocimiento de la estructura CAP por el complejo factor de iniciación eucariota eIF4F. La secuencia poli(A) adicionalmente estimula la traducción vía el reclutamiento aumentado de la subunidad 40S para los ARNm, un efecto que requiere la intervención de la proteína de unión con poli(A) (PABP). La PABP, a su vez, recientemente ha demostrado interactuar físicamente con eIF4G, que forma parte del complejo eIF4F unido a CAP. Así, se ha postulado un modelo de bucle cerrado del inicio de la traducción

50

55

en los ARNm poliadenilados, terminados en CAP (Michel, Y. M., D. Poncet, *et al.* (2000), *J Biol Chem* 275(41): 32268-76.).

Prácticamente todos los ARNm eucariotas terminan con esta secuencia poli(A) que se agrega a su extremo 3' mediante el mecanismo de segmentación/poliadenilación ubicua. La presencia de una secuencia poli(A) en el extremo 3' es una de las características más reconocibles de los ARNm eucariotas. Después de la segmentación, la mayoría de los pre-ARNm, con la excepción de los transcritos de histona dependientes de la replicación, adquieren una cola poliadenilada. En este contexto, el procesamiento del extremo 3' es un proceso co-transcripcional nuclear que estimula el transporte de los ARNm desde el núcleo al citoplasma y afecta a la estabilidad y la traducción de los ARNm. La formación de este extremo 3' ocurre en una reacción en dos pasos dirigida por el mecanismo de segmentación/poliadenilación y depende de la presencia de dos elementos de secuencia en los precursores del ARNm (pre-ARNm); un hexanucleótido altamente conservado AAUAAA (señal de poliadenilación) y una secuencia rica en G/U aguas abajo. En un primer paso, los pre-ARNm se segmentan entre estos dos elementos. En un segundo paso estrechamente unido al primer paso, el extremo 3' recién formado se extiende por la adición de una secuencia poli(A) consistente en 200-250 adenilatos, lo cual afecta posteriormente a todos los aspectos del metabolismo del ARNm, incluyendo la exportación, estabilidad y traducción del ARNm (Dominski, Z. y W. F. Marzluff (2007), *Gene* 396(2): 373-90.).

La única excepción conocida a esta regla son los ARNm de histonas dependientes de la replicación que terminan con un tallo-bucle de histona en lugar de una secuencia poli(A). Secuencias tallo-bucle de histona ilustrativas se describen en Lopez *et al.* (Dávila López, M., & Samuelsson, T. (2008), *RNA (New York, N.Y.)*, 14(1), 1-10. doi:10.1261/rna.782308.).

Los tallos-bucle de histona en los pre-ARNm típicamente están seguidos por una secuencia rica en purina conocida como elemento aguas debajo de histona (HDE). Estos pre-ARNm se procesan en el núcleo mediante una única segmentación endonucleolítica de aproximadamente 5 nucleótidos aguas abajo del tallo-bucle, catalizada por el U7 RNPsn por apareamiento de bases del U7 ARNsn con el HDE. La secuencia 3'-UTR que comprende la estructura de tallo-bucle de histona y el elemento aguas abajo de histona (HDE) (el sitio de unión del U7 RNPsn) se denominaron en general como la señal de procesamiento 3' de la histona (véase, por ejemplo, Chodchoy, N., N. B. Pandey, *et al.* (1991). *Mol Cell Biol* 11(1): 497-509).

Debido al requisito de empaquetar un ADN recién sintetizado en la cromatina, la síntesis de histonas es regulada de acuerdo con el ciclo celular. Se consigue una síntesis aumentada de proteínas histona durante la fase S mediante la activación transcripcional de los genes de histona, así como por la regulación post-transcripcional de los niveles de ARNm de la histona. Se podía demostrar que el tallo-bucle de histona es esencial para todos los pasos post-transcripción de la regulación de la expresión de histonas. Para un procesamiento eficiente es necesaria la exportación del ARNm en el citoplasma, la carga sobre los polirribosomas y la regulación de la estabilidad del ARNm.

En el contexto anterior, se identificó una proteína de 32 kDa que está asociada con el tallo-bucle de histona en el extremo 3' de los mensajes de histona tanto en el núcleo como en el citoplasma. El nivel de expresión de esta proteína de unión al tallo-bucle (SLBP) se regula por el ciclo celular y es mayor durante la fase S, cuando aumentan los niveles de ARNm de histona. La SLBP es necesaria para un procesamiento eficiente en el extremo 3' del pre-ARNm de la histona mediante el U7 RNPsn. Después del procesamiento, la SLBP permanece asociada al tallo-bucle en el extremo de los ARNm de la histona madura y estimula su traducción en proteínas histona en el citoplasma (Dominski, Z. and W. F. Marzluff (2007), *Gene* 396(2): 373-90). De manera interesante, el dominio de unión del ARN de la SLBP se conserva en todos los metazoarios y protozoarios (Dávila López, M. y Samuelsson, T. (2008), *RNA (New York, N.Y.)*, 14(1), 1-10. doi:10.1261/rna.782308) y se podía demostrar que su unión a la secuencia tallo-bucle de histona depende de la estructura del tallo-bucle y que el sitio de unión mínima contiene al menos 3 nucleótidos 5' y 2 nucleótidos 3' del tallo-bucle (Pandey, N. B., *et al.* (1994), *Molecular and Cellular Biology*, 14(3), 1709-1720 and Williams, A. S., & Marzluff, W. F., (1995), *Nucleic Acids Research*, 23(4), 654-662.).

Incluso aunque los genes de histona se clasifican generalmente como "dependientes de la replicación", dando lugar a la terminación del ARNm en un tallo-bucle de histona, o como de "tipo reemplazamiento", dando lugar a un ARNm que porta una cola poli(A) en su lugar, en casos raros se han identificado ARNm de origen natural que contienen tanto un tallo-bucle de histona y una poli(A) u oligo(A) 3' de los mismos. Sánchez *et al.* examinaron el efecto de las colas oligo(A) de origen natural 3' anexas al tallo-bucle del ARNm de histona durante la ovogénesis de *Xenopus* utilizando luciferasa como proteína reportera y encontraron que la cola oligo(A) es parte activa del mecanismo de represión de la traducción que silencia el ARNm de histona durante la ovogénesis y su eliminación es parte del mecanismo que activa la traducción de los ARNm de histona (Sanchez, R. y W. F. Marzluff (2004), *Mol Cell Biol* 24(6): 2513-25).

Además, se han investigado los requisitos de la regulación de las histonas dependientes de la replicación al nivel del procesamiento de pre-ARNm y la estabilidad del ARNm utilizando constructos artificiales que codifican para

la proteína marcadora alfa-globina, aprovechando el hecho de que el gen de globina contiene intrones en oposición a los genes de histona, con menos intrones. Para ello, se generaron constructos donde las secuencias codificantes de alfa-globina estaban seguidas de una señal tallo-bucle de histona (el tallo-bucle de histona seguido por el elemento aguas abajo de histona) y una señal de poliadenilación (Whitelaw, E., *et al.* (1986). *Nucleic Acids Research*, 14(17), 7059-7070.; Pandey, N. B., & Marzluff, W. F. (1987). *Molecular and Cellular Biology*, 7(12), 4557-4559.; Pandey, N. B., *et al.* (1990). *Nucleic Acids Research*, 18(11), 3161-3170).

En otra aproximación, Lüscher *et al.* investigaron la regulación dependiente del ciclo celular de un gen H4 de histona recombinante. Se generaron constructos donde la secuencia de codificación H4 estaba seguida de una señal de tallo-bucle de histona y una señal de poliadenilación, las dos señales de procesamiento separadas incidentalmente por una secuencia codificadora de galactoquinasa (Lüscher, B. *et al.*, (1985). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82(13), 4389-4393).

Además, Stauber *et al.* identificaron la secuencia mínima requerida para conferir una regulación del ciclo celular sobre los niveles de ARNm de histona H4. Para estas investigaciones se emplearon constructos comprendiendo una secuencia codificadora para el marcador de selección xantina:guanina fosforibosil transferasa (GPT) que precede a una señal de tallo-bucle de histona seguida por una señal de poliadenilación (Stauber, C. *et al.*, (1986). *EMBO J*, 5(12), 3297-3303).

Examinando el procesamiento del pre-ARNm de histona, Wagner *et al.* identificaron factores necesarios para la segmentación de los pre-ARNm de histona utilizando un constructo reporter situando la EGFP entre una señal de tallo-bucle de histona y una señal de poliadenilación, de forma que la EGFP se expresaba únicamente en caso de interrumpirse el procesamiento del pre-ARNm de histona (Wagner, E. J. *et al.*, (2007). *Mol Cell* 28(4), 692-9).

Cabe señalar que la traducción del ARNm poliadenilado normalmente requiere que la secuencia 3' poli(A) esté próxima a la 5' CAP. Esto es mediado mediante la interacción proteína-proteína entre la proteína de unión a poli(A) y el factor de inicio eucariota eIF4G. Con respecto a los ARNm de histona dependientes de la replicación, no se ha descubierto un mecanismo análogo. En este contexto, Gallie *et al.* demuestran que el tallo-bucle de histona es funcionalmente similar a una secuencia poli(A) en que mejora la eficiencia traduccional y es co-dependiente de una 5'-CAP para establecer un nivel de traducción eficiente. Ellos demostraron que el tallo-bucle de histona es suficiente y necesario para aumentar la traducción de un ARNm reporter en células de ovario de hámster chino transfectadas, aunque se debe colocar en el extremo 3' para que funcione óptimamente. Por tanto, de forma similar a la cola poli(A) en otros ARNm, el extremo 3' de estos ARNm de histona parece ser esencial para la traducción *in vivo* y es funcionalmente análogo a una cola poli(A) (Gallie, D. R., Lewis, N. J., & Marzluff, W. F. (1996), *Nucleic Acids Research*, 24(10), 1954-1962).

Además, se podía demostrar que la SLBP está unida al ARNm de la histona citoplásmica y se requiere para su traducción. Incluso aunque la SLBP no interactúe directamente con eIF4G, el dominio requerido para la traducción del ARNm de histona interactúa con la proteína SLIP1, recientemente identificada. En un paso adicional, la SLIP1 interactúa con eIF4G y permite circularizar el ARNm de la histona y apoyar una traducción eficiente del ARNm de histona mediante un mecanismo similar a la traducción de los ARNm poliadenilados.

Como se mencionó anteriormente, los procedimientos de terapia génica normalmente utilizan ADN para transferir la información de codificación en la célula, que luego es transcrita en el ARNm, portando los elementos de origen natural de un ARNm, en particular la estructura 5'-CAP y la secuencia 3' poli(A) para asegurar la expresión de la proteína terapéutica o antigénica codificada.

Sin embargo, en muchos casos, los sistemas de expresión se basan en la introducción de estos ácidos nucleicos en el interior de células o tejido del paciente y la expresión posterior de los polipéptidos deseados codificados por estos ácidos nucleicos no presentan el nivel de expresión deseado o incluso requerido para una terapia eficiente, independientemente de si se utiliza ADN o ARN.

En la técnica anterior, hasta ahora se han realizado diferentes intentos para aumentar el rendimiento de la expresión de una proteína codificada, en particular empleando sistemas mejorados de expresión tanto *in vitro* como *in vivo*. Los métodos para aumentar la expresión descritos en general en la técnica anterior se basan en el uso de vectores de expresión o casetes que contengan promotores específicos y elementos de regulación correspondientes convencionales. Ya que estos vectores de expresión o casetes típicamente se limitan a sistemas celulares particulares, estos sistemas de expresión se deben adaptar para su uso en diferentes sistemas celulares. Estos vectores de expresión o casetes adaptados entonces normalmente se transfectan en células y se tratan típicamente según la línea celular específica. Por tanto, se da preferencia principalmente a aquellas moléculas de ácido nucleico que son capaces de expresar las proteínas codificadas en una célula diana mediante los sistemas inherentes en la célula, independientemente de los promotores y elementos de regulación que son específicos para los tipos celulares particulares. En este contexto, puede haber distinción entre los elementos estabilizantes del ARNm y los elementos que aumentan la eficacia de traducción del ARNm.

ARNm que están optimizados en su secuencia codificadora y que en general son adecuados para ello se describen en la solicitud WO 02/098443 (CureVac GmbH). Por ejemplo, la WO 02/098443 describe ARNm en general estabilizados y optimizados para la traducción en sus regiones codificantes. La WO 02/098443 describe además un método para determinar modificaciones de secuencia. La WO 02/098443 describe también
 5 posibilidades de sustitución de los nucleótidos adenina y uracilo en las secuencias de ARNm para aumentar el contenido guanina/citosina (G/C) de las secuencias. De acuerdo con la WO 02/098443, estas sustituciones y adaptaciones para aumentar el contenido de G/C se pueden utilizar para aplicaciones terapéuticas génicas, aunque también para vacunas genéticas en el tratamiento del cáncer o enfermedades infecciosas. En este contexto, la WO 02/098443 en general menciona secuencias como secuencias base para estas modificaciones,
 10 donde los códigos modificados del ARNm para al menos un péptido o polipéptido biológicamente activo, que es traducido en el paciente a tratar, por ejemplo, no son adecuadas en ningún caso o los son con errores. Alternativamente, la WO 02/098443 propone ARNm que codifican para antígenos, por ejemplo antígenos patogénicos o virales, como secuencia base para estas modificaciones.

En un procedimiento adicional para aumentar la expresión de una proteína codificada, la solicitud
 15 WO 2007/036366 describe el efecto positivo de secuencias poli(A) largas (en particular, más largas de 120 pb) y la combinación de al menos dos regiones no traducidas 3' del gen de beta-globina sobre la estabilidad del ARNm y la actividad traduccional. Además, la WO 2006/024518 A1 describe moléculas de ARN que codifican un antígeno patogénico y que comprenden una secuencia 3'-UTR de alfa- o beta-globina y una secuencia poli(A). Russel J.E. et al. (1996), Blood, (87), 5314-5323, indican elementos dentro de la 3'-UTR de alfa-globina,
 20 beta-globina e histonas que pueden estabilizar el ARN.

Así, incluso aunque todos estos últimos documentos de la técnica anterior ya tratan de proporcionar herramientas bastantes eficientes para los procedimientos de terapia génica y adicionalmente una estabilidad y actividad traduccional mejoradas del ARNm, siguen existiendo el problema de una estabilidad generalmente inferior de las aplicaciones basadas en ARN frete a las vacunas de ADN y de los procedimientos terapéuticos
 25 génicos basados en ADN. Por consiguiente, todavía existe una necesidad en la técnica de proporcionar herramientas mejoradas para los procedimientos de terapia y vacunación genética o como terapias suplementarias de los tratamientos convencionales, como se analizó anteriormente, que permitan una mejor provisión de proteínas codificadas *in vivo*, por ejemplo vía una estabilidad y/o actividad traduccional mejoradas del ARNm, preferentemente para la terapia y la vacunación genética.

Además, a pesar de todo el progreso en la técnica, la expresión eficiente de un péptido o proteína codificados en sistemas libres de células, células u organismos (expresión recombinante) sigue siendo un problema desafiante.

Por tanto, el objetivo de la presente invención es proporcionar métodos adicionales y/o alternativos para
 35 aumentar la expresión de una proteína codificada, preferentemente vía una estabilización adicional del ARNm y/o un aumento de la eficacia traduccional de este ARNm con respecto a los ácidos nucleicos conocidos de la técnica anterior para el uso en vacunación genética en el tratamiento terapéutico o profiláctico de enfermedades infecciosas.

Este objetivo se resuelve según el objeto de las reivindicaciones adjuntas. En particular, el objetivo de la
 40 presente invención se resuelve según un primer aspecto mediante una secuencia de ácido nucleico de la invención que comprende o codifica en la dirección 5' → 3':

- i)
 - una región codificante, que codifica para al menos un péptido o proteína (a);
 - al menos un tallo-bucle de histona (b), y
 - una secuencia poli(A) (c),
- 45 o
- ii)
 - una región codificante, que codifica para al menos un péptido o proteína (a);
 - una secuencia poli(A) (c), y
 - al menos un tallo-bucle de histona (b),

50 donde el al menos un tallo-bucle de histona de i) o ii) se selecciona de las SEQ ID NO: 27 y SEQ ID NO: 42; y donde dicho péptido o proteína comprende un antígeno patogénico o un fragmento del mismo con una longitud de al menos seis residuos aminoácidos y con la propiedad antigénica específica del péptido o proteína de longitud completa,

55 donde el antígeno patogénico está asociado a una infección bacteriana, una infección viral o una infección protozoaria y donde el antígeno patogénico se selecciona de un antígeno patogénico de un patógeno del grupo consistente en:

- Virus sincitial respiratorio (RSV),
- Virus de la inmunodeficiencia humana (VIH),
- Virus del herpes simplex (HSV),
- Virus de papiloma humano (HPV),
- 5 • Virus de parainfluenza humana (HPIV),
- Virus del Dengue,
- Virus de la Hepatitis B (HBV),
- Virus de Influenza,
- Virus de fiebre amarilla,
- 10 • Virus de la rabia,
- Plasmodium,
- Cytomegalovirus (CMV),
- Staphylococcus,
- Mycobacterium tuberculosis,
- 15 • Chlamydia trachomatis,
- Rotavirus,
- Metapneumovirus Humano (hMPV),
- Virus de fiebre hemorrágica de Crimea-Congo (CCHF),
- Virus de ébola,
- 20 • Henipavirus,
- Norovirus,
- Virus Lassa,
- Coronavirus,
- Rinovirus,
- 25 • Flavivirus,
- Virus de fiebre Rift Valley y
- Virus de la enfermedad de manos, pies y boca.

De acuerdo con realizaciones no reivindicadas, en todos los aspectos y realizaciones aquí descritas puede emplearse cualquier secuencia tallo-bucle diferente a una secuencia tallo-bucle de histona (derivada de genes de histona, en particular de genes de histona de las familias H1, H2A, H2B, H3 y H4).

Es particularmente preferente que el ácido nucleico de la invención de acuerdo con el primer aspecto de la presente invención se produzca al menos parcialmente mediante síntesis de ADN o ARN, de preferencia como se describe aquí o sea un ácido nucleico aislado.

La presente invención se basa en el hallazgo sorprendente de los presentes inventores de que la combinación de una secuencia poli(A) y al menos un tallo-bucle de histona, incluso aunque ambos representen mecanismos alternativos por naturaleza, actúa sinérgicamente, ya que esta combinación aumenta la expresión proteínica muchas veces por encima del nivel observado con cualquiera de los elementos individuales. El efecto sinérgico de la combinación de poli(A) y al menos un tallo-bucle de histona es visto independientemente del orden de la poli(A) y el tallo-bucle de histona e independientemente de la longitud de la secuencia poli(A).

Por tanto, más en general, la presente invención se refiere a un ácido nucleico que comprende o codifica para una región codificante, codificando al menos un péptido o proteína que comprende un antígeno patogénico o un fragmento, al menos un tallo-bucle de histona y una secuencia poli(A), preferentemente para aumentar la expresión de dicho péptido o proteína codificados. Alternativamente, se describe (no se reivindica) que puede emplearse cualquier secuencia tallo-bucle apropiada diferente de una secuencia tallo-bucle de histona.

Se prefiere particularmente que la secuencia de ácido nucleico inventiva comprenda o codifique para a) una región codificante, que codifica al menos para un péptido o proteína que comprende un antígeno patogénico o un fragmento tal como se define aquí; b) al menos un tallo-bucle de histona como se define aquí y c) una secuencia poli(A); preferentemente para aumentar el nivel de expresión de dicho péptido o proteína codificados. La proteína codificada como se define en la reivindicación 1 típicamente no es una proteína de histona, en particular ninguna proteína de histona de las familias de histonas H4, H3, H2A y/o H2B o un fragmento, derivado o variante de las mismas que conserve una función de (similar a) histona, esto es que forme un nucleosoma. También, la proteína codificada típicamente no se corresponde con una proteína enlazante de histona de la familia de histonas H1. La molécula de ácido nucleico inventiva típicamente no contiene ninguna de las señales reguladoras (5' y/o en particular 3') de un gen de histona de ratón, en particular no un gen de histona de ratón H2A y, además, con mayor preferencia, no el gen de histona de ratón H2A614. En particular, no contiene un tallo-bucle de histona y/o una señal de procesamiento de tallo-bucle de histona de un gen de histona de ratón,

en particular no un de gen de histona de ratón H2A y, con mayor preferencia, no de un gen de histona de ratón H2A614.

5 También típicamente el ácido nucleico de la invención no proporciona una proteína reportera (por ejemplo luciferasa, GFP, EGFP, β-galactosidasa, en particular EGFP), galactoquinasa (galk) y/o una proteína marcadora o de selección (por ejemplo alfa-globina, galactoquinasa y xantina:guanina-fosforribosiltransferasa (GPT)) o una proteína reportera bacteriana, por ejemplo cloranfenicol-acetiltransferasa (CAT) u otras proteínas de resistencia a antibióticos bacterianos, por ejemplo derivadas de *neo* gen bacteriano, en su elemento (a).

10 Típicamente se entiende que una proteína reportera, marcadora o de selección no es una proteína antigénica de acuerdo con la invención. Una proteína reportera, marcadora o de selección o su gen subyacente se utiliza habitualmente como una herramienta de búsqueda en bacterias, cultivos celulares, animales o plantas. Confieren (de preferencia heterológamente) a los organismos que los que expresan una propiedad fácilmente identificable que se puede medir o que permite la selección. Específicamente, las proteínas marcadoras o de selección tienen una función seleccionable. Típicamente, en esta selección, las proteínas marcadoras o reporteras no son de origen natural en humanos u otros mamíferos, sino que se derivan de otros organismos, en particular de bacterias o plantas. Por consiguiente, las proteínas con una función de selección, marcadora o reportera que se originan de especies inferiores (por ejemplo bacterias) preferentemente son excluidas de entenderse como "proteínas antigénicas" de acuerdo con la presente invención. A este respecto, se debe entender que una proteína antigénica corresponde a una proteína que desencadena una reacción inmunológica que permite proteger inmunológicamente al sujeto contra una infección mediante un organismo o virus que ejerce una reacción patológica en el sujeto, dando como resultado un estado de enfermedad. En particular, una proteína de selección, marcadora o reportera permite identificar células transformadas mediante ensayos *in vitro*, por ejemplo basados en técnicas de fluorescencia u otras técnicas espectroscópicas y proporcionar resistencia a los antibióticos. Por tanto, los genes de selección, reporteros o marcadores que otorgan estas propiedades a las células transformadas típicamente no se entienden como proteínas antigénicas patológicas de acuerdo con la invención.

15 En cualquier caso, las proteínas reporteras, marcadores o de selección normalmente no ejercen ningún efecto antigénico como resultado de la respuesta inmunológica (del sujeto a tratar) hacia el antígeno patogénico. Si cualquier proteína reportera, marcadora o de selección individual en cualquier caso lo hiciera (además de su función reportera, de selección o marcadora), tal proteína reportera, marcadora o de selección típicamente no se entiende como un "antígeno patogénico" dentro del significado de la presente invención.

20 Por el contrario, un antígeno patogénico (incluyendo sus fragmentos) según la presente invención típicamente no tiene una función de selección, marcadora o reportera. Si cualquier "antígeno patogénico" individual en cualquier caso lo hace (además de su función antigénica), este antígeno patogénico preferentemente no se entiende como una "proteína de selección, marcadora o reportera" dentro del significado de la presente invención.

25 De mayor preferencia se entiende que un antígeno patogénico de acuerdo con la invención es un antígeno patogénico de organismos patogénicos, preferentemente de bacterias o virus, que ejerce una función inmunológica. Típicamente estos antígenos no se califican como una proteína de selección, marcadora o reportera.

30 Así, la región codificante (a) que codifica al menos para un péptido o proteína como se define aquí preferentemente es heteróloga para al menos (b) el al menos un tallo-bucle de histona como se define aquí o más ampliamente para cualquier tallo-bucle adecuado. En otras palabras, "heterólogo" en el contexto de la presente invención significa que la al menos una secuencia tallo-bucle no es de forma natural una secuencia (reguladora) (por ejemplo en la 3' UTR) del gen específico que codifica para la proteína antigénica (patogénica) o el péptido del elemento (a) del ácido nucleico inventivo. Por consiguiente, el tallo-bucle (de histona) del ácido nucleico inventivo preferentemente se deriva de la 3' UTR de un gen distinto al que comprende la región codificante del elemento (a) del ácido nucleico inventivo. Por ejemplo, la región codificante del elemento (a) no codificará una proteína de histona o un fragmento, variante o derivado de la misma (que conserve la función de una proteína de histona) si el ácido nucleico inventivo es heterólogo, pero codificará cualquier otro péptido o secuencia (de la misma u otra especie) como se define aquí que ejerza una función antigénica distinta de la función de (similar) histona, por ejemplo codificará para una proteína antigénica (que ejerza una función antigénica, por ejemplo desencadenando la reacción del sistema inmune del sujeto, por ejemplo mediante una reacción del anticuerpo), permitiendo así que el ácido nucleico inventivo actúe como una vacuna, por ejemplo en mamíferos, en particular en seres humanos.

35 De acuerdo con un primer aspecto, el ácido nucleico de la invención según la reivindicación 1 comprende o codifica en la dirección 5'- o 3'-:

- una región codificante que codifica para al menos un péptido o proteína que comprende un antígeno patogénico o un fragmento del mismo como se define en la reivindicación 1 a);
 - al menos un tallo-bucle de histona seleccionado de las SEQ ID NO: 27 y SEQ ID NO: 42, opcionalmente sin un elemento 3' (HDE) aguas debajo de la histona al tallo-bucle de histona b); y
- 5 - una secuencia poli(A) c).

El término "elemento aguas debajo de la histona (HDE)" se refiere a un tramo de polinucleótidos rico en purina, de aproximadamente 5 a 20 nucleótidos, 3' de los tallos-bucle de histona de origen natural, lo que representa el sitio de unión para el U7 ARNs implicado en el procesamiento del pre-ARNm de histona en el ARNm de histona maduro. Por ejemplo, en los erizos de mar el HDE es CAAGAAAGA (Dominski, Z. and W. F. Marzluff (2007), Gene 396(2): 373-90).

10

Además, se prefiere que el ácido nucleico inventivo de acuerdo con el primer aspecto de la presente invención no comprenda un intrón.

O, la secuencia del ácido nucleico inventivo de acuerdo con la reivindicación 1 según el primer aspecto de la presente invención comprende o codifica para, de 5' a 3':

- 15 - una región codificante que codifica para al menos un péptido o proteína que comprende un antígeno patogénico o un fragmento del mismo como se define en la reivindicación 1 a);
- una secuencia poli(A) c); y
- al menos un tallo-bucle de histona seleccionado de las SEQ ID NO: 27 y SEQ ID NO: 42 b).

La secuencia de ácido nucleico inventivo puede comprender cualquier ácido nucleico adecuado, seleccionado por ejemplo de cualquier ADN (de cadena simple o doble), preferentemente, sin limitarse a, por ejemplo un ADN genómico, un ADN plásmido, moléculas de ADN monohebra, moléculas de ADN de doble hebra, o se puede seleccionar de cualquier PNA (ácido nucleico peptídico) o se puede seleccionar por ejemplo de cualquier ARN (de cadena simple o doble), preferentemente un ARN mensajero (ARNm); etc. La secuencia de ácido nucleico inventivo también puede comprender un ARN viral (ARNv). Sin embargo, la secuencia de ácido nucleico inventivo puede no ser un ARN viral o puede no contener un ARN viral. Más específicamente, la secuencia de ácido nucleico inventivo puede no contener elementos de secuencias virales, por ejemplo intensificadores virales o promotores virales (por ejemplo, sin un promotor viral inactivado o elementos de secuencia, más específicamente no activados por estrategias de reemplazo), u otros elementos de secuencias virales, u otras secuencias de ácido nucleico viral o retroviral. Más específicamente, la secuencia de ácido nucleico inventivo puede no ser un vector retroviral o viral o un vector retroviral o viral modificado.

20

25

30

En cualquier caso, la secuencia de ácido nucleico inventiva puede o no contener una secuencia intensificadora y/o promotora, que pueda estar o no modificada, o que pueda estar o no activada. El intensificador y/o promotor puede ser expresable o no en plantas y/o en eucariotas y/o en procariontas. La secuencia de ácido nucleico inventiva puede contener o no una secuencia que codifica para una ribozima (de auto-empalme).

- 35 En realizaciones específicas, la secuencia de ácido nucleico inventiva puede ser o puede comprender un ARN de auto-replicación (replicón).

Preferentemente, la secuencia de ácido nucleico inventiva es un ADN plásmido o un ARN, en particular un ARNm.

- 40 En realizaciones particulares del primer aspecto de la presente invención, el ácido nucleico inventivo es una secuencia de ácido nucleico comprendida en un ácido nucleico adecuado para la transcripción *in vitro*, en particular en un vector de transcripción *in vitro* adecuado (por ejemplo un plásmido o una secuencia de ácido nucleico lineal que comprende promotores específicos para la transcripción *in vitro*, como los promotores T3, T7 o SP6).

- 45 En otras realizaciones preferidas particulares del primer aspecto de la presente invención, el ácido nucleico inventivo está comprendido en un ácido nucleico adecuado para la transcripción y/o traducción en un sistema de expresión (por ejemplo en un vector de expresión o plásmido), en particular un sistema de expresión procarionta (por ejemplo bacterias tipo *E. coli*) o eucariota (células de mamíferos tipo células CHO, células de levadura o células de insecto u organismos enteros similares a plantas o animales).

- 50 El término "sistema de expresión" significa un sistema (cultivo celular u organismos enteros) adecuado para la producción de péptidos, proteínas o ARN, en particular ARNm (expresión recombinante).

La secuencia de ácido nucleico inventiva de acuerdo con el primer aspecto de la presente invención comprende o codifica para al menos un tallo-bucle de histona como se define en la reivindicación 1. En el contexto de la presente invención, este tallo-bucle de histona típicamente se deriva de genes de histona y comprende un apareamiento de bases intramolecular de dos secuencias complementarias totalmente en vecindad o parcialmente inversas, formando así un tallo-bucle. Un tallo-bucle en general, independientemente de que sea un tallo-bucle de histona o no, puede presentarse en un ADN monohebra o, más comúnmente, en un ARN. Esta estructura también se conoce como horquilla o asa de horquilla y en general consiste en un tallo y un bucle (terminal) dentro de una secuencia consecutiva, donde el tallo está formado por dos secuencias complementarias totalmente en vecindad o parcialmente inversas separadas por una secuencia corta, como una especie de separador, que constituye el bucle de la estructura tallo-bucle. Las dos secuencias complementarias totalmente en vecindad o parcialmente inversas pueden estar definidas, por ejemplo, por los elementos de tallo-bucle tallo 1 y tallo 2. El tallo-bucle se forma cuando dos secuencias complementarias en vecindad o parcialmente inversas, por ejemplo los elementos de tallo-bucle tallo 1 y tallo 2, forman pares de bases entre sí, conduciendo a un tramo de secuencia de ácido nucleico de doble hebra que comprende un bucle no apareado en su extremo terminal formado por la secuencia corta ubicada entre los elementos de tallo-bucle tallo 1 y tallo 2 en la secuencia consecutiva. Así, el bucle no apareado típicamente representa una región del ácido nucleico que no es capaz de formar pares de bases con cualquiera de estos elementos del tallo-bucle. La estructura resultante con forma de chupa-chups es un bloque de construcción clave en muchas estructuras secundarias de ARN. La formación de una estructura tallo-bucle depende así de la estabilidad del tallo resultante y de las regiones de bucle, siendo el primer pre-requisito típicamente la presencia de una secuencia que se puede plegar sobre sí misma para formar una doble cadena apareada. La estabilidad de los elementos de tallo-bucle apareado viene determinada por la longitud, el número de mal-apareamientos o protuberancias que contienen (un pequeño número de mal-apareamientos es típicamente tolerable, especialmente en un tramo largo de doble cadena) y la composición de bases de la región apareada. Es concebible una longitud de bucle de 3 a 15 bases, mientras que una longitud de bucle óptima especialmente preferente es de 3-10 bases, con mayor preferencia de 3 a 8, de 3 a 7, de 3 a 6 o incluso con mayor preferencia de 4 a 5 bases, y con la máxima preferencia 4 bases. La secuencia tallo que forma la estructura de doble cadena típicamente tiene una longitud de entre 5 a 10 bases, con mayor preferencia de 5 a 8 bases.

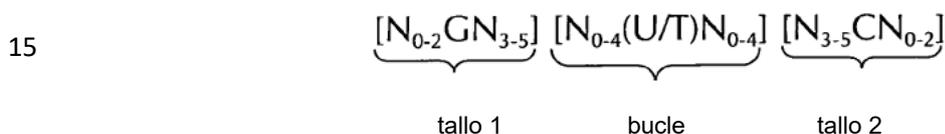
En el contexto de la presente invención, un tallo-bucle de histona según la reivindicación 1 típicamente se deriva de genes de histona (por ejemplo genes de las familias de histonas H1, H2A, H2B, H3, H4) y comprende un apareamiento de bases intramolecular de dos secuencias complementarias totalmente en vecindad o parcialmente inversas, formando así un tallo-bucle. Típicamente, un tallo-bucle 3' UTR de histona es un elemento de ARN implicado en el transporte nucleocitoplásmico de los ARNm de histona y en la regulación de la estabilidad y de la eficiencia de traducción en el citoplasma. Los ARNm de genes de histona de metazoarios carecen de poliadenilación y cola poli-A, en su lugar el procesamiento en el extremo 3' ocurre en un sitio entre este tallo-bucle altamente conservado y una región rica en purina de alrededor de 20 nucleótidos aguas abajo (el elemento aguas abajo de histona o HDE). El tallo-bucle de histona está unido por una proteína de unión al tallo-bucle de 31 kDa (SLBP - también denominada proteína de unión horquilla a histonas o HBP). Estas estructuras de tallo-bucle de histona preferentemente se emplean en la presente invención en combinación con otros elementos de secuencia y estructuras que no son de origen natural (lo que significa que están sin transformar en organismos vivos/células) en los genes de histona, pero que están combinados -de acuerdo con la invención- para proporcionar un ácido nucleico artificial heterólogo. Así, en particular, la presente invención se basa en el hallazgo de que una combinación artificial (no natural) de una estructura tallo-bucle de histona con otros elementos de secuencia heterólogos que no se presentan en genes de histona o genes de histona de metazoarios y están aislados de las regiones operacionales y/o reguladoras de la secuencia (lo que influye en la transcripción y/o la traducción) de genes que codifican para proteínas distintas a histonas, proporcionan efectos ventajosos. Por consiguiente, la invención proporciona la combinación de una estructura tallo-bucle de histona con una secuencia poli(A) (3' terminal a una región codificante) que no se presenta en los genes de histonas de metazoarios. La invención también proporciona una combinación de una estructura tallo-bucle de histona con una región codificante que codifica para un antígeno patógeno de un patógeno según la reivindicación 1, que preferentemente no está presente en genes de histona de metazoarios (la región codificante y la secuencia tallo-bucle de histona son heterólogas). Es preferente si estos antígenos patógenos no se presentan en metazoarios en absoluto, pero se derivan de organismos unicelulares, por ejemplo de bacterias o virus. En una realización preferida adicional, todos los elementos (a), (b) y (c) del ácido nucleico inventivo son heterólogos entre sí y se combinan artificialmente a partir de tres fuentes diferentes, por ejemplo la región codificante de antígenos proveniente de bacterias o virus como se reivindica, el tallo-bucle de histona proveniente de un gen de histona de metazoario (como se reivindica en la reivindicación 1) y la secuencia poli(A) de, por ejemplo, un gen de metazoario distinto a un gen de histona.

Por tanto, un tallo-bucle de histona es una estructura de tallo-bucle como se describe o se reivindica aquí que exhibe/conserva la propiedad de unión a su pareja de unión natural, la proteína de unión de tallo-bucle (SLBP - también denominada proteína de unión horquilla con histona, o HBP).

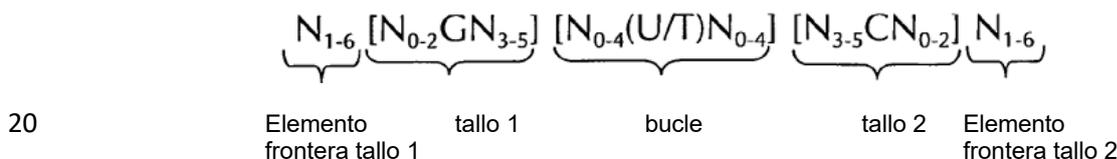
De acuerdo con la presente invención, la secuencia de tallo-bucle de histona según el componente (b) de la reivindicación 1 puede no derivarse de una proteína histona de ratón. Más específicamente, la secuencia de tallo-bucle de histona puede no derivarse de un gen de histona de ratón H2A614. También, el ácido nucleico de la invención puede no contener una secuencia tallo-bucle de histona de ratón ni un gen de histona de ratón H2A614. Además, la secuencia de ácido nucleico inventivo puede no contener una señal de procesamiento del tallo-bucle, más específicamente una señal de procesamiento de histona de ratón y, más específicamente, puede no contener una señal de procesamiento de tallo-bucle de ratón H2kA614, incluso si la secuencia de ácido nucleico inventiva puede contener al menos un gen de histona de mamífero. Sin embargo, el al menos un gen de histona de mamífero puede no ser la SEQ ID NO: 7 de la WO 01/12824.

De acuerdo con una realización preferente del primer aspecto de la presente descripción, la secuencia de ácido nucleico aquí descrita comprende o codifica para al menos una secuencia tallo-bucle de histona, preferentemente de acuerdo con al menos una de las siguientes fórmulas (I) o (II):

fórmula (I) (secuencia tallo-bucle sin elementos frontera de tallo):



fórmula (II) (secuencia tallo-bucle con elementos frontera de tallo):



donde

los elementos frontera de tallo 1 o tallo 2 N_{1-6} son una secuencia consecutiva de 1 a 6, de preferencia de 2 a 6, con mayor preferencia de 2 a 5, incluso con mayor preferencia de 3 a 5, con máxima preferencia de 4 a 5 o 5N, donde cada N se selecciona independientemente de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un nucleótido análogo de los mismos;

Tallo 1 $[N_{0-2}GN_{3-5}]$ es complementario inverso o complementario parcialmente inverso con el elemento de tallo 2 y es una secuencia consecutiva de entre 5 a 7 nucleótidos; donde N_{0-2} es una secuencia consecutiva de 0 a 2, de preferencia 0 a 1, con mayor preferencia 1N, donde cada N se selecciona independientemente de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un nucleótido análogo de los mismos; donde N_{3-5} es una secuencia consecutiva de 3 a 5, de preferencia 4 a 5, con mayor preferencia 4 N, donde cada N se selecciona independientemente de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un nucleótido análogo de los mismos; y donde G es guanosina o un análogo de la misma y se puede reemplazar opcionalmente por una citidina o un análogo de la misma, con la condición de que su nucleótido citidina complementario en el tallo 2 se reemplace por guanosina;

Secuencia bucle $[N_{0-4}(U/T)N_{0-4}]$ está ubicada entre los elementos tallo 1 y tallo 2 y es una secuencia consecutiva de 3 a 5 nucleótidos, con mayor preferencia de 4 nucleótidos, donde cada N_{0-4} es independientemente una secuencia consecutiva de 0 a 4, de preferencia de 1 a 3, con mayor preferencia 1 a 2 N, donde cada N se selecciona independientemente de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un nucleótido análogo de los mismos; y donde U/T representa uridina u opcionalmente timidina;

Tallo 2 $[N_{3-5}CN_{0-2}]$ es complementaria inversa o complementaria parcialmente inversa con el elemento tallo 1, y es una secuencia consecutiva de 5 a 7 nucleótidos; donde N_{3-5} es una secuencia consecutiva de 3 a 5, de preferencia 4 a 5, con mayor preferencia 4 N, donde cada N se selecciona independientemente de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un nucleótido análogo de los mismos; donde N_{0-2} es una secuencia consecutiva de 0 a 2, de preferencia 0 a 1, con mayor preferencia 1 N, donde cada N se selecciona independientemente de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un nucleótido análogo de los mismos; y donde C es citidina o un análogo de la misma y se puede reemplazar opcionalmente por una guanosina o un

análogo de la misma, con la condición de que su nucleótido guanosina complementario en el tallo 1 se reemplace por citidina;

donde

5 el tallo 1 y tallo 2 son capaces de realizar un apareamiento de bases entre sí formando una secuencia complementaria inversa, donde el apareamiento de bases se puede presentar entre el tallo 1 y el tallo 2, por ejemplo un apareamiento de bases Watson-Crick de nucleótidos A y U/T o G y C o un apareamiento de bases no Watson-Crick, por ejemplo un apareamiento de bases de tambaleo, un apareamiento de bases Watson-Crick reverso, un apareamiento de bases Hoogsteen, un apareamiento de bases Hoogsteen reverso o son capaces de un apareamiento de bases uno con otro formando una secuencia parcialmente inversa, donde
10 puede estar presente un apareamiento de bases incompleto entre el tallo 1 y el tallo 2, en base a que una o más bases de un tallo no tienen una base complementaria en la secuencia inversa complementaria del otro tallo.

15 En el contexto anterior, un apareamiento de bases de tambaleo típicamente es un apareamiento de bases no Watson-Crick entre dos nucleótidos. Los cuatro pares de bases de tambaleo principales en el presente contexto que se pueden utilizar son guanosina-uridina, inosina-uridina, inosina-adenosina, inosina-citidina (G-U/T, I-U/T, I-A e I-C) y adenosina-citidina (A-C).

20 Por consiguiente, en el contexto de la presente invención, una base de tambaleo es una base que forma un par de bases de tambaleo con una base adicional como se ha descrito anteriormente. Así, puede existir un apareamiento de bases no Watson-Crick, por ejemplo un apareamiento de bases de tambaleo, en el tallo de la estructura tallo-bucle de histona de acuerdo con la presente invención.

25 En el contexto anterior, una secuencia complementaria parcialmente inversa comprende como máximo 2, de preferencia sólo un mal apareamiento en la estructura tallo de la secuencia tallo-bucle formada por el apareamiento de bases del tallo 1 y el tallo 2. En otras palabras, el tallo 1 y el tallo 2 preferentemente son capaces de formar un apareamiento de bases (completo) entre sí a todo lo largo de la secuencia completa del tallo 1 y el tallo 2 (100% de posibles apareamientos de bases correctos Watson-Crick o no Watson-Crick), formando así una secuencia complementaria inversa, donde cada base tiene su base colgante Watson-Crick o no Watson-Crick correcta como pareja de unión complementaria. Alternativamente, el tallo 1 y el tallo 2 preferentemente son capaces de formar pares de bases parciales entre sí a todo largo de la secuencia del tallo 1 y el tallo 2, donde al menos aproximadamente el 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, ó 95% del 100% de los
30 apareamientos de bases correctos posibles Watson-Crick o no Watson-Crick están ocupados con los apareamientos de bases correctos Watson-Crick o no Watson-Crick y como máximo aproximadamente el 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, ó 5% de las bases restantes están sin aparear.

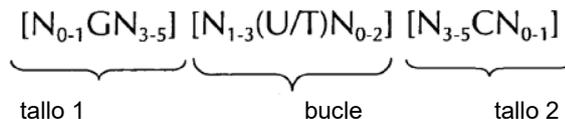
35 De acuerdo con una realización preferente del primer aspecto aquí descrito, la al menos una secuencia de tallo-bucle de histona (con elementos frontera de tallo) de la secuencia de ácido nucleico como se define aquí comprende una longitud entre aproximadamente 15 a aproximadamente 45 nucleótidos, preferentemente una longitud de aproximadamente 15 a aproximadamente 40 nucleótidos, con preferencia una longitud entre aproximadamente 15 y aproximadamente 35 nucleótidos, incluso con mayor preferencia una longitud de aproximadamente 15 a aproximadamente 30 nucleótidos, con mayor preferencia una longitud entre aproximadamente 20 y aproximadamente 30 y con la máxima preferencia una longitud entre aproximadamente
40 24 a aproximadamente 28 nucleótidos.

45 De acuerdo con una realización preferente del primer aspecto aquí descrito, la al menos una secuencia de tallo-bucle de histona (sin elementos frontera de tallo) de la secuencia de ácido nucleico como se define aquí comprende una longitud entre aproximadamente 10 a aproximadamente 30 nucleótidos, de preferencia una longitud entre aproximadamente 10 a aproximadamente 20 nucleótidos, de preferencia una longitud entre aproximadamente 12 a aproximadamente 20 nucleótidos, con preferencia una longitud entre aproximadamente 14 a aproximadamente 20 nucleótidos, incluso con mayor preferencia una longitud entre aproximadamente 16 y aproximadamente 17 y con la máxima preferencia una longitud de aproximadamente 16 nucleótidos.

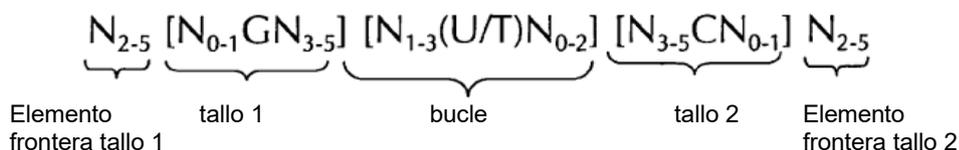
50 De acuerdo con una realización preferida adicional del primer aspecto aquí descrito, la secuencia de ácido nucleico según el primer aspecto de la presente descripción puede comprender o codificar para al menos una secuencia tallo-bucle de histona de acuerdo con al menos una de las siguientes fórmulas específicas (Ia) o (IIa):

55

fórmula (Ia) (secuencia tallo-bucle sin elementos frontera de tallo):



5 fórmula (IIa) (secuencia tallo-bucle con elementos frontera de tallo):

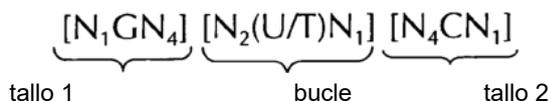


10 donde:

N, C, G, T y U son como se definió anteriormente.

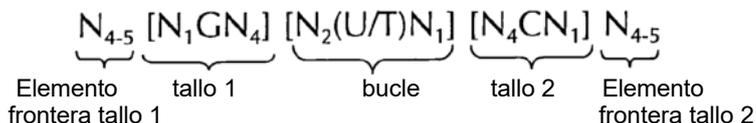
De acuerdo con otra realización preferente de la presente invención, la secuencia de ácido nucleico inventiva puede comprender o codificar para al menos una secuencia tallo-bucle de histona de acuerdo con al menos una de las siguientes fórmulas específicas (Ib) o (IIb):

15 fórmula (Ib) (secuencia de tallo-bucle sin elementos frontera de tallo):



fórmula (IIb) (secuencia de tallo-bucle con elementos frontera de tallo):

20

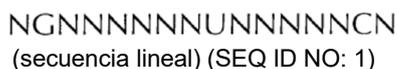
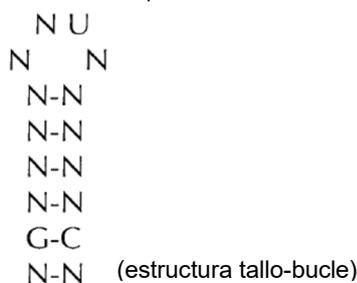


donde: N, C, G, T y U son como se definió anteriormente.

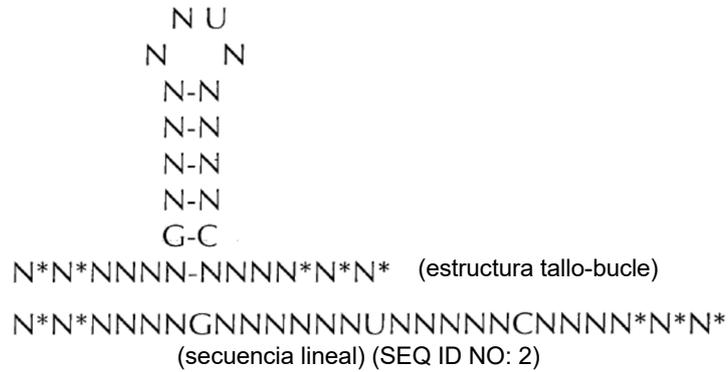
25 De acuerdo con una realización preferente, la secuencia de ácido nucleico inventiva puede comprender o codificar para al menos una secuencia tallo-bucle de histona de acuerdo con al menos una de las siguientes fórmulas específicas (Ic) a (Ih) o (IIc) a (IIh), mostradas alternativamente en su estructura tallo-bucle y como una secuencia lineal que representa las secuencias del tallo-bucle de histona según se generan de acuerdo con

Ejemplo 1:

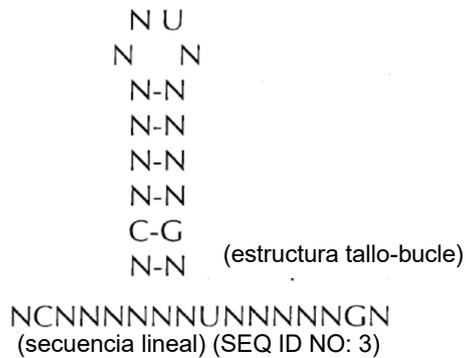
30 Fórmula (Ic): (secuencia consenso tallo-bucle de histona de protozoarios sin elementos frontera de tallo)



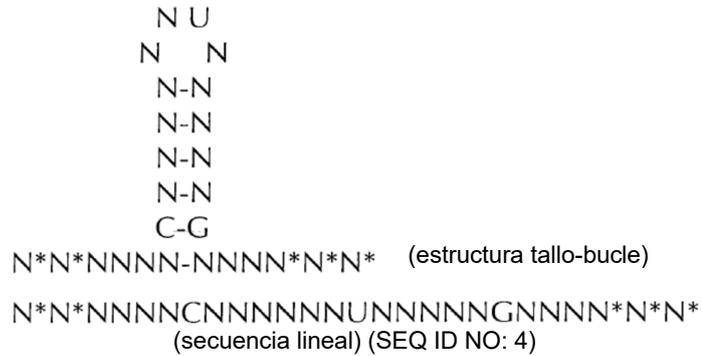
Fórmula (Ilc): (secuencia consenso tallo-bucle de histona de metazoarios y protozoarios sin elementos frontera de tallo):



5 Fórmula (Id): (sin elementos frontera de tallo):

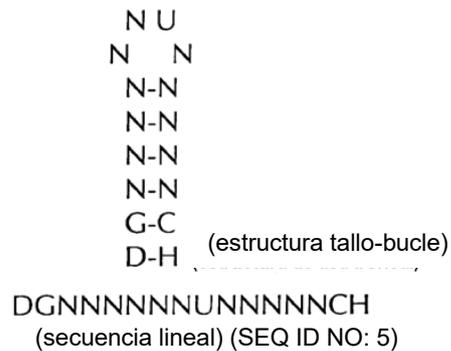


Fórmula (Ild): (sin elementos frontera de tallo):



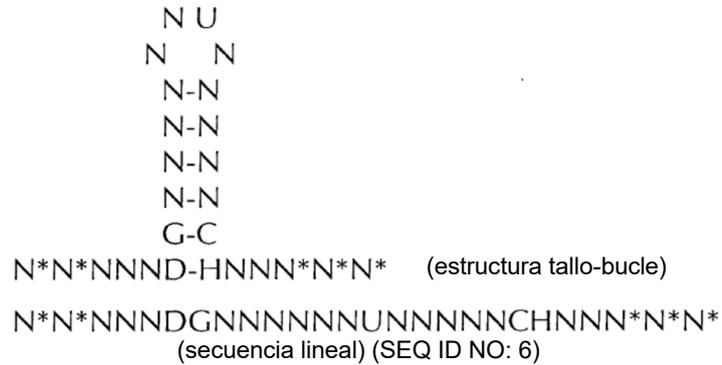
10

Fórmula (Ie): (secuencia consenso de tallo-bucle de histona de protozoarios sin elementos frontera de tallo):

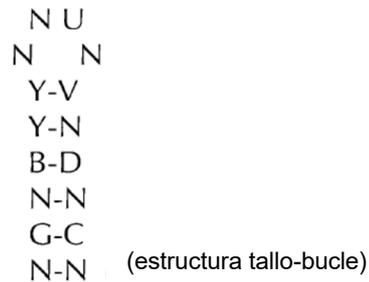


ES 2 812 280 T3

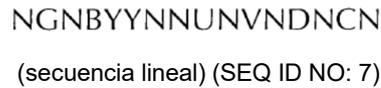
Fórmula (Ile): (secuencia consenso de tallo-bucle de histona de protozoarios con elementos frontera de tallo):



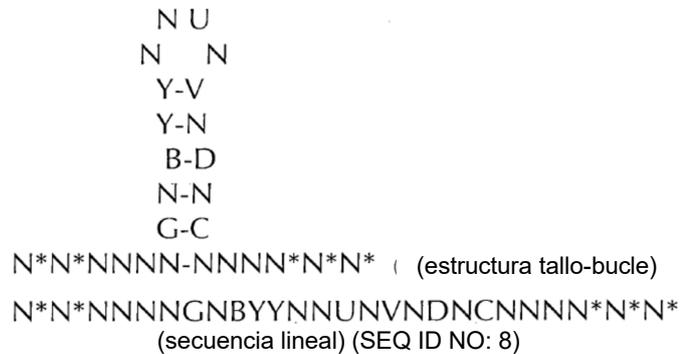
Fórmula (If): (secuencia consenso de tallo-bucle de histona de metazoarios sin elementos frontera de tallo):



5



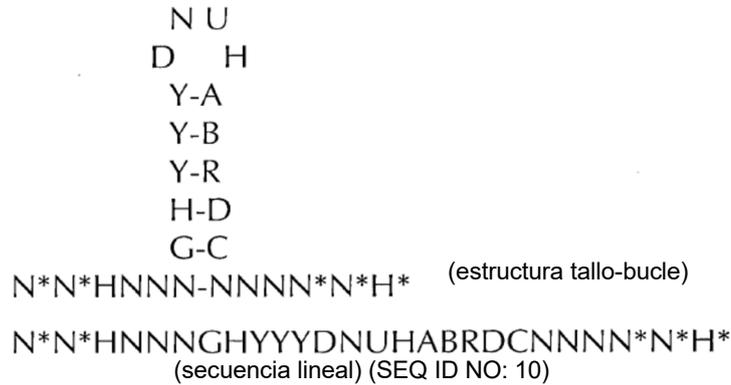
Fórmula (Ilf): (secuencia consenso de tallo-bucle de histona de metazoarios con elementos frontera de tallo):



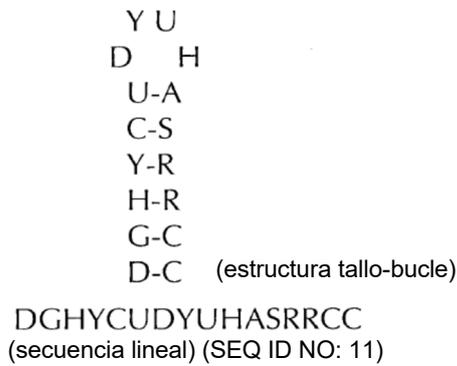
10 Fórmula (Ig): (secuencia consenso de tallo-bucle de histona de vertebrado sin elementos frontera de tallo):



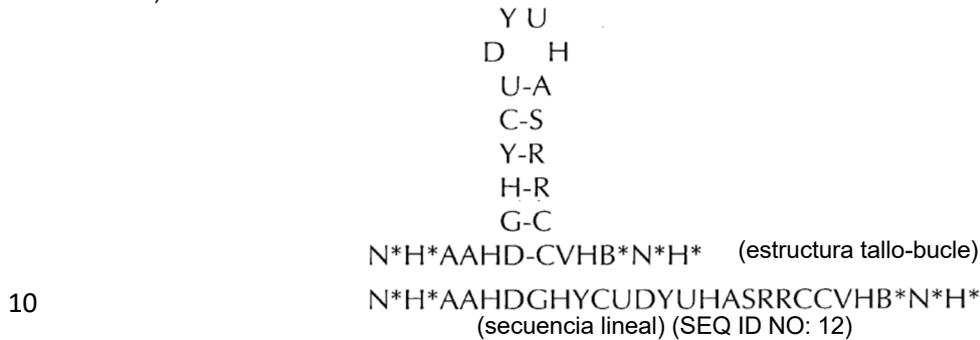
Fórmula (Ilg): (secuencia consenso de tallo-bucle de histona de vertebrado con elementos frontera de tallo):



5 Fórmula (Ih): (secuencia consenso de tallo-bucle de histona humana (Homo sapiens) sin elementos frontera de tallo):



Fórmula (IIh): (secuencia consenso de tallo-bucle de histona humana (Homo sapiens) con elementos frontera de tallo):



15 donde en cada una de las fórmulas anteriores (Ic) a (Ih) o (IIc) a (IIh): N, C, G, A, T y U son como se definió anteriormente; cada U se puede remplazar por T; cada G o C (altamente) conservada en los elementos de tallo 1 y tallo 2 se puede reemplazar por su base complementaria de nucleótidos C o G, con la condición de que su nucleótido complementario en el tallo correspondiente se remplace por su nucleótido complementario en paralelo; y/o G, A, T, U, C, R, Y, H, K, S, W, H, B, V, D y N son bases de nucleótidos como se define en la siguiente Tabla:

Abreviatura	Bases de nucleótidos	Comentarios
G	G	Guanina
A	A	Adenina
T	T	Tiamina
U	U	Uracilo
C	C	Citosina
R	G o A	Purina
Y	T/U o C	Pirimidina
M	A o C	Amino
K	G o T/U	Ceto

S	G o C	Fuerte (enlaces 3H)
W	A o T/U	Débil (enlace 2H)
H	A o C o T/U	Sin G
B	G o T/U o C	Sin A
V	G o C o A	Sin T/U
D	G o A o T/U	Sin C
N	G o C o T/U or A	Cualquier base
*	Presente o no	Base puede estar presente o no

5 En este contexto, es particularmente preferente que la secuencia de tallo-bucle de histona de acuerdo con al menos una de las fórmulas (I) o (Ia) a (Ih) o (II) o (IIa) a (IIh) de la presente descripción pueda seleccionarse de una secuencia tallo-bucle de histona de origen natural, con particular preferencia a partir de secuencias tallo-bucle de histonas de protozoarios o metazoarios, e incluso con más preferencia de vertebrados y con total preferencia de secuencias tallo-bucle de histona de mamífero, en especial de secuencias tallo-bucle de histonas humanas.

10 De acuerdo con una realización preferente del primer aspecto, la secuencia de tallo-bucle de histona de acuerdo con al menos una de las fórmulas específicas (I) o (Ia) a (Ih) o (II) o (IIa) a (IIh) de la presente descripción es una secuencia tallo-bucle de histona que comprende, en cada posición de nucleótidos, el nucleótido que se presenta con mayor frecuencia o cualquiera de nucleótidos que se presentan con mayor frecuencia o el segundo con mayor frecuencia de las secuencias tallo-bucle de histonas de origen natural en metazoarios y protozoarios (Fig. 1), protozoarios (Fig. 2), metazoarios (Fig. 3), vertebrados (Fig. 4) y humanos (Fig. 5) como se muestra en las figuras 1-5. En este contexto, se prefiere particularmente que al menos el 80%,
15 preferentemente al menos el 85% o con mayor preferencia al menos el 90% de todos los nucleótidos correspondan al nucleótido que se presenta con mayor frecuencia en las secuencias tallo-bucle de histona de origen natural.

20 En una realización particular del primer aspecto, la secuencia de tallo-bucle de histona de acuerdo con al menos una de las fórmulas específicas (I) o (Ia) a (Ih) de la presente descripción se selecciona de las siguientes secuencias tallo-bucle de histona (sin elementos frontera de tallo) que representan las secuencias tallo-bucle de histona según se generan de acuerdo con el Ejemplo 1:

25 VGYYYYHHTHRVVRCB (SEC ID NO: 13 de acuerdo con la fórmula (Ic)) (no reivindicada)
SGYYYYTYTMARRRCS (SEC ID NO: 14 de acuerdo con la fórmula (Ic)) (no reivindicada)
SGYYCTTTMAGRRCS (SEC ID NO: 15 de acuerdo con la fórmula (Ic)) (no reivindicada)
DGNNBNBNNHVNNNCH (SEC ID NO: 16 de acuerdo con la fórmula (Ie)) (no reivindicada)
RGNNYHBTHRDNNCY (SEC ID NO: 17 de acuerdo con la fórmula (Ie)) (no reivindicada)
RGNDBYHYTHRDHNCY (SEC ID NO: 18 de acuerdo con la fórmula (Ie)) (no reivindicada)
30 VGYYTYHTRVRCB (SEC ID NO: 19 de acuerdo con la fórmula (If)) (no reivindicada)
SGYYCTTYTMAGRRCS (SEC ID NO: 20 de acuerdo con la fórmula (If)) (no reivindicada)
SGYYCTTTMAGRRCS (SEC ID NO: 21 de acuerdo con la fórmula (If)) (no reivindicada)
GGYYCTTYTHAGRRCC (SEC ID NO: 22 de acuerdo con la fórmula (Ig)) (no reivindicada)
GGCYCTTYMAGRGCC (SEC ID NO: 23 de acuerdo con la fórmula (Ig)) (no reivindicada)
GGCTCTTTMAGRGCC (SEC ID NO: 24 de acuerdo con la fórmula (Ig)) (no reivindicada)
DGHYCTDYTHASRRCC (SEC ID NO: 25 de acuerdo con la fórmula (Ih)) (no reivindicada)
35 GGCYCTTTTHAGRGCC (SEC ID NO: 26 de acuerdo con la fórmula (Ih)) (no reivindicada)
GGCYCTTTMAGRGCC (SEC ID NO: 27 de acuerdo con la fórmula (Ih))

40 Además, en este contexto, las siguientes secuencias tallo-bucle de histona (con elementos frontera de tallo) según se generan de acuerdo con el Ejemplo 1 de acuerdo con una de las fórmulas específicas (II) o (IIa) a (IIh) son particularmente preferentes:

45 H*H*HHVVGYYYYHHTHRVVRCBVHH*N*N* (SEQ ID NO: 28 según fórmula (IIc)) (no reivindicada)
M*H*MHMSGYTYTYTMARRRCSMCH*H*H* (SEQ ID NO: 29 según fórmula (IIc)) (no reivindicada)
M*M*MMMSGYCTTTMAGRRCSACH*M*H* (SEQ ID NO: 30 según fórmula (IIc)) (no reivindicada)
N*N*NNNDGNNBNBNNHVNNNCHNH*N*N* (SEQ ID NO: 31 según fórmula (IIe)) (no reivindicada)
N*N*HHNRGNNYHBTHRDNNCYDHH*N*N* (SEQ ID NO: 32 según fórmula (IIe)) (no reivindicada)
N*H*HHVRGNDYHYTHRDHNCYRHH*H*H* (SEQ ID NO: 33 según fórmula (IIe)) (no reivindicada)
H*H*MHMVGYYTYHTRVRCBVMH*H*N* (SEQ ID NO: 34 según fórmula (IIIf)) (no reivindicada)
M*M*MMMSGYCTTYTMAGRRCSMCH*H*H* (SEQ ID NO: 35 según fórmula (IIIf)) (no reivindicada)
M*M*MMMSGYCTTTMAGRRCSACH*M*H* (SEQ ID NO: 36 según fórmula (IIIf)) (no reivindicada)

H*H*MAMGGYYCTTYTHAGRRCCVHN*N*M* (SEQ ID NO: 37 según fórmula (IIg)) (no reivindicada)
 H*H*AAMGGCYCTTYTMAGRGCCVCH*H*M* (SEQ ID NO: 38 según fórmula (IIg)) (no reivindicada)
 M*M*AAMGGCTCTTTMAGRGCCMCY*M*M* (SEQ ID NO: 39 según fórmula (IIg)) (no reivindicada)
 N*H*AAHDGHYCTDYTHASRRCCVHB*N*H* (SEQ ID NO: 40 según la fórmula (IIh)) (no reivindicada)
 5 H*H*AAMGGCYCTTTTHAGRGCCVMY*N*M* (SEQ ID NO: 41 según fórmula (IIh)) (no reivindicada)
 H*M*AAAGGCYCTTTMAGRGCCRMV*H*M* (SEQ ID NO: 42 según fórmula (IIh)).

De acuerdo con otra realización preferente del primer aspecto aquí descrito, la secuencia del ácido nucleico comprende o codifica para al menos una secuencia tallo-bucle de histona que muestra al menos aproximadamente el 80%, de preferencia al menos aproximadamente el 85%, con mayor preferencia al menos aproximadamente el 90%, o incluso con mayor preferencia al menos aproximadamente un 95% de identidad de secuencia con los nucleótidos conservados que no están al 100% en las secuencias del tallo-bucle de histona de acuerdo con al menos una de las fórmulas específicas (I) o (Ia) a (Ih) o (II) o (IIa) a (IIh) o con una secuencia tallo-bucle de histona de origen natural.

En una realización preferente, la secuencia de tallo-bucle de histona no contiene la secuencia bucle 5'-UUUC-3'. Más específicamente, el tallo-bucle de histona no contiene la secuencia tallo 1 5'-GGCUCU-3' y/o la secuencia tallo 2 5'-AGAGCC-3', respectivamente. En otra realización preferente, la secuencia de tallo-bucle no contiene la secuencia bucle 5'-CCUGCCC-3' o la secuencia bucle 5'-UGAAU-3'. Más específicamente, el tallo-bucle no contiene la secuencia tallo 1 5'-CCUGAGC-3' o no contiene la secuencia tallo 1 5'-ACCUUUCUCCA-3' y/o la secuencia tallo 2 5'-GCUCAGG-3' o 5'-UGGAGAAAGGU-3', respectivamente.
 20 También, dado que la descripción no está limitada a secuencias de tallo-bucle histona específicamente, las secuencias tallo-bucle preferentemente no se derivan de una región 3'-no traducida del receptor de insulina de mamífero. También, preferentemente, el ácido nucleico puede no contener señales de procesamiento de tallo-bucle de histona, en particular no aquellas derivadas del gen de histona de ratón H2A614 (H2KA614).

La secuencia de ácido nucleico inventiva de acuerdo con el primer aspecto aquí descrito comprende o codifica para una secuencia poli(A). Esta secuencia poli(A) comprende una secuencia de aproximadamente 30 o con mayor preferencia de aproximadamente 25 a aproximadamente 400 nucleótidos de adenosina, preferentemente una secuencia de aproximadamente 50 a aproximadamente 400 nucleótidos de adenosina, con mayor preferencia una secuencia de aproximadamente 50 a aproximadamente 300 nucleótidos de adenosina, incluso con mayor preferencia una secuencia de aproximadamente 50 a aproximadamente 250 nucleótidos de adenosina, con especial preferencia una secuencia de aproximadamente 60 a aproximadamente 250 nucleótidos de adenosina. En este contexto, el término "aproximadamente" se refiere a una desviación de $\pm 10\%$ del valor (valores) citados. Por consiguiente, la secuencia poli(A) contiene al menos 25 o más de 25, con mayor preferencia al menos 30, con mayor preferencia al menos 50 nucleótidos de adenosina. Por tanto, esta secuencia poli(A) no contiene típicamente menos de 20 nucleótidos de adenosina. De manera más particular, no contiene 10 y/o menos de 10 nucleótidos de adenosina.

De preferencia, el ácido nucleico de acuerdo de la presente invención no contiene uno o dos o al menos uno o todos menos uno o la totalidad de los componentes del grupo consistente en: una secuencia que codifica para una ribozima (de preferencia una ribozima de auto-empalme), una secuencia de ácido nucleico viral, una señal de procesamiento de tallo-bucle de histona, en particular una secuencia de procesamiento de tallo-bucle de histona derivada del gen de histona H2A614 de ratón, un gen neo, una secuencia promotora inactivada y una secuencia intensificadora inactivada. Incluso con mayor preferencia, el ácido nucleico de acuerdo con la invención no contiene una ribozima, de preferencia una ribozima de auto-empalme, y uno del grupo consistente en: un gen neo, una secuencia promotora inactivada, una secuencia intensificadora inactivada, una señal de procesamiento de tallo-bucle de histona, en particular una secuencia de procesamiento de tallo-bucle de histona derivada del gen de histona H2A614 de ratón. Por consiguiente, en una forma preferente, el ácido nucleico puede no contener una ribozima, de preferencia una ribozima de auto-empalme, ni un gen neo o, alternativamente, ni una ribozima, de preferencia una ribozima de auto-empalme, ni cualquier gen de resistencia (por ejemplo usualmente aplicado para selección). En otra forma preferida, el ácido nucleico de la invención puede no contener una ribozima, de preferencia una ribozima de auto-empalme, ni una señal de procesamiento de tallo-bucle de histona, en particular una secuencia de procesamiento de tallo-bucle de histona derivada del gen de histona H2A614 de ratón.

La secuencia de ácido nucleico aquí descrita comprende opcionalmente una señal de poliadenilación que se define aquí como una señal que transporta la poliadenilación hacia un ARNm (transcrito) mediante factores proteicos específicos (por ejemplo un factor de especificidad para la segmentación y poliadenilación (CPSF), un factor de estimulación de la segmentación (CstF), los factores de segmentación I y II (CF I y CF II), la polimerasa poli(A) (PAP)). En este contexto, es preferente una señal poliadenilación consenso que comprenda la secuencia consenso NN(U/T)ANA. En un aspecto particularmente preferente, la señal de poliadenilación comprende una de las siguientes secuencias: AA(U/T)AAA o A(U/T)(U/T)AAA (donde está presente usualmente uridina en el ARN y está presente usualmente timidina en el ADN). En algunas realizaciones, la señal de poliadenilación utilizada en el ácido nucleico aquí descrito no corresponde al U3 ARNsn, U5, la señal de

- procesamiento de poliadenilación procedente del gen humano G-CSF o las secuencias de la señal de poliadenilación SV40. En particular, las señales de poliadenilación anteriores no están combinadas con ningún gen de resistencia a antibióticos (o cualquier otro gen reporter, marcador o de selección), en particular no con el gen *neo* de resistencia (neomicina fosfotransferasa) como el gen de la región codificante de acuerdo con elemento (a) del ácido nucleico. Y cualquiera de las señales de poliadenilación anteriores (que típicamente no están presentes en el ácido nucleico) de preferencia no están combinadas con el tallo-bucle de histona o la señal de procesamiento del tallo-bucle de histona procedente del gen de histona de ratón H2A614 en un ácido nucleico.
- La secuencia de ácido nucleico inventiva comprende una región codificante que codifica para al menos un péptido o proteína, comprendiendo dicho péptido o proteína un antígeno patogénico o un fragmento del mismo con una longitud de al menos seis residuos aminoácidos y teniendo la propiedad antigénica específica del péptido o proteína nativo de longitud completa, estando el antígeno patogénico asociado con una infección bacteriana, una infección vital o una infección por protozoos y seleccionándose el antígeno patogénico del grupo consistente en
- 15 • Antígeno p24 de VIH, proteínas de envoltura de VIH (Gp120, Gp41, Gp160), poliproteína GAG, proteína del factor negativo Nef, trans-activador de transcripción Tat si la enfermedad infecciosa en VIH, preferentemente una infección con el virus de inmunodeficiencia humana;
 - proteína de cápside C, proteína premembrana prM, proteína membrana M, proteína de envoltura E (dominio I, dominio II, dominio II), proteína NS1, proteína NS2A, proteína NS2B, proteína NS3, proteína NS4A, proteína 2K, proteína NS4B, proteína NS5, si la enfermedad infecciosa es fiebre del Dengue, preferentemente una infección con el virus del Dengue (DEN-1, DEN-2, DEN-3 y DEN-4)—Flavivirus;
 - 20 • antígeno superficial de hepatitis B HBsAg, antígeno núcleo de Hepatitis B HbcAg polimerasa, proteína Hbx, proteína superficial media preS2, proteína superficial L, proteína larga S, proteína viral VP1, proteína viral VP2, proteína viral VP3, proteína viral VP4, si la enfermedad infecciosa es Hepatitis B, preferentemente una infección con el virus de la Hepatitis B (HBV);
 - Hemaglutinina (HA), Neuraminidasa (NA), Nucleoproteína (NP), proteína M1, proteína M2, proteína NS1, proteína NS2 (proteína NEP: proteína de exportación nuclear), proteína PA, proteína PB1 (proteína de polimerasa básica 1), proteína PB1-F2 y proteína PB2 (familia Ortomyxoviridae, virus de la gripe (flu));
 - nucleoproteína N, proteína estructural grande L, fosfoproteína P, proteína de matriz M, glucoproteína G, si la enfermedad infecciosa es la rabia, preferentemente una infección con virus de la rabia;
 - 30 • poliproteína genómica, proteína E, proteína M, proteína C de cápside, proteasa NS3, proteína NS1, proteína NS2A, proteína AS2B, proteína NS4A, proteína NS4B, proteína NS5, si la enfermedad infcciosa es fiebre amarilla, preferentemente una infección por el virus de la fiebre amarilla;
 - proteína TRAP anónima relacionada con trombospondina, proteína superficial de SSP2 Sporozoite 2, antígeno de membrana apical 1 AMA1, antígeno de membrana rhoptry RMA1, antígeno de repetición básica ácida ABRA, proteína transversal celular PF, proteína Pvs25, proteína superficial de merozoito 1 MSP-1, proteína superficial de merozoito 2 MSP-2, antígeno superficial de eritrocitos anillo-infectados antígeno de etapa RESALiver 3 LSA-3, proteína Eba-175, antígeno 5 para repetición de serina SERA-5, proteína de circumsporozoitos CS, proteína 3 superficial de merozoito MSP3, proteína superficial 8 de merozoitos MSP8, enolasa PF10, proteína de hepatocitos-eritrocitos de 17 kDa HEP17, proteína con membrana 1 de eritrocitos EMP1, proteína superficial 4/5 de la proteína Kbetamerozoitos MSP 4/5, proteína de choque térmico Hsp90, proteína rica en glutamato GLURP, proteína superficial 4 de merozoitos MSP-4, proteína STARP, precursor antigénico relacionado con la proteína de circumsporozoitos CRA (Plasmodium genus, Malaria);
 - 45 • proteína de fusión F, hemaglutinina-neuramidasa HN, glucoproteína G, proteína matriz M, fosfoproteína P, nucleoproteína N, polimerasa L, si la enfermedad infecciosa es la infección por el virus de la parainfluenza humana, de preferencia una infección con los virus de parainfluenza Humanos (HPIV);
 - proteína de fusión F, nucleoproteína N, proteína de matriz M, proteína de matriz M2-1, proteína de matriz M2-2, fosfoproteína P, proteína hidrofóbica pequeña SH, glucoproteína G de superficie mayor, polimerasa L, proteína 1 no estructural NS1, proteína 2 no estructural NS2, si la enfermedad infecciosa es una infección por el virus sincitial respiratorio, preferentemente una infección por el virus sincitial respiratorio (RSV);
 - glucoproteína L UL1, uracil-ADN glucosilasa UL2, proteína UL3, proteína UL4, proteína ADN de replicación UL5, proteína portal UL6, proteína para maduración de viriones UL7, ADN helicasa UL8, proteína de unión al origen de replicación UL9, glucoproteína M UL10, proteína UL11, exonucleasa alcalina UL12, proteína quinasa de serina-treonina UL13, proteína tegumentaria UL14, terminasa UL15, proteína tegumentaria UL16, proteína UL17, proteína con cápside VP23 UL18, proteína con cápside principal VP5 UL19, proteína con membrana UL20, proteína tegumentaria UL21, Glucoproteína H (UL22), Timidina quinasa UL23, proteína UL24, proteína UL25, proteína con cápside P40 (UL26, VP24, VP22A), glucoproteína B (UL27), proteína ICP18.5 (UL28), proteína principal de unión a ADN ICP8 (UL29), ADN polimerasa UL30, proteína de matriz nuclear UL31, glucoproteína con envoltura UL32, proteína UL33, proteína con membrana nuclear interna UL34, proteína con cápside VP26 (UL35), proteína tegumentaria larga UL36, proteína de ensamble

- cápside UL37, proteína VP19C (UL38), ribonucleótido reductasa (subunidad Largo) UL39, ribonucleótido reductasa (subunidad pequeña) UL40, proteína tegumentaria/proteína VHS para interrupción en el huésped de viriones (UL41), factor de procesamiento de ADN polimerasa UL42, proteína con membrana UL43, glucoproteína C (UL44), proteína con membrana UL45, proteínas tegumentarias VP11/12 (UL46), proteína tegumentaria VP13/14 (UL47), proteína para maduración de viriones VP16 (UL48, Alfa-TIF), proteína con envoltura UL49, dUTP difosfatasa UL50, proteína tegumentaria UL51, proteína compleja de ADN helicasa/primasa UL52, glucoproteína K (UL53), proteína para regulación transcripcional IE63 (ICP27, UL54), proteína UL55, proteína UL56, proteína de replicación viral ICP22 (IE68, US1), proteína US2, proteína quinasa de serina/treonina US3, glucoproteína G (US4), glucoproteína J (US5), glucoproteína D (US6), glucoproteína I (US7), glucoproteína E (US8), proteína tegumentaria US9, proteína con cápside/tegumentaria US10, proteína Vmw21 (US11), proteína ICP47 (IE12, US12), activador transcriptional principal ICP4 (IE175, RS1), E3 ubiquitina ligasa ICP0 (IE110), proteína 1 latencia-relacionada LRP1, proteína 2 latencia-relacionada LRP2, factor de neurovirulencia RL1 (ICP34.5), transcripción LAT latencia-asociada (Virus de herpes simplex 1 y 2 (HSV-1 y HSV-2), Herpes simplex);
- 15 • proteína de replicación E1, proteína reguladora E2, proteína E3, proteína E4, proteína E5, proteína E6, proteína E7, proteína E8, proteína con cápside mayor L1, proteína con cápside menor L2 (papilomavirus humano (HPV), infección por papilomavirus humano (HPV));
- antígeno pp65, proteína de membrana pp15, proteína tegumentaria cápside-proximal pp150, proteína M45, ADN polimerasa UL54, helicasa UL105, glucoproteína gM, glucoproteína gN, glucoproteína H, glucoproteína B gB, proteína UL83, proteína UL94, proteína UL99 (Citomegalovirus (CMV), infección por Citomegalovirus);
- proteína IsdB de unión hemo-hierro, colágeno adhesina Cna, factor A de aterronamiento CifA, proteína MecA, proteína de unión A fibronectina FnbA, enterotoxina tipo A EntA, enterotoxina tipo B EntB, enterotoxina tipo C EntC1, enterotoxina tipo C EntC2, enterotoxina tipo D EntD, enterotoxina tipo E EntE, toxina-1 de síndrome de choque tóxico TSST-1, Stafiloquinasa, proteína 2a de unión penicilina PBP2a (MecA), antígeno secretor SssA (Staphylococcus genus, por ejemplo aureus, infección por estafilococos);
- poliproteína genómica, polimerasa 3D, proteína con cápside viral VP1, proteína con cápside viral VP2, proteína con cápside viral VP3, proteína con cápside viral VP4, proteasa 2A, proteasa 3C (Rhinovirus, infección por Rhinovirus);
- 30 • proteína ESAT-6 (EsxA), antígeno filtrado EsxB de 10 kDa, antígeno secretado 85-B FBPB, proteína A de unión a fibronectina FbpA (Ag85A), serina proteasa PepA, proteína PPE18 de la familia PPE, proteína D de unión a fibronectina FbpD, proteína inmunogénica MPT64, proteína secretada MPT51, catalasa-peroxidasa-peroxinitritasa T KATG, lipoproteína PSTS3 de unión a fosfato periplásmico (PBP-3, Phos-1), hemaglutinina Hbha de unión a heparina hierro-regulada, proteína PPE14 de la familia PPE, proteína PPE68 de la familia PPE, proteína Mtb72F, proteína Apa, proteína inmunogénica MPT63, lipoproteína PSTS1 de unión a fosfato periplásmico (PBP-1), chaperón molecular DnaK, lipoproteína Mpt83 de superficie celular, lipoproteína P23, proteína permeasa pstA del sistema de transporte de fosfato, antígeno de 14 kDa, proteína C de unión a fibronectina FbpC1, alanina deshidrogenasa TB43, glutamina sintetasa 1, proteína ESX-1, proteína CFP10, proteína TB10.4, proteína MPT83, proteína MTB12, proteína MTB8, proteínas similares a Rpf, proteína MTB32, proteína MTB39, cristalina, proteína de choque térmico HSP65, proteína PST-S (usualmente tuberculosis Mycobacterium, Tuberculosis);
- nucleoproteína N, polimerasa L, proteína de matriz Z, glucoproteína GP (Lassa virus, fiebre de Lassa);
- proteínas spike S, proteínas con envoltura E, proteínas de membrana M, proteínas nucleocápside N (normalmente rinovirus y coronavirus);
- 45 • glucoproteína GP, nucleoproteína NP, proteína matriz menor VP24, proteína matriz mayor VP40, activador de transcripción VP30, cofactor de polimerasa VP35, polimerasa L de ARN (Ebolavirus (EBOV), fiebre hemorrágica de Ebola);
- proteína de envoltura Gc, proteína de envoltura Gn, proteínas de nucleocápside (virus de fiebre hemorrágica de Crimea-Congo, fiebre hemorrágica de Crimea-Congo (CCHF));
- 50 • glucoproteína G, proteína matriz M, nucleoproteína N, proteína de fusión F, polimerasa L, proteína W, proteína C, fosfoproteína P, proteína no estructural V (virus Henipavirus (Hendra virus Nipah), infecciones Henipavirus); y
- glucoproteína GP de envoltura, polimerasa L, nucleoproteína N, proteína NSS no estructural (virus de fiebre Rift Valley, fiebre de Rift Valley (RVF)).
- 55 • proteína 6 no estructural NS6, proteína 2 no estructural NS2, proteína VP6 con cápside intermedia, proteína VP2 con cápside interna, proteína 3 no estructural NS3, polimerasa L de ARN-ARN-dirigida, proteína VP3, proteína 1 no estructural NS1, proteína 5 no estructural NS5, glucoproteína VP7 con cápside externa, glucoproteína 4 no estructural NS4, proteína VP4 con cápside externa (Rotavirus, infección por Rotavirus); y
- 60 • proteína NS1, proteína hidrofóbica pequeña NS2, proteína SH, proteína de fusión F, glucoproteína G, proteína de matriz M, proteína de matriz M2-1, proteína de matriz M2-2, fosfoproteína P, nucleoproteína N, polimerasa L (metapneumovirus Humano (hMPV), infección por metapneumovirus Humano).

- Más en general, la secuencia de ácido nucleico inventiva puede codificar para una proteína o un péptido como se define en las reivindicaciones, que comprende un antígeno patogénico o un fragmento del mismo. Estos antígenos patogénicos se derivan de organismos patogénicos, en particular organismos patogénicos bacterianos, virales o protozoarios (multicelulares), que evocan una reacción inmunológica en el sujeto, en particular un sujeto mamífero, más particularmente un ser humano. Más específicamente, los antígenos patogénicos preferentemente son antígenos superficiales, por ejemplo proteínas (o fragmentos de proteínas, por ejemplo, la porción exterior de un antígeno superficial) ubicadas en la superficie del virus o el organismo bacteriano o protozoario.
- 5
- 10 Un gran número de antígenos patogénicos aquí descritos son antígenos peptídicos o proteínicos, que pueden derivarse de un patógeno asociado con una enfermedad infecciosa seleccionada de antígenos derivados de los patógenos *Acinetobacter baumannii*, *Anaplasma* genus, *Anaplasma phagocytophilum*, *Ancylostoma braziliense*, *Ancylostoma duodenale*, *Arcanobacterium haemolyticum*, *Ascaris lumbricoides*, *Aspergillus* genus, *Astroviridae*, *Babesia* genus, *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, *Bartonella henselae*, BK virus, *Blastocystis* hominis, *Blastomyces dermatitidis*, *Bordetella pertussis*, *Borrelia burgdorferi*, *Borrelia* genus, *Borrelia* spp, *Brucella* genus, *Brugia malayi*, *Bunyaviridae* family, *Burkholderia capacia* y otras especies *Burkholderia*, *Burkholderia mallei*, *Burkholderia pseudomallei*, familia *Caliciviridae*, *Campylobacter* genus, *Candida albicans*, *Candida* spp, *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydomydia pneumoniae*, *Chlamydomydia psittaci*, CJD prion, *Clonorchis sinensis*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium* spp, *Clostridium tetani*, *Coccidioides* spp, coronaviruses, *Corynebacterium diphtheriae*, *Coxiella burnetii*, virus de fiebre hemorrágica de Crímean-Congo, *Cryptococcus neoformans*, *Cryptosporidium* genus, *Citomegalovirus* (CMV), virus del dengue (DEN-1, DEN-2, DEN-3 y DEN-4), *Dientamoeba fragilis*, *Ebolavirus* (EBOV), *Echinococcus* genus, *Ehrlichia chaffeensis*, *Ehrlichia ewingii*, *Ehrlichia* genus, *Entamoeba histolytica*, *Enterococcus* genus, *Enterovirus* genus, *Enteroviruses*, principalmente un virus Coxsackie A y *Enterovirus 71* (EV71), *Epidermophyton* spp, *Epstein-Barr Virus* (EBV), *Escherichia coli* O157:H7, O111 y O104:H4, *Fasciola hepatica* y *Fasciola gigantica*, FFI prion, *Filarioidea* superfamily, *Flaviviruses*, *Francisella tularensis*, *Fusobacterium* genus, *Geotrichum candidum*, *Giardia intestinalis*, *Gnathostoma* spp, GSS prion, *Guanarito virus*, *Haemophilus ducreyi*, *Haemophilus influenzae*, *Helicobacter pylori*, *Henipavirus* (Hendra virus Nipah virus), virus de Hepatitis A, virus de Hepatitis B (HBV), virus de Hepatitis C (HCV), virus de Hepatitis D, virus de Hepatitis E, virus de Herpes simplex 1 y 2 (HSV-1 y HSV-2), *Histoplasma capsulatum*, VIH (virus de inmunodeficiencia humana), *Hortaea werneckii*, *Human bocavirus* (HBoV), virus de herpes humana 6 (HHV-6) y virus de herpes humana 7 (HHV-7), *Human metapneumovirus* (hMPV), virus de papiloma humana (HPV), virus de parainfluenza humana (HPIV), virus encefalitis japonesa, virus JC, virus Junin, *Kingella kingae*, *Klebsiella granulomatis*, Kuru prion, virus Lassa, *Legionella pneumophila*, *Leishmania* genus, *Leptospira* genus, *Listeria monocytogenes*, virus Lymphocytic choriomeningitis (LCMV), virus Machupo, *Malassezia* spp, virus Marburg, virus Measles, *Metagonimus yokogawai*, *Microsporidia* phylum, virus *Molluscum contagiosum* (MCV), virus Mumps, *Mycobacterium leprae* y *Mycobacterium lepromatosis*, tuberculosis *Mycobacterium*, *Mycobacterium ulcerans*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Naegleria fowleri*, *Necator americanus*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Nocardia asteroides*, *Nocardia* spp, *Onchocerca volvulus*, *Orientia tsutsugamushi*, *Orthomyxoviridae* family (Influenza), *Paracoccidioides brasiliensis*, *Paragonimus* spp, *Paragonimus westermani*, *Parvovirus B19*, *Pasteurella* genus, *Plasmodium* genus, *Pneumocystis jirovecii*, *Poliovirus*, virus de la rabia, virus sincitial respiratorio (RSV), *Rhinovirus*, *Rhinoviruses*, *Rickettsia akari*, *Rickettsia* genus, *Rickettsia prowazekii*, *Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia typhi*, Rift Valley fever virus, *Rotavirus*, *Rubella virus*, *Sabia virus*, *Salmonella* genus, *Sarcoptes scabiei*, SARS coronavirus, *Schistosoma* genus, *Shigella* genus, Sin Nombre virus, *Hantavirus*, *Sporothrix schenckii*, *Staphylococcus* genus, *Staphylococcus* genus, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Strongyloides stercoralis*, *Taenia* genus, *Taenia solium*, virus de encefalitis transmitida por garrapatas (TBEV), *Toxocara canis* or *Toxocara cati*, *Toxoplasma gondii*, *Treponema pallidum*, *Trichinella spiralis*, *Trichomonas vaginalis*, *Trichophyton* spp, *Trichuris trichiura*, *Trypanosoma brucei*, *Trypanosoma cruzi*, *Ureaplasma urealyticum*, virus de varicela zoster (VZV), virus de varicela zoster (VZV), Viruela elevada o viruela mínima, vCJD prion, virus de encefalitis equina Venezolana, *Vibrio cholerae*, virus de Nilo Occidental, virus de encefalitis equina Occidental, *Wuchereria bancrofti*, virus de fiebre amarilla, *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pestis* y *Yersinia pseudotuberculosis*.
- 20
- 25
- 30
- 35
- 40
- 45
- 50
- 55 Además, el antígeno patogénico (antígeno derivado de un patógeno asociado con una enfermedad infecciosa) aquí descrito se puede seleccionar de los siguientes antígenos: la proteína de membrana externa *OmpA*, la biopelícula asociada con la proteína *Bap*, la proteína de transporte *Muck* (infecciones por *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter*); la glucoproteína *VSG* superficial variable, la proteínas *MAPP15* microtubular asociada, trans-sialidasa *TSA* (*Trypanosoma brucei*, enfermedad del sueño africano (African trypanosomiasis));
- 60 Antígeno *p24* del VIH, las proteínas con envoltura del VIH (*gp120*, *gp41*, *gp160*), la poliproteína *GAG*, la proteína del factor negativo *Nef*, el trans-activador *Tat* de transcripción (virus de la inmunodeficiencia humana VIH), SIDA (síndrome de inmunodeficiencia adquirida); la proteína de adherencia de galactosa-inhibitable *GIAP*, antígeno *Eh29* de 29 kDa, lectina *Gal/GalNAc*, proteína *CRT*, antígeno inmunodominante de 125 kDa, proteína *M17*, adhesina *ADH112*, proteína *STIRP* (*Entamoeba histolytica*, *Amoebiasis*); proteínas superficiales

mayores 1-5 (MSP1a, MSP1b, MSP2, MSP3, MSP4, MSP5), las proteínas del sistema de secreción tipo IV (VirB2, VirB7, VirB11, VirD4) (*Anaplasma* genus, anaplasmosis); antígeno protector PA, factor de edema EF, factor letal LF, proteínas de homología con capa S SLH (*Bacillus anthracis*, ántrax); acranolisina, fosfolipasa D, proteína de unión a colágeno CbpA (infección por *Arcanobacterium haemolyticum*, *Arcanobacterium haemolyticum*); proteína nucleocápside NP, precursor de glucoproteína GPC, glucoproteína GP1, glucoproteína GP2 (virus Junin, fiebre hemorrágica argentina); proteínas con capa de proteína quitina, antígeno superficial de 14 kDa A14, proteína principal de esperma MSP, proteína organizadora de polimerización MSP MPOP, proteína de fibra MSP 2 MFP2, quinasa para activación de polimerización MSP MPAK, proteína similar a ABA-1 ALB, proteína ABA-1, cuticulina CUT-1 (*Ascaris lumbricoides*, ascariasis); alérgeno de 41 kDa Asp v13, alérgeno Asp f3, la proteína de barra cilíndrica A de superficie conideal principal, proteasa pep1p, proteína anclada a GPI Gel1p, proteína anclada a GPI Crf1p (*Aspergillus* genus, Aspergillosis); proteína de la familia VP26, proteína VP29 (infección por *Astroviridae*, *Astrovirus*); proteína roptri-asociada 1 PAR-1, los antígenos superficiales del merozoitos MSA-1, MSA-2 (a1, a2, b, c), 12D3, 11C5, 21B4, P29, antígeno superficial de eritrocitos variantes VESA1, antígeno de membrana apical 1 AMA-1 (género *Babesia*, babesiosis); hemolisina, enterotoxina C, pX01-51, glicolato oxidasa, transportador ABC, proteína de unión a penicilina, proteína de la familia transportadora de zinc, pseudouridina sintasa Rsu, proteína para replicación de plásmidos RepX, oligoendopeptidasa F, proteína de membrana profgo, proteína HemK, antígeno flagelar H, antígeno de superficie celular 28.5-kDa (infección por *Bacillus cereus*, *Bacillus cereus*); antígeno T largo LT, antígeno T pequeño, proteína con cápside protein VP1, proteína cápside VP2 (virus BK, infección por el virus BK); proteína de 29 kDa, antígenos similares a caspasa-3, las glucoproteínas (infección por *Blastocystis hominis*, *Blastocystis hominis*); adhesina con superficie de levadura WI-1 (*Blastomyces dermatitidis*, *Blastomycosis*); nucleoproteína N, polimerasa L, proteína matriz Z, glucoproteína GP (Machupo virus, fiebre hemorrágica Boliviana); proteína de superficie externa A OspA, proteína de superficie externa OspB, proteína de superficie externa OspC, proteína de unión a decorina A DbpA, proteína de unión a decorina B DbpB, proteína Fla con núcleo de 41 kDa de filamentos flagelares, proteína de membrana básica A precursora BmpA (Antígeno inmunodominante P39), precursor de lipoproteína 22 kDa de superficie externa (antígeno IPLA7), lipoproteína vlsE de superficie variable (infección por *Borrelia* genus, *Borrelia*); *Botulinum neurotoxins* BoNT/A1, BoNT/A2, BoNT/A3, BoNT/B, BoNT/C, BoNT/D, BoNT/E, BoNT/F, BoNT/G, toxina botulinum recombinante F dominio Hc FHc (*Clostridium botulinum*, *Botulism* (y botulismo infantil)); nucleocápside, precursor de glucoproteínas (virus Sabia, fiebre hemorrágica Brasileña); superóxido dismutasa de cobre/Zinc SodC, bacterioferritina Bfr, proteína robosómica 50S RpIL, proteína que contiene un dominio transmembrana similar a OmpA Omp31, proteína M5 P39 de 39-kDa inmunogénica, proteína de unión a zinc znuA periplásmica transportadora de ABC y zinc, proteína inmunogénica periplásmica Bp26, proteína ribosómica 30S S12 RpsL, gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa Gap, precursor de la proteína inmunogénica de membrana exterior de 25 kDa Omp25, proteína B de invasión IalB, factor desencadenador Tig, chaperona molecular DnaK, peptidil-prolil cis-transisomerasa putativa SurA, lipoproteína Omp19, proteína de membrana externa MotY Omp16, proteína de membrana externa conservada D15, malato deshidrogenasa Mdh, componente del sistema de secreción Tipo IV (T4SS) VirJ, lipoproteína de función desconocida BAB1_0187 (*Brucella* genus, *Brucellosis*); miembros de la familia de transportadores ABC (LolC, OppA, y PotF), proteína transmembrana del sistema para liberación de lipoproteína putativa LolC/E, flagelina FlIC, motilidad intracelular *Burkholderia* A BimA, factor de alargamiento bacteriano-Tu EF-Tu, proteína similar a OmpA de 17 kDa, proteína codificante boaA, proteína codificante boaB (*Burkholderia cepacia* y otras especies de *Burkholderia*, infección por *Burkholderia*); micolil-transferasa Ag85A, proteína de choque térmico Hsp65, proteína TB10.4, antígeno de 19 kDa, proteína PstS3, proteína de choque térmico Hsp70 (*Mycobacterium ulcerans*, *Buruli ulcer*); proteínas cápside virales VP1 y VP2 mayores y menores de norovirus, poliproteína genómica, proteína con cápside de Sapovirus VP1, proteína Vp3, poliproteína genómica (familia de *Caliciviridae*, infección por *Calicivirus* (*Norovirus* y *Sapovirus*)); proteína de membrana externa principal PorA, flagelina FlaA, antígeno superficial CjaA, proteína de unión a fibronectina CadF, proteína transportadora de ABC Peb1A de unión a aspartato/glutamato, proteína FspA1, proteína FspA2 (*Campylobacter* genus, *Campylobacteriosis*); enzima glucolítica enolasa, proteinasas aspartato secretadas SAP1-10, proteína de pared celular enlazada a glucofosfatidilinositol (GPI), proteína Hyr1, proteína relacionada con el receptor 3 complementario CR3-RP, adhesina Als3p, proteína de choque térmico hsp90 de 90 kDa, proteína de hidrofobicidad de superficie celular CSH (por lo general *Candida albicans* y otras especies de *Candida*, *Candidiasis*); antígeno de 17-kDa, proteína P26, adhesinas autotransportadoras triméricas TAA, adhesina A de *Bartonella* BadA, proteínas Vomps de membrana externa expresada variablemente, proteína Pap3, proteína HbpA, protease HtrA envoltura-asociada, proteína OMP89, proteína GroEL, proteína LalB, proteína OMP43, dihirolipoamida succiniltransferasa SucB (*Bartonella henselae*, enfermedad de araña-gato); proteína-2 con superficie amastigote, proteína SSP4 con superficie amastigote-específica, cruzipaina, trans-sialidasa TS, glucoproteína de superficie tripomastigote TSA-1, proteína reguladora complementaria CRP-10, proteína G4, proteína G2, proteína de bastón paraxonemal PAR2, componente4 de bastón paraflagelar Par1, Proteínas superficiales mucina-asociadas MPSP (*Trypanosoma cruzi*, enfermedad de Chagas (*American trypanosomiasis*)); glucoproteínas con envoltura (gB, gC, gE, gH, gI, gK, gL) (virus de varicela zoster (VZV), *Chickenpox*); proteína de membrana externa principal MOMP, proteína de membrana externa probable PMPC, proteína compleja de membrana externa B OmcB, proteínas de choque térmico Hsp60 HSP10, proteína IncA, proteínas provenientes del sistema de secreción tipo III, proteína de cadena pequeña de reductasa y

ribonucleótido NrdB, proteína plasmídica Pgp3, proteína externa declamada N CopN, antígeno CT521, antígeno CT425, antígeno CT043, antígeno TC0052, antígeno TC0189, antígeno TC0582, antígeno TC0660, antígeno TC0726, antígeno TC0816, antígeno TC0828 (*Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia*); proteína de respuesta a calcio bajo E LCrE, proteína externa de clamidia N CopN, proteína quinasa de serina/treonina PknD, proteína portadora de acilo-S-maloniltransferasa FabD, proteína de unión a ADN de cadena individual de Ssb, proteína de membrana externa principal MOMP, proteína de membrana externa 2 Omp2, familia de proteínas de membrana polimórfica (Pmp1, Pmp2, Pmp3, Pmp4, Pmp5, Pmp6, Pmp7, Pmp8, Pmp9, Pmp10, Pmp11, Pmp12, Pmp13, Pmp14, Pmp15, Pmp16, Pmp17, Pmp18, Pmp19, Pmp20, Pmp21) (infección por *Chlamydia pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*); toxina B del cólera CTB, pilin corregulado de toxina A TcpA, pilin corregulado de toxina TcpF, proteína para biosíntesis de pilus co-regulado de toxina F TcpF, subunidad A de enterotoxina del cólera, la subunidad B de enterotoxina del cólera, enterotoxina ST estable al calor, hemaglutinina sensible de manosa MSHA, proteína de membrana externa U Porin ompU, proteína Poring B, proteína de membrana polimórfica D (*Vibrio cholerae*, *Cholera*); propionil-CoA carboxilasa PCC, proteína 14-3-3, inhibidora, proteasa de cisteína, transferasas de glutatión, gelsolina, cathepsina L, proteinasa CatL, proteína Tegumental 20.8 kDa TP20.8, proteína tegumental 31.8 kDa TP31.8, fosfatasa de ácido lisofosfatídico LPAP, (*Clonorchis sinensis*, *Clonorchiasis*); proteínas de capa superficial SLP, antígeno de glutamato deshidrogenasa GDH, toxina A, toxina B, cisteína proteasa Cwp84, cisteína proteasa Cwp13, cisteína proteasa Cwp19, proteína de pared celular CwpV, proteína flagelar FliC, proteína flagelar FliD (infección por *Clostridium difficile*, *Clostridium difficile*); rinovirus: proteínas cápside VP1, VP2, VP3, VP4; coronavirus: proteínas spike S, proteínas con envoltura E, proteínas de membrana M, proteínas nucleocápside N (por lo general rinovirus y coronavirus, resfriado común (rinofaringitis viral aguda; *Acute coryza*)); proteína prion Prp (prion CJD, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (CJD)); proteína con envoltura Gc, proteína con envoltura Gn, proteínas nucleocápside (virus de fiebre hemorrágica Crimean-Congo, fiebre hemorrágica Crimean-Congo (CCHF)); helicase con ARN de cuadro DEAD virulencia-asociado VAD1, proteína de galactoxilomanano GalXM, glucuronoxilomanano GXM, manoproteína MP (*Cryptococcus neoformans*, *Cryptococcosis*); proteína ribosómica ácida P2 CpP2, antígenos de mucina Muc1, Muc2, Muc3 Muc4, Muc5, Muc6, Muc7, proteína de adherencia superficial CP20, proteína de adherencia superficial CP23, proteína superficial CP12, proteína superficial CP21, proteína superficial CP40, proteína superficial CP60, proteína superficial CP15, glucopéptidos superficie-asociados gp40, glucopéptidos superficie-asociados gp15, proteína de pared de oocitos AB, profilina PRF, apirasa (*Cryptosporidium* genus, *Cryptosporidiosis*); proteína-1 de unión a ácido graso y retinol FAR-1, inhibidor de tejidos de metaloproteína TIMP (TMP), cisteína proteinasa ACEY-1, cisteína proteinasa ACCP-1, antígeno superficial Ac-16, proteína 2 secretada ASP-2, metaloproteasa 1 MTP-1, inhibidor de aspartilproteasa API-1, antígeno superficie-asociado SAA-1, factor secretado adulto-específico Xa anticoagulante del inhibidor de proteasa de serina AP, proteasa aspártica similar a catepsina D ARR-1 (usualmente *Ancylostoma braziliense*; otros múltiples parásitos, *Cutaneous larva migrans* (CLM)); proteasas similares a catepsina L, antígeno 53/25-kDa, miembros de la familia de 8kDa, proteína de ácido cítrico con una actividad similar a tripsina marginal TsAg5, proteína oncosfere TSOL18, proteína oncosfere TSOL45-1A, lactato deshidrogenasa A LDHA, lactato deshidrogenasa B LDHB (*Taenia solium*, *Cysticercosis*); antígeno pp65, proteína de membrana pp15, proteína tegumental cápside-proximal pp150, proteína M45, ADN polimerasa UL54, helicasa UL105, glucoproteína gM, glucoproteína gN, glucoproteína H, glucoproteína B gB, proteína UL83, proteína UL94, proteína UL99 (*Citomegalovirus* (CMV), infección por *Citomegalovirus*); proteína cápside C, proteína premembrana prM, proteína membrana M, proteína con envoltura E (dominio I, dominio II, dominio III), proteína NS1, proteína NS2A, proteína NS2B, proteína NS3, proteína NS4A, proteína 2K, proteína NS4B, proteína NS5 (*Virus del dengue* (DEN-1, DEN-2, DEN-3 y DEN-4)–*Flavivirus*, fiebre de Dengue); proteína de 39kDa (*Dientamoeba fragilis*, *Dientamoebiasis*); precursor de la toxina de difteria Tox, toxina de difteria DT, sortasa pilin-específica SrtA, proteína pilin de eje SpaA, proteína pilin punta SpaC, proteína pilin menor SpaB, proteína superficie-asociado DIP1281 (*Corynebacterium diphtheriae*, *Diphtheria*); glucoproteína GP, nucleoproteína NP, proteína matriz menor VP24, proteína matriz mayor VP40, activador de transcripción VP30, cofactor de polimerasa VP35, polimerasa L de ARN (*Ebolavirus* (EBOV), fiebre hemorrágica de Ebola); proteína prion vCJD, enfermedad variante de Creutzfeldt-Jakob (vCJD, nvCJD)); proteína del sistema UvrABC B, proteína Flp1, proteína Flp2, proteína Flp3, proteína TadA, receptor de hemoglobina HgbA, proteína de membrana externa TdhA, proteína CpsRA, regulador CpxR, proteína SapA, antígeno de 18 kDa, proteína de membrana externa NcaA, proteína LspA, proteína LspA1, proteína LspA2, proteína LspB, componente de membrana externa DsrA, lectina DltA, lipoproteína Hlp, proteína de membrana externa principal OMP, proteína de membrana externa OmpA2 (*Haemophilus ducreyi*, *Chancroid*); aspartilproteasa 1 Pep1, fosfolipasa B PLB, alfa-manosidasa 1 AMN1, glucanosiltransferasa GEL1, ureasa URE, proteína de matriz peroxisomal Pmp1, antígeno rico en prolina Pra, proteína reactiva de linfocitos T humanos TcrP (*Coccidioides immitis* y *Coccidioides posadasii*, *Coccidioidomycosis*); alérgeno Tri r2, proteína de choque térmico 60 Hsp60, actina fungal Act, antígeno Tri r2, antígeno Tri r4, antígeno Tri t1, proteína IV, glicerol-3-fosfato deshidrogenasa Gpd1, osmodetector HwSho1A, osmodetector HwSho1B, histidina quinasa HwHhk7B, alérgeno Mala s 1, alérgeno Mala s 11, tioredoxina Trx Mala s 13, alérgeno Mala f, alérgeno Mala s (usualmente *Trichophyton* spp., *Epidermophyton* spp., *Malassezia* spp., *Hortaea werneckii*, *Dermatophytosis*); proteína EG95, proteína EG10, proteína EG18, proteína EgA31, proteína EM18, antígeno EPC1, antígeno B, antígeno 5, proteína P29, proteína 14-3-3, 8-kDa proteína, miofilina, proteína de choque térmico 20 HSP20, glucoproteína GP-89, ácido graso

proteína de unión FAPB (*Echinococcus* genus, *Echinococcosis*); proteína 2 de superficial principal MSP2, proteína 4 de superficie principal MSP4, variante MSP SGV1, variante MSP SGV2, proteína de membrana externa OMP, proteína de membrana externa 19 OMP-19, proteína antigénica principal MAP1, proteína antigénica principal MAP1-2, proteína antigénica principal MAP1B, proteína antigénica principal MAP1-3,

5 proteína codificante de Erum2510, proteína GroEL, proteína GroES, proteínas de membrana externa principal de 30-kDa, proteína GE de 100-kDa, proteína GE de 130-kDa, proteína GE de 160-kDa (*Ehrlichia* genus, *Ehrlichiosis*); antígeno secretado SagA, proteínas similares a sagA, SalA y SalB, colágeno adhesina Scm, proteínas superficiales Fms1 (EbpA(fm), Fms5 (EbpB(fm), Fms9 (EpbC(fm) y Fms10, proteína EbpC(fm), glucoproteína inmunoprotectora G1 de 96 kDa (*Enterococcus* genus, infección por *Enterococcus*); poliproteína de genoma, polimerasa 3D, proteína con cápside viral VP1, proteína con cápside viral VP2, proteína con cápside viral VP3, proteína con cápside viral VP4, proteasa 2A, proteasa 3C (*Enterovirus* genus, infección por *Enterovirus*); proteínas de membrana externa OM, proteína de membrana externa de 60 kDa, antígeno de superficie celular OmpA, antígeno de superficie celular OmpB (sca5), proteína de membrana externa de 134 kDa, proteína de membrana externa de 31 kDa, proteína de membrana externa de 29.5 kDa, proteína de superficie celular SCA4, proteína de superficie celular Adr1 (RP827), proteína de superficie celular Adr2 (RP828), proteína de superficie celular SCA1, proteína de invasión invA, proteína de división celular fts, proteínas de secreción sec Ofamily, proteínas de virulencia virB, tlyA, tlyC, proteína similar a parvulina Plp, translocasa preproteínica SecA, antígeno de proteína superficial SPA de 120-kDa, antígeno complejo de 138 kD, proteína principal de 100-kD (proteína I), proteína intracitoplásmica D, antígeno de la proteína superficial protectora SPA (*Rickettsia prowazekii*, tifus Epidémico); antígenos nucleares Epstein-Barr (EBNA-1, EBNA-2, EBNA-3A, EBNA-3B, EBNA-3C, EBNA-proteína líder (EBNA-LP)), proteínas de membrana latente (LMP-1, LMP-2A, LMP-2B), anteriormente el antígeno EBV-EA, antígeno de membrana EBV-MA, antígeno cápside viral EBV-VCA, nucleasa alcalina EBV-AN, glucoproteína H, glucoproteína gp350, glucoproteína gp110, glucoproteína gp42, glucoproteína gHgL, glucoproteína gB (virus Epstein-Barr (EBV), Mononucleosis infecciosa del virus Epstein-Barr); proteína con cápside VP2, proteína con cápside VP1, proteína principal NS1 (*Parvovirus* B19, *Erythema infectiosum* (quinta enfermedad)); antígeno pp65, glucoproteína 105, proteína con cápside principal, glucoproteína con envoltura H, proteína U51 (herpesvirus humano 6 (HHV-6) y herpesvirus humano 7 (HHV-7), *Exanthem subitum*); tioredoxin-glutación reductasa TGR, catepsina L1 y L2, proteína tipo Kunitz KTM, leucina aminopeptidasa LAP, cisteína proteinasa Fas2, proteína-2 similar a saposin SAP-2, tioredoxinperoxidasa TPx, Prx-1, Prx-2, cisteína proteinasa de catepsina 1 CL3, proteasa de catepsina L CL1, fosfoglicerato quinasa PGK, proteína secretora de 27-kDa, proteína de 60 kDa HSP35alpha, glutación transferasa GST, antígeno tegumental de 28.5 kDa 28.5 kDa TA, proteasa de catepsina B3 CatB3, cistatin stefin-1 Tipo I, catepsina L5, catepsina L1g y catepsina B, proteína de unión con ácido graso FABP, leucina aminopeptidasas LAP (*Fasciola hepatica* y *Fasciola gigantica*, *Fasciolosis*); proteína prion (prion FFI, insomnio familiar fatal (FFI)); proteína similar al homólogo alérgeno de veneno VAL-1, transcripción larval abundante ALT-1, transcripción larval abundante ALT-2, tioredoxin peroxidasa TPX, homólogo alérgeno de avispa VAH, thiorodoxina peroxidasa 2 TPX-2, proteína antigénica SXP (péptidos N, N1, N2, y N3), proteína-1 asociada con la activación ASP-1, Tioredoxina TRX, transglutaminasa BmTGA, glutación-S-transferasas GST, miosina, homólogo del alérgeno de avispa VAH, colagenasa de 175 kDa, gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa GAPDH, colágeno cuticular Col-4, proteínas ácidas larvales secretadas SLAP, quitinasa CHI-1, proteína de unión a maltosa MBP, enzima glucolítica fructuosa-1,6-bisfosfato aldolasa Fba, tropomiosina TMY-1, producto génico nematodo específico OvB20, oncocistatina CPI-2, Cox-2 (superfamilia de Filarioidea, *Filariasis*); fosfolipasa C PLC, enterotoxina termo-lábil B, componente de la toxina Iota Ib, proteína CPE1281, piruvato ferredoxinoxidoreductasa, factor de alargamiento G EF-G, perfringolisina O Pfo, gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa GapC, Fructosa-bisfosfato aldolasa Alf2, enterotoxina de *Clostridium perfringens* CPE, toxina alfa AT, toxoide alfa ATd, toxoide epsilon ETd, proteína HP, citotoxina larga TpeL, endo-beta-N-acetilglucosaminidasa Naglu, fosfogliceromutasa Pgm (*Clostridium perfringens*, envenenamiento de alimentos por *Clostridium perfringens*); leucotoxina lktA, adhesión FadA, proteína de membrana externa RadD, proteína de unión a arginina de alto molecular (género *Fusobacterium*, infección por *Fusobacterium*); fosfolipasa C PLC, enterotoxina termo-lábil B, componente de toxina Iota Ib, proteína CPE1281, piruvato ferredoxinoxidoreductasa, factor de alargamiento G EF-G, perfringolisina O Pfo, gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa GapC, fructosa-bisfosfato aldolasa Alf2, enterotoxina *Clostridium perfringens* CPE, toxina alfa AT, toxoide alfa ATd, toxoide epsilon ETd, proteína HP, citotoxina larga TpeL, endo-beta-N-acetilglucosaminidasa Naglu, fosfogliceromutasa Pgm (usualmente *Clostridium perfringens*; otra especie de *Clostridium*, Gas gangrene (*Clostridium myonecrosis*)); lipasa A, lipasa B, peroxidasa Dec1 (*Geotrichum candidum*, *Geotrichosis*); proteína prion (prion GSS, síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker (GSS)); proteína de pares quística CWP1, CWP2, CWP3, proteína superficial variante VSP, VSP1, VSP2, VSP3, VSP4, VSP5, VSP6, antígeno de 56 kDa, piruvato ferredoxinoxidoreductasa PFOR, alcohol deshidrogenasa E ADHE, alfa-giardin, alfa-1-giardin, beta-giardin, cisteína proteasas, glutación-S-transferasa GST, arginina deiminasa ADI, fructosa-1,6-bisfosfato aldolasa FBA, antígenos de *Giardia trophozoite* GTA (GTA1, GTA2), ornitincarboxiltransferasa OCT, proteína similar a asseblin de fibra estriada SALP, proteína similar a uridinfosforilo UPL, alfa-tubulina, beta-tubulina (*Giardia intestinalis*, *Giardiasis*); miembros de la familia de transportadores de ABC (LoIC, OppA, y PotF), proteína transmembrana del sistema para liberación de lipoproteínas putativas LoIC/E, flagelina FliC, motilidad intracelular de *Burkholderia* A BimA, factor de alargamiento bacteriano-Tu EF-Tu, proteína similar a OmpA de

60

17 kDa, proteína codificante *boaA* (*Burkholderia mallei*, Glanders); ciclofilina *CyP*, proteína de larva en tercera etapa de 24 kDa *GS24*, productos de excreción-secreción *ESPs* (40, 80, 120 y 208 kDa) (*Gnathostoma spinigerum* y *Gnathostoma hispidum*, *Gnathostomiasis*); proteínas pilin, subunidad pilin asociada menor *pilC*, subunidad pilin mayor y variantes *pilE*, *pilS*, proteína de variación de fase *porA*, *Porin B* *PorB*, proteína *TraD*,
5 antígeno de membrana externa *Neisserial H.8*, antígeno de 70kDa, proteína de membrana externa principal *PI*, proteínas de membrana externa *PIA* y *PIB*, antígeno *W*, proteína superficial *A NspA*, proteína de unión a transferrina *TbpA*, proteína de unión a transferrina *TbpB*, *PBP2*, proteína codificante *mtrR*, proteína codificante *ponA*, permeasa de membrana *FbpBC*, sistema de proteína *FbpABC*, proteínas *LbpAB*, proteína de membrana externa *Opa*, transportador de membrana externa *FetA*, regulador de hierro represado (*Neisseria gonorrhoeae*,
10 *Gonorrhoea*); proteína de membrana externa *A OmpA*, proteína de membrana externa *C OmpC*, proteína de membrana externa *K17 OmpK17* (*Klebsiella granulomatis*, *Granuloma inguinale* (*Donovanosis*)); proteína de unión a fibronectina *Sfb*, proteína de unión fibronectina/fibrinógeno *FBP54*, proteína de unión a fibronectina *FbaA*, proteína *M* tipo 1 *Emm1*, proteína *tM* ipo 6 *Emm6*, proteína de unión a inmunoglobulin 35 *Sib35*, Proteína superficial *R28 Spr28*, superóxido dismutasa *SOD*, peptidasa *C5a ScpA*, antígeno *I/II AgI/II*, adhesina *AspA*, proteína de unión a macroglobulina alfa2 de *G-GRAB* relacionada, proteína fibrilar superficial *M5* (infección por *Streptococcus pyogenes*, Grupo *A streptococcal*); antígeno β de proteína *C*, proteínas de arginina desaminasa, adhesina *BibA*, proteína de 105 kDa *BPS*, antígenos superficiales *c*, antígenos superficiales *R*, antígenos superficiales *X*, proteína resistente a tripsina *R1*, proteína resistente a tripsina *R3*, proteína resistente a tripsina *R4*, proteína inmunogénica superficial *Sip*, proteína superficial *Rib*, proteína de repeticiones ricas en Leucina *LrrG*, proteína de repetición rica en serina *Srr-2*, antígeno alfa de proteína *C Bca*, antígeno *Beta Bag*, antígeno superficial *Epsilon*, proteína similar a alfa *ALP1*, proteína similar a alfa *ALP5* antígeno delta superficial, proteína similar a alfa *ALP2*, proteína similar a alfa *ALP3*, proteína similar a alfa *ALP4*, proteína *Cbeta Bac* (*Streptococcus agalactiae*, infección por estreptococos Grupo *B*); proteína de unión a transferrina 2 *Tbp2*, fosfatasa *P4*, proteína de membrana externa *P6*, lipoproteína *Pal* peptidoglicano-asociada, proteína *D*, proteína *E*, proteína de adherencia y penetración *Hap*, proteína de membrana externa 26 *Omp26*, proteína de membrana externa *P5* (*Fimbrin*), proteína de membrana externa *D15*, proteína de membrana externa *OmpP2*, 5'-nucleotidasa *NucA*, proteína de membrana externa *P1*, proteína de membrana externa *P2*, lipoproteína de membrana externa *Pcp*, Lipoproteína *E*, proteína de membrana externa *P4*, fuculoquinasa *FucK*, *[Cu,Zn]*-superóxido dismutasa *SodC*, proteasa *HtrA*, proteína *O145*, alfa-galactosilceramida (*Haemophilus influenzae*, infección por *Haemophilus influenzae*); polimerasa *3D*, proteína con cápside viral *VP1*, proteína con cápside viral *VP2*, proteína con cápside viral *VP3*, proteína con cápside viral *VP4*, proteasa *2A*, proteasa *3C* (*Enteroviruses*, principalmente virus de *Coxsackie A* y *Enterovirus 71* (*EV71*), enfermedad de manos, pies y boca (*HFMD*)); ARN polimerasa *L*, proteína *L*, glucoproteína *Gn*, glucoproteína *Gc*, nucleoproteína con cápside *S*, glucoproteína con envoltura *G1*, nucleoproteína *NP*, proteína *N*, poliproteína *M* (virus sin nombre, *Hantavirus*, síndrome pulmonar por hantavirus (*HPS*)); proteína de choque térmico *HspA*, proteína de choque térmico *HspB*, citrato sintasa *GlA*, proteína *UreB*, proteína de choque térmico *Hsp60*, proteína activadora de neutrófilos *NAP*, catalasa *KatA*, citotoxina vacuolante *VacA*, ureasa alfa *UreA*, ureasa beta *UreB*, proteína *Cpn10*, proteína *groES*, proteína de choque térmico *Hsp10*, proteína *MopB*, proteína de citotoxicidad asociada de 10 kDa *CAG*, antígeno de 36 kDa, beta-lactamasa *HcpA*, Beta-lactamasa *HcpB* (*Helicobacter pylori*, infección por *Helicobacter pylori*); proteínas de membrana integral, proteínas propensas a agregación, O-antígeno, antígenos tóxico *Stx2B*, antígeno tóxico *Stx1B*, fragmento de antígeno de adhesión *Int28*, proteína *EspA*, proteína *EspB*, Intimina, proteína *Tir*, proteína *IntC300*, proteína *Eae* (*Escherichia coli* *O157:H7*, *O111* y *O104:H4*, síndrome hemolítico-urémico (*HUS*)); ARN polimerasa *L*, proteína *L*, glucoproteína *Gn*, glucoproteína *Gc*, nucleoproteína con cápside *S*, glucoproteína con envoltura *G1*, nucleoproteína *NP*, proteína *N*, poliproteína *M* (familia *Bunyaviridae*, *Fiebre hemorrágica con síndrome renal* (*HFRS*)); glucoproteína *G*, proteína matriz *M*, nucleoproteína *N*, proteína de fusión *F*, polimerasa *L*, proteína *W*, proteína *C*, fosfoproteína *P*, proteína no estructural *V* (virus *Henipavirus* (*Hendra virus Nipah*), infecciones *Henipavirus*); poliproteína, glucoproteína *Gp2*, antígeno superficial de hepatitis *A HBAG*, proteína *2A*, proteína viral *VP1*, proteína viral *VP2*, proteína viral *VP3*, proteína viral *VP4*, proteína *P1B*, proteína *P2A*, proteína *P3AB*, proteína *P3D* (Virus de Hepatitis *A*, Hepatitis *A*); antígeno superficial hepatitis *B HBsAg*, antígeno núcleo de Hepatitis *B HbcAg*, polimerasa, proteína *Hbx*, proteína superficial media *preS2*, proteína superficial *L*, proteína larga *S*, proteína viral *VP1*, proteína viral *VP2*, proteína viral *VP3*, proteína viral *VP4* (Virus de Hepatitis *B* (*HBV*), Hepatitis *B*); glucoproteína de envoltura *E1 gp32 gp35*, glucoproteína con envoltura *E2 NS1 gp68 gp70*, proteína con cápside *C*, proteína núcleo *Core*, poliproteína, proteína viral *VP1*, proteína viral *VP2*, proteína viral *VP3*, proteína viral *VP4*, antígeno *G*, proteína *NS3*, proteína *NS5A*, (Virus de Hepatitis *C*, Hepatitis *C*); proteína viral *VP1*, proteína viral *VP2*, proteína viral *VP3*, proteína viral *VP4*, antígeno delta largo de hepaptitis, antígeno delta pequeño de hepaptitis (virus de Hepatitis *D*, Hepatitis *D*); proteína viral *VP1*, proteína viral *VP2*, proteína viral *VP3*, proteína viral *VP4*, proteína con cápside *E2* (virus de Hepatitis *E*, Hepatitis *E*); glucoproteína *L UL1*, uracil-ADN glucosilasa *UL2*, proteína *UL3*, proteína *UL4*, proteína ADN de replicación *UL5*, proteína portal *UL6*, proteína para maduración de viriones *UL7*, ADN helicasa *UL8*, proteína de unión al origen de replicación *UL9*, glucoproteína *M UL10*, proteína *UL11*, exonucleasa alcalina *UL12*, proteína quinasa de serina-treonina *UL13*, proteína tegumentaria *UL14*, terminasa *UL15*, proteína tegumentaria *UL16*, proteína *UL17*, proteína con cápside *VP23 UL18*, proteína con cápside principal *VP5 UL19*, proteína con membrana *UL20*, proteína tegumentaria *UL21*, Glucoproteína *H* (*UL22*), Timidina quinasa *UL23*, proteína *UL24*, proteína *UL25*, proteína con cápside *P40* (*UL26*, *VP24*,

VP22A), glucoproteína B (UL27), proteína ICP18.5 (UL28), proteína principal de unión a ADN ICP8 (UL29), ADN polimerasa UL30, proteína de matriz nuclear UL31, glucoproteína con envoltura UL32, proteína UL33, proteína con membrana nuclear interna UL34, proteína con cápside VP26 (UL35), proteína tegumentaria larga UL36, proteína de ensamble cápside UL37, proteína VP19C (UL38), ribonucleótido reductasa (subunidad Largo) UL39, ribonucleótido reductasa (subunidad pequeña) UL40, proteína tegumentaria/proteína VHS para interrupción en el hospedero de viriones (UL41), factor de procesamiento de ADN polimerasa UL42, proteína con membrana UL43, glucoproteína C (UL44), proteína con membrana UL45, proteína tegumentarias VP11/12 (UL46), proteína tegumentaria VP13/14 (UL47), proteína para maduración de viriones VP16 (UL48, Alfa-TIF), proteína con envoltura UL49, dUTP difosfatasa UL50, proteína tegumentaria UL51, proteína compleja de ADN helicasa/primasa UL52, glucoproteína K (UL53), proteína para regulación transcripcional IE63 (ICP27, UL54), proteína UL55, proteína UL56, proteína de replicación viral ICP22 (IE68, US1), proteína US2, proteína quinasa de serina/treonina US3, glucoproteína G (US4), glucoproteína J (US5), glucoproteína D (US6), glucoproteína I (US7), glucoproteína E (US8), proteína tegumentaria US9, proteína con cápside/tegumentaria US10, proteína Vmw21 (US11), proteína ICP47 (IE12, US12), activador transcripcional principal ICP4 (IE175, RS1), E3 ubiquitina ligasa ICP0 (IE110), proteína 1 latencia-relacionada LRP1, proteína 2 latencia-relacionada LRP2, factor de neurovirulencia RL1 (ICP34.5), transcripción LAT latencia-asociada (Virus de herpes simplex 1 y 2 (HSV-1 y HSV-2), Herpes simplex); proteína de choque térmico Hsp60, proteína de superficie celular H1C, dipeptidilpeptidasa tipo IV DppIV, antígeno M, proteína de 70 kDa, proteína similar a histona de 17 kDa (Histoplasma capsulatum, Histoplasmosis); proteína-1 de unión a ácido graso y retinol FAR-1, inhibidor de tejidos de metaloproteinasa TIMP (TMP), cisteína proteinasa ACEY-1, cisteína proteinasa ACCP-1, antígeno superficial Ac-16, proteína secretada 2 ASP-2, metaloproteasa 1 MTP-1, inhibidor de aspartilproteasa API-1, antígeno superficial-asociado SAA-1, antígeno superficial-asociado SAA-2, factor secretado adulto-específico Xa, anticoagulante inhibidor de serina proteasa AP, proteasa aspártica similar a catepsina D ARR-1, glutatión S-transferasa GST, proteasa aspártica APR-1, acetilcolinesterasa AChE (infección por Ancylostoma duodenale y Necator americanus, Hookworm); proteína NS1, proteína NP1, proteína VP1, proteína VP2, proteína VP3 (infección por bocavirus Humano (HBoV), bocavirus Humano); proteína superficial principal 2 MSP2, proteína superficial principal 4 MSP4, variante MSP SGV1, variante MSP SGV2, proteína de membrana externa OMP, proteína de membrana externa 19 OMP-19, proteína antigénica principal MAP1, proteína antigénica principal MAP1-2, proteína antigénica principal MAP1B, proteína antigénica principal MAP1-3, proteína codificante Erum2510, proteína GroEL, proteína GroES, proteínas de membrana externa principal de 30-kDa, proteína GE de 100-kDa, proteína GE de 130-kDa, proteína GE de 160-kDa (Ehrlichia ewingii, Human ewingii ehrlichiosis); proteína principal superficiales 1-5 (MSP1a, MSP1b, MSP2, MSP3, MSP4, MSP5), proteínas del sistema de secreción tipo IV VirB2, VirB7, VirB11, VirD4 (Anaplasma phagocytofilum, anaplasmosis granulocítica Humano (HGA)); proteína NS1, proteína hidrofóbica pequeña NS2, proteína SH, proteína de fusión F, glucoproteína G, proteína de matriz M, proteína de matriz M2-1, proteína de matriz M2-2, fosfoproteína P, nucleoproteína N, polimerasa L (metapneumovirus Humano (hMPV), infección por metapneumovirus Humano); proteína superficial principal 2 MSP2, proteína superficial principal 4 MSP4, variante MSP SGV1, variante MSP SGV2, proteína de membrana externa OMP, proteína de membrana externa 19 OMP-19, proteína antigénica principal MAP1, proteína antigénica principal MAP1-2, proteína antigénica principal MAP1B, proteína antigénica principal MAP1-3, proteína codificante Erum2510, proteína GroEL, proteína GroES, proteínas de membrana externa principal de 30-kDa, proteína GE de 100-kDa, proteína GE de 130-kDa, proteína GE de 160-kDa (Ehrlichia chaffeensis, Human monocytic ehrlichiosis); proteína de replicación E1, proteína reguladora E2, proteína E3, proteína E4, proteína E5, proteína E6, proteína E7, proteína E8, proteína con cápside mayor L1, proteína con cápside menor L2 (papilomavirus humano (HPV), infección por papilomavirus humano (HPV)); proteína de fusión F, hemaglutinina-neuramidasa HN, glucoproteína G, proteína matriz M, fosfoproteína P, nucleoproteína N, polimerasa L (virus de parainfluenza humana (HPIV), infección por virus de parainfluenza humana); Hemaglutinina (HA), Neuraminidasa (NA), Nucleoproteína (NP), proteína M1, proteína M2, proteína NS1, proteína NS2 (proteína NEP: proteína de exportación nuclear), proteína PA, proteína PB1 (proteína de polimerasa básica 1), proteína PB1-F2 y proteína PB2 (familia Ortomixoviridae, virus de Influenza (gripe)); poliproteína genómica, proteína E, proteína M, proteína con cápside C (virus de encefalitis Japonesa, encefalitis Japonesa); toxina RTX, pili tipo IV, pilus mayor subunidad PilA, factores de transcripción reguladora PilS y PilR, proteína sigma54, proteínas de membrana externa (Kingella kingae, infección por Kingella kingae); proteína prion (Kuru prion, Kuru); nucleoproteína N, polimerasa L, proteína de matriz Z, glucoproteína GP (Lassa virus, fiebre de Lassa); lipoproteína peptidoglican-asociada PAL, chaperonina de 60 kDa Cpn60 (groEL, HspB), pilin PilE tipo IV, proteína de membrana externa MIP, proteína de membrana externa mayor MompS, metaloproteinasa de zinc MSP (Legionella pneumophila, Legionellosis (enfermedad del Legionario, fiebre Pontiac)); nucleasa P4, proteína WD, reductasa ribonucleótido M2, superficie de membrana glucoproteína Pg46, cisteína proteinasa CP, proteína glucosa-regulada 78 GRP-78, proteína similar al antígeno S en etapa específica A2, ATPasa F1, beta-tubulina, proteína de choque térmico 70 Hsp70, KMP-11, glucoproteína GP63, proteína BT1, nucleósido hidrolasa NH, proteína de superficie celular B1, proteína P1 similar a la proteína ribosómica P1, esterol 24-c-metiltransferasa SMT, proteína LACK, histona H1, proteína SPB1, antioxidante tiol-específico TSA, antígeno proteínico STI1, señal de peptidasa SP, histona H2B, antígeno superficial PSA-2, cisteína proteinasa b Cpb (género Leishmania, Leishmaniasis); proteína con membrana mayor I, antígeno rico en serina de 45 kDa, caperonina de 10 kDa GroES, antígeno HSP kDa, amino-oxononanoato sintasa AONS,

recombinasa proteínica A RecA, Acetil-/propionil-coenzima A carboxilasa alfa, alanina racemasa, chaperonina 2 de 60 kDa, proteína EcxB similar ESAT-6 (L-ESAT-6), proteína Lsr2, proteína ML0276, hemaglutinina de unión a heparina HBHA, proteína de choque térmico 65 Hsp65, proteína codificante de mycP1 o ML0041, proteína codificante htrA2 o ML0176, proteína codificante de htrA4 o ML2659, proteína codificante de gcp o ML0379, proteína codificante de clpC o ML0235 (*Mycobacterium leprae* y *Mycobacterium lepromatosis*, Leprosy); proteína de membrana externa LipL32, proteína con membrana LIC10258, proteína con membrana LP30, proteína con membrana LIC12238, proteína similar Ompa Lsa66, proteína superficial LigA, proteína superficial LigB, proteína de membrana externa mayor OmpL1, proteína de membrana externa LipL41, proteína LigAni, proteína superficial LcpA, proteína de adhesión LipL53, proteína de membrana externa Upl32, proteína superficial Lsa63, flagelina FlaB1, lipoproteína de membrana LipL21, proteína con membrana pL40, adhesina superficial leptospiral Lsa27, proteína de membrana externa OmpL36, proteína de membrana externa OmpL37, proteína de membrana externa OmpL47, proteína de membrana externa OmpL54, aciltransferasa LpxA (género *Leptospira*, *Leptospirosis*); precursor Hly de listeriolisina O (LLO), proteína lap asociada con invasión (P60), proteína reguladora de Listeriolisina PrfA, metaloproteínica de zinc Mpl, fosfolipasa fosfatidilinositol-específica C PLC (PlcA, PlcB), O-acetiltransferasa Oat, permeasa transportadora de ABC Im.G_1771, proteína de adhesión LAP, receptor LAP Hsp60, adhesina LapB, hemolisina listeriolisina O LLO, proteína ActA, Internalina A InIA, proteína InIB (*Listeria monocytogenes*, *Listeriosis*); proteína de superficie externa A OspA, proteína de superficie externa OspB, proteína de superficie externa OspC, proteína de unión a decorina A DbpA, proteína de unión a decorina B DbpB, proteína núcleo Fla de 41 kDa de filamentos flagelares, proteína de membrana básica A BmpA (antígeno inmunodominante P39), precursor de lipoproteína de 22 kDa de superficie externa (antígeno IPLA7), lipoproteína de superficie variable vlsE (usualmente *Borrelia burgdorferi* y otras especie de *Borrelia*, enfermedad de Lyme (Lyme borreliosis)); proteína VAL-1 similar al homólogo alérgico de veneno, transcripción ALT-1 larval abundante, transcriptasa ALT-2 larval abundante, tioredoxina peroxidasa TPX, homólogo VAH del alérgeno de avispa, tioredoxina peroxidasa 2 TPX-2, proteína antigénica SXP (peptidos N, N1, N2, y N3), proteína-1 asociada con activación ASP-1, tioredoxina TRX, transglutaminasa BmTGA, glutatión-S-transferasas GST, miosina, homólogo VAH del alérgeno de avispa, colagenasa de 175 kDa, gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa GAPDH, colágeno cuticular Col-4, proteínas ácidas larvales secretadas SLAP, quitinasa CHI-1, proteína de unión a maltosa MBP, fructosa-1,6-bisfosfato aldolasa Fba de enzimas glucolíticas, tropomiosina TMY-1, producto génico nematodo-específico OVB20, oncocistatina CPI-2, proteína Cox-2 (*Wuchereria bancrofti* y *Brugia malayi*, filariasis linfática (Elephantiasis)); glucoproteína GP, proteína de matriz Z, polimerasa L, nucleoproteína N (virus de coriomeningitis linfocítica (LCMV), *Lymphocytic choriomeningitis*); proteína TRAP anónima relacionada con trombospondina, proteína superficial de SSP2 Sporozoite 2, antígeno de membrana apical 1 AMA1, antígeno de membrana rhopty RMA1, antígeno de repetición básica ácida ABRA, proteína transversal celular PF, proteína Pvs25, proteína superficial de merozoito 1 MSP-1, proteína superficial de merozoito 2 MSP-2, antígeno superficial de eritrocitos anillo-infectados antígeno de etapa RESALiver 3 LSA-3, proteína Eba-175, antígeno 5 para repetición de serina SERA-5, proteína de circumsporozoitos CS, proteína 3 superficial de merozoito MSP3, proteína superficial 8 de merozoitos MSP8, enolasa PF10, proteína de hepatocitos-eritrocitos de 17 kDa HEP17, proteína con membrana 1 de eritrocitos EMP1, proteína superficial 4/5 de la proteína Kbetamerozoitos MSP 4/5, proteína de choque térmico Hsp90, proteína rica en glutamato GLURP, proteína superficial 4 de merozoitos MSP-4, proteína STARP, precursor antigénico relacionado con la proteína de circumsporozoitos CRA (*Plasmodium* genus, *Malaria*); nucleoproteína N, proteína de VP24 membrana-asociada, nucleoproteína menor VP30, cofactor de polimerasa VP35, polimerasa L, proteína matriz VP40, glucoproteína con envoltura GP (virus Marburg, fiebre hemorrágica Marburg (MHF)); proteína C, proteína matriz M, fosfoproteína P, proteína no estructural V, glucoproteína de hemaglutinina H, polimerasa L, nucleoproteína N, proteína de fusión F (virus de sarampión, *Sarampión*); miembros de la familia de transportadores de ABC (LoIC, OppA, y PotF), proteína transmembrana LoIC/E del sistema para liberación de lipoproteína putativa, flagelina FliC, motilidad intracelular de *Burkholderia* A BimA, factor de alargamiento bacteriano-Tu EF-Tu, proteína similar a OmpA de 17 kDa, proteína codificante boaA, proteína codificante boaB (*Burkholderia pseudomallei*, *Melioidosis* (enfermedad de Whitmore)); proteínas pilin, subunidad pilC pilin-asociada menor, subunidad pilin mayor y variantes pilE, pilS, proteína porA de variación de fase, Porin B PorB, proteína TraD, antígeno de membrana externa Neisserial H.8, antígeno de 70kDa, proteína PI de membrana externa mayor, proteínas PIA y PIB de membrana externa, antígeno W, proteína superficial A NspA, proteína de unión a transferrina TbpA, proteína de unión a transferrina TbpB, PBP2, proteína codificante mtrR, proteína codificante ponA, permeaza con membrana FbpBC, sistema proteínico FbpABC, proteínas LbpAB, proteína de membrana externa Opa, transportador de membrana externa FetA, regulador hierro-reprimido MpeR, proteína de unión al factor H fHbp, adhesina NadA, proteína NhbA, represor FarR (*Neisseria meningitidis*, enfermedad Meningococcal); proteína de 66 kDa, proteína de 22 kDa (usualmente *Metagonimus yokogawai*, *Metagonimiasis*); proteínas de tubo polar (34, 75, y 170 kDa en *Glugea*, 35, 55 y 150kDa en *Encephalitozoon*), proteína quinesina-relacionada, subunidad mayor de ARN polimerasa II, proteína con membrana similar o integral YIPA, proteína 1 anti-identificación, factor de transcripción de choque térmico HSF, proteína quinasa, timidina quinasa, proteína nucleolar similar a NOP-2 (*Microsporidia* phylum, *Microsporidiosis*); regulador de apoptosis similar a CASP8 y FADD, Glutatión peroxidasa GPX1, ARN helicasa NPH-II NPH2, subunidad catalítica de Poli(A) polimerasa PAPL, proteína con envoltura mayor P43K, subunidad VETFS de 70 kDa con factor de transcripción temprano, subunidad VETFL de 82 kDa con factor de transcripción temprano,

metaloendopeptidasa tipo G1, nucleósido trifosfatasa I NPH1, proteína de replicación similar a A28 MC134L, subunidad RPO7 de 7 kDa de ARN polimeasa (virus *Molluscum contagiosum* (MCV), *Molluscum contagiosum* (MC)); proteína matriz M, fosfoproteína P/V, proteína hidrofóbica pequeña SH, nucleoproteína N, proteína V, glucoproteína de fusión F, hemaglutinina-neuraminidasa HN, ARN polimerasa L (virus Mumps, Mumps);

5 proteínas de membrana externa OM, antígeno de superficie celular OmpA, antígeno de superficie celular OmpB (sca5), proteína de superficie celular SCA4, proteína de superficie celular SCA1, proteína intracitoplásmica D, proteína de capa superficial cristalina SLP, antígeno de proteína superficial protectora SPA (*Rickettsia typhi*, *Murine typhus* (Endemic typhus)); adhesina P1, adhesión P30, proteína p116, proteína P40, proteína citoesquelética HMW1, proteína citoesquelética HMW2, proteína citoesquelética HMW3, proteína codificante

10 MPN152, proteína codificante MPN426, proteína codificante MPN456, proteína codificante MPN-500 (*Mycoplasma pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*); NocA, proteína reguladora dependiente de hierro, VapA, VapD, VapF, VapG, proteasa caseinolítica, proteína de 43-kDa punta asociada con filamentos, proteína P24, proteína P61, proteína de 15-kDa, proteína de 56-kDa (usualmente *Nocardia asteroides* y otras especies de *Nocardia*, *Nocardiosis*); proteína similar al homólogo alérgeno de veneno VAL-1, transcripción larval abundante

15 ALT-1, transcripción larval abundante ALT-2, tioredoxina peroxidasa TPX, homólogo VAH alérgeno de avispa, tioredoxina peroxidasa 2 TPX-2, proteína antigénica SXP (péptidos N, N1, N2, y N3), proteína-1 asociada con la activación ASP-1, Tioredoxina TRX, transglutaminasa BmTGA, glutatión-S-transferasas GST, miosina, homólogo VAH de alérgeno de avispa, collagenase de 175 kDa, gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa GAPDH, colágeno cuticular Col-4, proteínas ácidas larvales secretadas SLAP, quitinasa CHI-1, proteína de unión a maltosa MBP, enzima glucolítica fructosa-1,6-bisfosfato aldolasa Fba, tropomiosina TMY-1, producto

20 génico nematodo-específico OvB20, oncocistatina CPI-2, Cox-2 (*Onchocerca volvulus*, *Onchocerciasis* (River blindness)); glucoproteína secretada de 43 kDa, glucoproteína gp0, glucoproteína gp75, antígeno Pb27, antígeno Pb40, proteína de choque térmico Hsp65, proteína de choque térmico Hsp70, proteína de choque térmico Hsp90, proteína P10, triosefosfato isomerasa TPI, lectina paracoccin de unión a N-acetil-glucosamina,

25 proteína de 28 kDa Pb28 (*Paracoccidioides brasiliensis*, *Paracoccidioidomycosis* (Blastomycosis de sudamérica)); cisteína proteasa similar a cruzipaina de 28-kDa Pw28CCP (usualmente *Paragonimus westermani* y otras especies de *Paragonimus*, *Paragonimiasis*); proteína de membrana externa OmpH, proteína de membrana externa Omp28, proteína PM1539, proteína PM0355, proteína PM1417, proteína de reparación MutL, proteína BcbC, proteína PM0305, formiato deshidrogenasa-N, proteína PM0698, proteína PM1422, girasa ADN, lipoproteína PlpE, proteína adhesiva Cp39, receptor HasR del sistema para hemo-adquisición,

30 proteína capsular de 39 kDa, OMP hierro-regulada IROMP, proteína de membrana externa OmpA87, proteína fimbrial Ptf, proteína de subunidad fimbrial PtfA, proteína de unión a transferrina TbpI, enzima esterasa MesA, toxina de *Pasteurella multocida* PMT, proteína adhesiva Cp39 (género *Pasteurella*, *Pasteurellosis*); hemaglutinina filamentosa FhaB, adenilato ciclasa CyaA, precursor PtxD de la subunidad 4 de la toxina

35 pertussis, precursor de pertactina Prn, subunidad 1 de toxinas PtxA, proteína Cpn60, proteína brkA, precursor PtxB de la subunidad 2 de la toxina pertussis, precursor PtxC de la subunidad 3 de la toxina pertussis, precursor PtxE de la subunidad 5 de la toxina pertussis, pertactina Prn, proteína Fim2, proteína Fim3; (*Bordetella pertussis*, *Pertussis* (Whooping cough)); antígeno capsular F1, antígeno virulenta-asociado V, proteína efectora secretada LcrV, antígeno V, proteasa Pla de membrana externa, proteína efectora secretada YopD,

40 proteína-tirosina fosfatasa YopH secretada putativa, subunidad mayor YscF de complejo de aguja, proteína quinasa YopO, proteína autotransportadora putativa YapF, membrana interna transportador YbtQ de ABC (Irp7), proteína de unión a azúcar putativa YPO0612, proteína de choque térmico 90 HtpG, proteína de sulfatasa putativa YdeN, proteína LolA portadora de lipoproteína de membrana externa, chaperona de secreción YerA, lipoproteína putativa YPO0420, proteína activadora de hemolisina HpmB, receptor de membrana externa para

45 pesticina/yersiniabactina Psn, proteína YopE efectora secretada, proteína YopF efectora secretada, proteína YopK efectora secretada, proteína de membrana externa YopN, proteína de membrana externa YopM, precursor de coagulasa/fibrinolisis Pla; (*Yersinia pestis*, peste); proteína PhpA, adhesina superficial PsaA, neumolisina Ply, proteasa Clp dependiente de ATP, lipoato-proteína ligasa LplA, proteína anclada a la superficie de la pared celular psrP, sortasa SrtA, glutamil-ARNt sintetasa GltX, proteína de unión A colina CbpA, proteína

50 de superficie A neumocócica PspA, proteína de superficie C pneumococal PspC, 6-fosfogluconato deshidrogenasa Gnd, proteína de unión a hierro PiaA, Murein hidrolasa LytB, proteon LytC, proteasa A1 (*Streptococcus pneumoniae*, infección *Pneumococcal*); proteína superficial mayor B, proteasa similar a quexinaKEX1, proteína A12, antígeno de 55 kDa P55, glucoproteína de superficie mayor Msg (*Pneumocystis jirovecii*, *Pneumocystis pneumonia* (PCP)); poliproteína genómica, polimerasa 3D, proteína con cápside viral

55 VP1, proteína con cápside viral VP2, proteína con cápside viral VP3, proteína con cápside viral VP4, proteasa 2A, proteasa 3C (Poliovirus, Poliomyelitis); proteína Nfa1, exendin-3, lipasa secretora, proteasa similar a catepsina B, cisteína proteasa, catepsina, peroxiredoxina, proteína Cry1Ac (usualmente *Naegleria fowleri*, meningoencefalitis amebica primaria (PAM)); agnoproteína, antígeno T largo, antígeno T pequeño, proteína con cápside mayor VP1, proteína con cápside menor Vp2 (virus JC, leucoencefalopatía multifocal progresiva);

60 proteína con respuesta de calcio bajo E LCRé, proteína externa de clamidia N CopN, serina/treonina-proteína quinasa PknD, proteína acilo-portadora-S-maloniltransferasa FabD, proteína de unión a ADN de cadena individual-Ssb, proteína de membrana externa mayor MOMP, proteína de membrana externa 2 Omp2, familia de proteína con membrana polimórfica (Pmp1, Pmp2, Pmp3, Pmp4, Pmp5, Pmp6, Pmp7, Pmp8, Pmp9, Pmp10, Pmp11, Pmp12, Pmp13, Pmp14, Pmp15, Pmp16, Pmp17, Pmp18, Pmp19, Pmp20, Pmp21) (*Chlamydofila*

psittaci, Psittacosis); proteína de membrana externa P1, proteína de choque térmico B HspB, transportador peptídico ABC, proteína de unión con GTP, proteína lcmB, ribonucleasa R, fosfatasa SixA, proteína DsbD, proteína de membrana externa TolC, proteína de unión con DNA PhoB, ATPasa DotB, proteína de choque térmico B HspB, proteína con membrana Com1, proteína de 28 kDa, ADN-3-metiladenina glucosidasa I, 5 proteína de membrana externa OmpH, proteína de membrana externa AdaA, proteína T del sistema de segmentación de glicina (*Coxiella burnetii*, fiebre Q); nucleoproteína N, proteína estructural grande L, fosfoproteína P, proteína de matriz M, glucoproteína G (Virus de la rabia, Rabias); proteína de fusión F, nucleoproteína N, proteína de matriz M, proteína de matriz M2-1, proteína de matriz M2-2, fosfoproteína P, 10 proteína hidrofóbica pequeña SH, glucoproteína G de superficie mayor, polimerasa L, proteína 1 no estructural NS1, proteína 2 no estructural NS2 (Virus sincitial respiratorio (RSV), infección por virus sincitial respiratorio); poliproteína genómica, polimerasa 3D, proteína con cápside viral VP1, proteína con cápside viral VP2, proteína con cápside viral VP3, proteína con cápside viral VP4, proteasa 2A, proteasa 3C (Rhinovirus, infección por Rhinovirus); proteínas de membrana externa OM, antígeno OmpA de superficie celular, antígeno OmpB de 15 superficie celular (sca5), proteína de superficie celular SCA4, proteína de superficie celular SCA1, proteína PS120, proteína D intracitoplásmica, antígeno SPA de proteína superficial protectora (género *Rickettsia*, infección por *Rickettsial*); proteínas OM de membrana externa, antígeno OmpA de superficie celular, antígeno OmpB de superficie celular (sca5), proteína SCA4 de superficie celular, proteína SCA1 de superficie celular, proteína D intracitoplásmica (*Rickettsia akari*, *Rickettsialpox*); glucoproteína GP con envoltura, polimerasa L, nucleoproteína N, proteína NSS no estructural (virus de fiebre Rift Valley, fiebre de Rift Valley (RVF)); 20 OM de membrana externa, antígeno OmpA de superficie celular, antígeno OmpB de superficie celular (sca5), proteína SCA4 de superficie celular, proteína SCA1 de superficie celular, proteína D intracitoplásmica (*Rickettsia rickettsii*, fiebre maculosa de las Montañas Rocosas (RMSF)); proteína 6 no estructural NS6, proteína 2 no estructural NS2, proteína VP6 con cápside intermedia, proteína VP2 con cápside interna, proteína 3 no estructural NS3, polimerasa L de ARN-ARN-dirigida, proteína VP3, proteína 1 no estructural NS1, proteína 5 25 no estructural NS5, glucoproteína VP7 con cápside extrna, glucoproteína 4 no estructural NS4, proteína VP4 con cápside externa (Rotavirus, infección por Rotavirus); poliproteína P200, glucoproteína E1, glucoproteína E2, proteína NS2, proteína C con cápside (virus de rubéola, rubéola); chaperona GroEL (MopA), inositol fosfato fosfatasa SopB, proteína de choque térmico HslU, proteína chaperona DnaJ, proteína TviB, proteína IroN, flagelina FliC, proteína de invasión SipC, glucoproteína gp43, proteína de membrana externa LamB, 30 proteína de membrana externa PagC, proteína de membrana externa TolC, proteína de membrana externa NmpC, proteína de membrana externa FadL, proteína de transporte SadA, transferasa WgaP, proteínas efectoras SifA, SteC, SseL, SseJ y SseF (*Salmonella* genus, Salmonelosis); proteína 14, proteína NS7b no estructural, proteína NS8a no estructural, proteína 9b, proteína 3a, nucleoproteína N, proteína NS3b no estructural, proteína NS6 no estructural, proteína 7a, proteína NS8b no estructural, proteína con membrana M, 35 proteína EsM con membrana pequeña con envoltura, poliproteína 1a de replicasa, glucoproteína de espira S, replicasa poliproteína 1ab; (SARS coronavirus, SARS (Síndrome respiratorio agudo severo)); serin proteasa, Antígeno 1 ASA1 de sarcoptes atípico, glutatión S-transferasas GST, cisteína proteasa, serina proteasa, apolipoproteína (*Sarcoptes scabiei*, Scabies); glutatión S-transferasas GST, paramiosina, hemoglobinas SM32, antígeno de huevo mayor, proteína Sm14 de unión con ácido graso de 14 kDa, antígeno P37 de superfie 40 larval mayor, antígeno tegumental de 22.6 kDa, calpaina CANP, trifosfato isomerasa Tim, proteína superficial 9B, proteína VP2 con cápside externa, proteína Sm23 con membrana integral de 23 kDa, Cu/Zn-superóxido dismutasa, glucoproteína Gp, miosina (género *Schistosoma*, Schistosomiasis (Bilharziosis)); chaperonina de 60 kDa, antígeno tipo específico de 56 kDa, piruvato fosfatodiquinasa, 4-hidroxibenzoato octapreniltransferasa (*Orientia tsutsugamushi*, *Scrub typhus*); deshidrogenasa GuaB, proteína de invasión Spa32, invasina IpaA, 45 invasina IpaB, invasina IpaC, invasina IpaD, invasina IpaH, invasina IpaJ (*Shigella* genus, Shigellosis (disentería Bacillary)); proteína P53, homólogo US10 de proteína viriónica, regulador transcripcional IE63, transactivador transcripcional IE62, proteasa P33, proteína de 74 kDa del factor de alfa trans-inducción, desoxiuridina 5'-trifosfato nucleotidohidrolasa, transactivador transcripcional IE4, homólogo UL43 de proteína con membrana, homólogo UL3 de fosfoproteína nuclear, homólogo UL4 de proteína nuclear, proteína de unión 50 con origen de replicación, proteína con membrana 2, fosfoproteína 32, proteína 57, factor de procesabilidad de polimerasa con ADN, proteína portal 54, ADN primasa, homólogo UL14 de proteína tegumentaria, homólogo UL21 de proteína tegumentaria, homólogo UL55 de proteína tegumentaria, homólogo UL33 de la subunidad de terminasa tripartita, homólogo de UL15 de la subunidad de terminasa tripartita, proteína 44 de unión con cápside, proteína 43 de empaque viriónico (virus de varicela zoster (VZV), Shingles (Herpes zoster)); homólogo 55 de esteroide deshidrogenasa de 3-beta hidroxi-5-eno truncado, proteína A13 de membrana viriónica, proteína A19, proteína A31, homólogo A35 de proteína truncada, homólogo A37.5 de proteína, proteína A47, proteína A49, proteína A51, proteína A43 similar a semaforina, inhibidor 1 de serina proteinasa, inhibidor 2 de serina proteinasa, inhibidor 3 de serina proteinasa, proteína A6, proteína B15, proteína C1, proteína C5, proteína C6, proteína F7, proteína F8, proteína F9, proteína F11, proteína F14, proteína F15, proteína F16 (Variola mayor o 60 Variola menor, Smallpox (Variola)); adhesina/glucoproteína gp70, proteasas (*Sporothrix schenckii*, Sporotrichosis); proteína lsdB de unión hemo-hierro, colágeno adhesina Cna, factor A de aterronamiento ClfA, proteína MecA, proteína de unión A fibronectina FnbA, enterotoxina tipo A EntA, enterotoxina tipo B EntB, enterotoxina tipo C EntC1, enterotoxina tipo C EntC2, enterotoxina tipo D EntD, enterotoxina tipo E EntE, toxina-1 de síndrome de choque tóxico TSST-1, Stafloquinasa, proteína 2a de unión penicilina PBP2a (MecA),

antígeno secretor SssA (*Staphylococcus* genus, envenenamiento Staphylococcal por alimentos); proteína IsdB de unión a hemo-hierro, colágeno adhesina Cna, factor A de aterronamiento ClfA, proteína MecA, proteína A de unión fibronectina FnbA, tipo A EntA de enterotoxina, tipo B EntB de enterotoxina, tipo C EntC1 de enterotoxina, tipo C EntC2 de enterotoxina, tipo D EntD de enterotoxina, tipo E EntE de enterotoxina, toxina 1 de síndrome de choque tóxico TSST-1, Staphyloquinasa, proteína 2a de unión a penicilina PBP2a (MecA), antígeno secretorio SssA (*Staphylococcus* genus por ejemplo, infección por aureus, *Staphylococcal*); antígeno Ss-IR, antígeno NIE, estroñgilastacina, Na⁺-K⁺ ATPasa Sseat-6, tropomisina SsTmy-1, proteína LEC-5, antígeno de 41 kDa P5, proteínalarval de 41-kDa, proteína larval de 31-kDa, proteína larval de 28-kDa (*Strongyloides stercoralis*, Strongyloidiasis); glicerofosfodiéster fosfodiesterasa GlpQ (Gpd), proteína TmpB de membrana externa, proteína Tp92, antígeno TpF1, proteína de repetición Tpr, proteína de repetición F TprF, proteína de repetición G TprG, proteína de repetición I TprI, proteína de repetición J TprJ, proteína de repetición K TprK, proteína A con membrana treponémica TmpA, lipoproteína, Tpp15 de 15 kDa, antígeno de membrana de 47 kDa, miniferritina TpF1, adhesina Tp0751, lipoproteína TP0136, proteína TpN17, proteína TpN47, proteína de membrana externa TP0136, proteína de membrana externa TP0155, proteína de membrana externa TP0326, proteína de membrana externa TP0483, proteína de membrana externa TP0956 (*Treponema pallidum*, Sífilis); proteasas similares a catepsina L, antígeno de 53/25-kDa, miembros de la familia de 8kDa, proteína de cisticercos con una actividad TsAg5 similar a tripsina marginal, proteína TSOL18 oncosfera, proteína TSOL45-1A oncosfera, lactato deshidrogenasa A LDHA, lactato deshidrogenasa B LDHB (género *Taenia*, Taeniasis); toxina tetánica TetX, toxina tetánica C TTC, proteína con capa de 140 kDa S, subunidad CT3 de flavoproteína beta, fosfolipasa (lecitinas), proteína fosfoportadora HPr (*Clostridium tetani*, Tetanus (Lockjaw)); poliproteína genómica, proteína E, proteína M, proteína C con cápside (virus de encefalitis portada por garrapatas (TBEV), encefalitis portada por garrapatas); antígeno de 58-kDa, antígenos de 68-kDa, antígeno TES excretor-secretor de larva toxocara, glucoproteína de 32-kDa, glucoproteína TES-70, glucoproteína GP31, antígeno TcES-57 excretor-secretor, antígeno Pe de fluido perientérico, antígenos Ex de extracto soluble, antígenos ES de larva excretor-secretor, antígeno TES-120, alérgeno de poliproteína TBA-1, cisteína proteasa c-cpl-1 similar a catepsina L, proteína de 26-kDa (*Toxocara canis* o *Toxocara cati*, Toxocariasis (Larva Migrans Ocular (OLM) y Larva Migrans Visceral (VLM))); proteínas micronémicas (MIC1, MIC2, MIC3, MIC4, MIC5, MIC6, MIC7, MIC8), proteína rhoptyr Rop2, proteínas rhoptyr (Rop1, Rop2, Rop3, Rop4, Rop5, Rop6, Rop7, Rop16, Rjop17), proteína SR1, antígeno superficial P22, antígeno mayor p24, antígeno superficial mayor p30, proteínas de gránulo denso (GRA1, GRA2, GRA3, GRA4, GRA5, GRA6, GRA7, GRA8, GRA9, GRA10), antígeno de 28 kDa, antígeno superficial SAG1, antígeno relacionado con SAG2, nucleósidos-trifosfatasa 1, nucleósido-trifosfatasa 2, proteína Stt3, proteína que contiene un dominio similar a HesB, proteasa 5 similar a romboides, toxomepsin 1 (*Toxoplasma gondii*, Toxoplasmosis); glucoproteína secretada de 43 kDa, glucoproteína secretada de 53 kDa, paramiosina, antígeno Ts21, antígeno Ts87, antígeno p46000, antígenos TSL-1, caveolin-1 CAV-1, antígeno de larva recién nacida de 49 kDa, homólogo de prosaposina, serina proteasa, inhibidor de serina proteinasa, glucoproteína Gp45 de 45 kDa (*Trichinella spiralis*, Trichinellosis); factores transcripcionales similares a Myb (Myb1, Myb2, Myb3), proteína de adhesión AP23, proteína de adhesión AP33, proteína adhesina AP33-3, adhesins AP51, adhesina AP65, proteína de adhesión AP65-1, alfa-actinina, proteína asociada con cinesina, teneurina, proteinasa de 62 kDa, serine proteasa SUB1 similar a subtilisina, gen 3 CP3 de cisteína proteinasa, alfa-enolasa Eno1, cisteína proteinasa CP30, proteína de choque térmicos (Hsp70, Hsp60), proteína inmunogénica P270, (*Trichomonas vaginalis*, Trichomoniasis); beta-tubulina, proteína de 47-kDa, proteinasa-1 similar a leucocito secretor SLP-1, proteína TT50 de 50-kDa, antígeno de 17 kDa, proteína de 43/47 kDa (*Trichuris trichiura*, Trichuriasis (infección por Whipworm)); proteína ESAT-6 (EsxA), antígeno filtrado EsxB de 10 kDa, antígeno secretado 85-B FBPB, proteína A de unión a fibronectina FbpA (Ag85A), serina proteasa PepA, proteína PPE18 de la familia PPE, proteína D de unión a fibronectina FbpD, proteína inmunogénica MPT64, proteína secretada MPT51, catalasa-peroxidasa-peroxinitritasa T KATG, lipoproteína PSTS3 de unión a fosfato periplásmico (PBP-3, Phos-1), hemaglutinina Hbha de unión a heparina hierro-regulada, proteína PPE14 de la familia PPE, proteína PPE68 de la familia PPE, proteína Mtb72F, proteína Apa, proteína inmunogénica MPT63, lipoproteína PSTS1 de unión a fosfato periplásmico (PBP-1), chaperona molecular DnaK, lipoproteína Mpt83 de superficie celular, lipoproteína P23, proteína permeasa pstA del sistema de transporte de fosfato, antígeno de 14 kDa, proteína C de unión a fibronectina FbpC1, alanina deshidrogenasa TB43, glutamina sintetasa 1, proteína ESX-1, proteína CFP10, proteína TB10.4, proteína MPT83, proteína MTB12, proteína MTB8, proteínas similares a Rpf, proteína MTB32, proteína MTB39, cristalina, proteína de choque térmico HSP65, proteína PST-S (usualmente tuberculosis *Mycobacterium*, Tuberculosis); proteína FobA de membrana externa, proteína FobB de membrana externa, locus IgIC1 de crecimiento intracelular, locus IgIC2 de crecimiento intracelular, aminotransferasa Wbtl, chaperonina GroEL, proteína TUL4 con membrana mayor de 17 kDa, lipoproteína LpnA, proteína de la familia de quitinasa 18, isocitrato deshidrogenasa, proteína de la familia Nif3, proteína de glucosilación pili tipo IV, proteína tolC de membrana externa, proteína de la familia de unión con FAD, proteína de membrana externa multimérica pilin tipo IV, proteína KdpD con sensor de dos componentes, proteína chaperona DnaK, proteína TolQ (*Francisella tularensis*, Tularemia); MB antígeno, ureasa, proteína GyrA, proteína GyrB, proteína ParC, proteína ParE, proteínas LAMP de membrana asociada con lípidos, timidina quinasa TK, fosfolipasa PL-A1, fosfolipasa PL-A2, fosfolipasa PL-C, antígeno de 96-kDa superficie expresado; (*Ureaplasma urealyticum*, infección por *Ureaplasma urealyticum*); poliproteína no estructural, poliproteína estructural, proteína CP con

cápside, proteína E1, proteína E2, proteína E3, proteasa P1, proteasa P2, proteasa P3 (virus de encefalitis equina Venezolana, encefalitis equina Venezolana); glucoproteína GP, proteína matriz Z, polimerasa L, nucleoproteína N (virus Guanarito, fiebre hemorrágica Venezolana); poliproteína, proteína E, proteína M, proteína C con cápside, proteasa NS3, proteína NS1, proteína NS2A, proteína AS2B, proteína NS4A, proteína NS4B, proteína NS5 (virus del nilo Occidental, fiebre del Nilo Occidental); proteína CP con cápside, proteína E1, proteína E2, proteína E3, proteasa P2 (virus de encefalitis equina Occidental, encefalitis equina Occidental); poliproteína genómica, proteína E, proteína M, proteína C con cápside, proteasa NS3, proteína NS1, proteína NS2A, proteína AS2B, proteína NS4A, proteína NS4B, proteína NS5 (virus de fiebre amarilla, Fiebre amarilla); proteína YobB blanco Yop putativa, proteína efectora YopD, proteína efectora YopE, proteína YopH, proteína efectora YopJ, proteína de translocación proteínica YopK, proteína efectora YopT, proteína YpkA, proteína FlhA de biosíntesis flagelar, peptidasa M48, system de flujo de potasio KefA, regulatoer transcripcional RovA, adhesina lfp, proteína translocadora LcrV, proteína PcrV, invasina Inv, purina similar a OmpF de proteína con membrana externa, adhesina YadA, proteína quinasa C, fosfolipasa C1, proteína PsaA, proteína WbyK similar manosiltransferasa, proteína YscU, antígeno YPMA (Yersinia pseudotuberculosis, infección por Yersinia pseudotuberculosis); proteína efectora YopB, chaperonina de 60 kDa, proteína WbcP, tirosina-proteína fosfatasa YopH, proteína YopQ, enterotoxina, Galactosido permeasa, reductasa NrdE, proteína YasN, Invasina Inv, adhesina YadA, porina F de membrana externa OmpF, proteína UspA1, proteína EibA, proteína Hia, proteína Ail de superficie celular, chaperona SycD, proteína LcrD, proteína LcrG, proteína LcrV, proteína SycE, proteína YopE, proteína TyeA reguladora, proteína YopM, proteína YopN, proteína YopO, proteína YopT, proteína YopD, proteasa ClpP, proteína MyfA, proteína FilA, y proteína PsaA (Yersinia enterocolitica, Yersiniosis).

(Entre paréntesis se encuentra el patógeno particular de la familia de patógenos de los cuales se deriva o derivan el antígeno o antígenos y la enfermedad infecciosa a la cual está asocia el patógeno)

Más específicamente, según la invención, el antígeno patogénico está asociado a una infección bacteriana, a una infección viral o a una infección protozoaria y el antígeno patogénico se selecciona de

- Antígeno p24 de VIH, proteínas de envoltura de VIH (Gp120, Gp41, Gp160), poliproteína GAG, proteína del factor negativo Nef, trans-activador de transcripción Tat si la enfermedad infecciosa en VIH, preferentemente una infección con el virus de inmunodeficiencia humana;
- proteína de cápside C, proteína premembrana prM, proteína membrana M, proteína de envoltura E (dominio I, dominio II, dominio II), proteína NS1, proteína NS2A, proteína NS2B, proteína NS3, proteína NS4A, proteína 2K, proteína NS4B, proteína NS5, si la enfermedad infecciosa es fiebre del Dengue, preferentemente una infección con el virus del Dengue (DEN-1, DEN-2, DEN-3 y DEN-4)-Flavivirus;
- antígeno superficial de hepatitis B HBsAg, antígeno núcleo de Hepatitis B HbcAg polimerasa, proteína Hbx, proteína superficial media preS2, proteína superficial L, proteína larga S, proteína viral VP1, proteína viral VP2, proteína viral VP3, proteína viral VP4, si la enfermedad infecciosa es Hepatitis B, preferentemente una infección con el virus de la Hepatitis B (HBV);
- Hemaglutinina (HA), Neuraminidasa (NA), Nucleoproteína (NP), proteína M1, proteína M2, proteína NS1, proteína NS2 (proteína NEP: proteína de exportación nuclear), proteína PA, proteína PB1 (proteína de polimerasa básica 1), proteína PB1-F2 y proteína PB2 (familia Ortomixoviridae, virus de la gripe (flu));
- nucleoproteína N, proteína estructural grande L, fosfoproteína P, proteína de matriz M, glucoproteína G, si la enfermedad infecciosa es la rabia, preferentemente una infección con virus de la rabia;
- poliproteína genómica, proteína E, proteína M, proteína C de cápside, proteasa NS3, proteína NS1, proteína NS2A, proteína AS2B, proteína NS4A, proteína NS4B, proteína NS5, si la enfermedad infecciosa es fiebre amarilla, preferentemente una infección por el virus de la fiebre amarilla;
- proteína TRAP anónima relacionada con trombospondina, proteína superficial de SSP2 Sporozoite 2, antígeno de membrana apical 1 AMA1, antígeno de membrana rhoptry RMA1, antígeno de repetición básica ácida ABRA, proteína transversal celular PF, proteína Pvs25, proteína superficial de merozoito 1 MSP-1, proteína superficial de merozoito 2 MSP-2, antígeno superficial de eritrocitos anillo-infectados antígeno de etapa RESALiver 3 LSA-3, proteína Eba-175, antígeno 5 para repetición de serina SERA-5, proteína de circumsporozoitos CS, proteína 3 superficial de merozoito MSP3, proteína superficial 8 de merozoitos MSP8, enolasa PF10, proteína de hepatocitos-eritrocitos de 17 kDa HEP17, proteína con membrana 1 de eritrocitos EMP1, proteína superficial 4/5 de la proteína Kbetamerozoitos MSP 4/5, proteína de choque térmico Hsp90, proteína rica en glutamato GLURP, proteína superficial 4 de merozoitos MSP-4, proteína STARP, precursor antigénico relacionado con la proteína de circumsporozoitos CRA (Plasmodium genus, Malaria);
- proteína de fusión F, hemaglutinina-neuramidasa HN, glucoproteína G, proteína matriz M, fosfoproteína P, nucleoproteína N, polimerasa L, si la enfermedad infecciosa es la infección por el virus de la parainfluenza humana, de preferencia una infección con los virus de parainfluenza Humanos (HPIV);
- proteína de fusión F, nucleoproteína N, proteína de matriz M, proteína de matriz M2-1, proteína de matriz M2-2, fosfoproteína P, proteína hidrofóbica pequeña SH, glucoproteína G de superficie mayor, polimerasa L, proteína 1 no estructural NS1, proteína 2 no estructural NS2, si la enfermedad infecciosa es una

- infección por el virus sincitial respiratorio, preferentemente una infección por el virus sincitial respiratorio (RSV);
- glucoproteína L UL1, uracil-ADN glucosilasa UL2, proteína UL3, proteína UL4, proteína ADN de replicación UL5, proteína portal UL6, proteína para maduración de viriones UL7, ADN helicasa UL8, proteína de unión al origen de replicación UL9, glucoproteína M UL10, proteína UL11, exonucleasa alcalina UL12, proteína quinasa de serina-treonina UL13, proteína tegumentaria UL14, terminasa UL15, proteína tegumentaria UL16, proteína UL17, proteína con cápside VP23 UL18, proteína con cápside principal VP5 UL19, proteína con membrana UL20, proteína tegumentaria UL21, Glucoproteína H (UL22), Timidina quinasa UL23, proteína UL24, proteína UL25, proteína con cápside P40 (UL26, VP24, VP22A), glucoproteína B (UL27), proteína ICP18.5 (UL28), proteína principal de unión a ADN ICP8 (UL29), ADN polimerasa UL30, proteína de matriz nuclear UL31, glucoproteína con envoltura UL32, proteína UL33, proteína con membrana nuclear interna UL34, proteína con cápside VP26 (UL35), proteína tegumentaria larga UL36, proteína de ensamble cápside UL37, proteína VP19C (UL38), ribonucleótido reductasa (subunidad Largo) UL39, ribonucleótido reductasa (subunidad pequeña) UL40, proteína tegumentaria/proteína VHS para interrupción en el huésped de viriones (UL41), factor de procesamiento de ADN polimerasa UL42, proteína con membrana UL43, glucoproteína C (UL44), proteína con membrana UL45, proteínas tegumentarias VP11/12 (UL46), proteína tegumentaria VP13/14 (UL47), proteína para maduración de viriones VP16 (UL48, Alfa-TIF), proteína con envoltura UL49, dUTP difosfatasa UL50, proteína tegumentaria UL51, proteína compleja de ADN helicasa/primasa UL52, glucoproteína K (UL53), proteína para regulación transcripcional IE63 (ICP27, UL54), proteína UL55, proteína UL56, proteína de replicación viral ICP22 (IE68, US1), proteína US2, proteína quinasa de serina/treonina US3, glucoproteína G (US4), glucoproteína J (US5), glucoproteína D (US6), glucoproteína I (US7), glucoproteína E (US8), proteína tegumentaria US9, proteína con cápside/tegumentaria US10, proteína Vmw21 (US11), proteína ICP47 (IE12, US12), activador transcriptional principal ICP4 (IE175, RS1), E3 ubiquitina ligasa ICP0 (IE110), proteína 1 latencia-relacionada LRP1, proteína 2 latencia-relacionada LRP2, factor de neurovirulencia RL1 (ICP34.5), transcripción LAT latencia-asociada (Virus de herpes simplex 1 y 2 (HSV-1 y HSV-2), Herpes simplex);
 - proteína de replicación E1, proteína reguladora E2, proteína E3, proteína E4, proteína E5, proteína E6, proteína E7, proteína E8, proteína con cápside mayor L1, proteína con cápside menor L2 (papilomavirus humano (HPV), infección por papilomavirus humano (HPV));
 - antígeno pp65, proteína de membrana pp15, proteína tegumentaria cápside-proximal pp150, proteína M45, ADN polimerasa UL54, helicasa UL105, glucoproteína gM, glucoproteína gN, glucoproteína H, glucoproteína B gB, proteína UL83, proteína UL94, proteína UL99 (Citomegalovirus (CMV), infección por Citomegalovirus);
 - proteína IsdB de unión hemo-hierro, colágeno adhesina Cna, factor A de aterronamiento ClfA, proteína MecA, proteína de unión A fibronectina FnbA, enterotoxina tipo A EntA, enterotoxina tipo B EntB, enterotoxina tipo C EntC1, enterotoxina tipo C EntC2, enterotoxina tipo D EntD, enterotoxina tipo E EntE, toxina-1 de síndrome de choque tóxico TSST-1, Stafiloquinasa, proteína 2a de unión penicilina BBP2a (MecA), antígeno secretor SssA (Staphylococcus genus, por ejemplo aureus, infección por estafilococos);
 - poliproteína genómica, polimerasa 3D, proteína con cápside viral VP1, proteína con cápside viral VP2, proteína con cápside viral VP3, proteína con cápside viral VP4, proteasa 2A, proteasa 3C (Rhinovirus, infección por Rhinovirus);
 - proteína ESAT-6 (EsxA), antígeno filtrado EsxB de 10 kDa, antígeno secretado 85-B FBPB, proteína A de unión a fibronectina FbpA (Ag85A), serina proteasa PepA, proteína PPE18 de la familia PPE, proteína D de unión a fibronectina FbpD, proteína inmunogénica MPT64, proteína secretada MPT51, catalasa-peroxidasa-peroxinitritasa T KATG, lipoproteína PSTS3 de unión a fosfato periplásmico (PBP-3, Phos-1), hemaglutinina Hbha de unión a heparina hierro-regulada, proteína PPE14 de la familia PPE, proteína PPE68 de la familia PPE, proteína Mtb72F, proteína Apa, proteína inmunogénica MPT63, lipoproteína PSTS1 de unión a fosfato periplásmico (PBP-1), chaperón molecular DnaK, lipoproteína Mpt83 de superficie celular, lipoproteína P23, proteína permeasa pstA del sistema de transporte de fosfato, antígeno de 14 kDa, proteína C de unión a fibronectina FbpC1, alanina deshidrogenasa TB43, glutamina sintetasa 1, proteína ESX-1, proteína CFP10, proteína TB10.4, proteína MPT83, proteína MTB12, proteína MTB8, proteínas similares a Rpf, proteína MTB32, proteína MTB39, cristalina, proteína de choque térmico HSP65, proteína PST-S (usualmente tuberculosis Mycobacterium, Tuberculosis);
 - nucleoproteína N, polimerasa L, proteína de matriz Z, glucoproteína GP (Lassa virus, fiebre de Lassa);
 - proteínas spike S, proteínas con envoltura E, proteínas de membrana M, proteínas nucleocápside N (por lo general rinovirus y coronavirus);
 - glucoproteína GP, nucleoproteína NP, proteína matriz menor VP24, proteína matriz mayor VP40, activador de transcripción VP30, cofactor de polimerasa VP35, polimerasa L de ARN (Ebolavirus (EBOV), fiebre hemorrágica de Ebola);
 - proteína de envoltura Gn, proteínas de nucleocápside (virus de fiebre hemorrágica de Crimea-Congo, fiebre hemorrágica de Crimea-Congo (CCHF));
 - glucoproteína G, proteína matriz M, nucleoproteína N, proteína de fusión F, polimerasa L, proteína W, proteína C, fosfoproteína P, proteína no estructural V (virus Henipavirus (Hendra virus Nipah), infecciones Henipavirus);

- glucoproteína GP de envoltura, polimerasa L, nucleoproteína N, proteína NSS no estructural (virus de fiebre Rift Valley, fiebre de Rift Valley (RVF)).
- proteína 6 no estructural NS6, proteína 2 no estructural NS2, proteína VP6 con cápside intermedia, proteína VP2 con cápside interna, proteína 3 no estructural NS3, polimerasa L de ARN-ARN-dirigida, proteína VP3, proteína 1 no estructural NS1, proteína 5 no estructural NS5, glucoproteína VP7 con cápside externa, glucoproteína 4 no estructural NS4, proteína VP4 con cápside externa (Rotavirus, infección por Rotavirus);
- proteína NS1, proteína hidrofóbica pequeña NS2, proteína SH, proteína de fusión F, glucoproteína G, proteína de matriz M, proteína de matriz M2-1, proteína de matriz M2-2, fosfoproteína P, nucleoproteína N, polimerasa L (metapneumovirus Humano (hMPV), infección por metapneumovirus Humano).

10 La región codificante del ácido nucleico inventivo de acuerdo con el primer aspecto de la presente invención se puede presentar como un ácido nucleico mono-, di-cistrónico o incluso multi-cistrónico; es decir, un ácido nucleico que porta las secuencias codificantes de una, dos o más proteínas o péptidos. Estas secuencias codificantes en ácidos di- o incluso multi-cistrónicos pueden estar separadas por al menos una secuencia con sitio de entrada de ribosoma interno (IRES), por ejemplo como se describe aquí, o por péptidos señal que inducen la segmentación del polipéptido resultante que comprende diversas proteínas o péptidos.

15 De acuerdo con el primer aspecto de la presente invención, la secuencia de ácido nucleico inventiva comprende una región codificante, que codifica para un péptido o proteína que comprende un antígeno patológico o un fragmento del mismo como se reivindica. Preferentemente, el antígeno patológico codificado no es una proteína histona. En el contexto de la presente invención, esta proteína de histona típicamente es una proteína fuertemente alcalina encontrada en núcleos celulares eucariotas, que empaqueta y ordena el ADN en unidades estructurales denominadas nucleosomas. Las proteínas histona son los componentes proteínicos líderes de la cromatina, actúan como bobinas alrededor de las cuales se enrolla el ADN y desempeñan un papel en la regulación génica. Sin las histonas, el ADN no enrollado en los cromosomas podría ser muy largo (una proporción longitud:anchura de más de 10 millones a uno en el ADN humano). Por ejemplo, cada célula humana tiene hasta aproximadamente 1,8 metros de ADN, aunque enrollado en las histonas tiene aproximadamente 90 milímetros de cromatina, la cual, cuando se duplica y condensa durante la mitosis, da como resultado aproximadamente 120 micrómetros de cromosomas. Con mayor preferencia, en el contexto de la presente invención, esta proteína de histona típicamente se define como una proteína altamente conservada seleccionada de una de las siguientes cinco clases principales de histonas: H1/H5, H2A, H2B, H3 y H4, preferentemente seleccionadas de histonas de mamífero, con mayor preferencia de histonas humanas o proteínas histona. Estas histonas o proteínas histona típicamente están organizadas en dos superclases definidas como histonas núcleo, que comprenden las histonas H2A, H2B, H3 y H4, e histonas ligadoras, que comprenden las histonas H1 y H5.

20 En este contexto, las histonas ligadoras, preferentemente excluidas del alcance de la protección de la invención pendiente, de preferencia las histonas ligadoras de mamíferos, con mayor preferencia las histonas ligadoras humanas, típicamente se seleccionan de H1, incluyendo H1F, en particular incluyendo H1F0, H1FNT, H1FOO, H1FX, y H1H1, en particular incluyendo HIST1H1A, HIST1H1B, HIST1H1C, HIST1H1D, HIST1H1E, HIST1H1T; y

25 Además, las histonas núcleo, de preferencia excluidas del alcance de la protección de la invención pendiente, de preferencia las histonas núcleo de mamífero, con mayor preferencia las histonas núcleo de humanos, típicamente se seleccionan de H2A, incluyendo H2AF, en particular incluyendo H2AFB1, H2AFB2, H2AFB3, H2AFJ, H2AFV, H2AFX, H2AFY, H2AFY2, H2AFZ, y H2A1, en particular incluyendo HIST1H2AA, HIST1H2AB, HIST1H2AC, HIST1H2AD, HIST1H2AE, HIST1H2AG, HIST1H2AI, HIST1H2AJ, HIST1H2AK, HIST1H2AL, HIST1H2AM, y H2A2, en particular incluyendo HIST2H2AA3, HIST2H2AC; H2B, incluyendo H2BF, en particular incluyendo H2BFM, H2BFO, H2BFS, H2BFWT H2B1, en particular incluyendo HIST1H2BA, HIST1H2BB, HIST1H2BC, HIST1H2BD, HIST1H2BE, HIST1H2BF, HIST1H2BG, HIST1H2BH, HIST1H2BI, HIST1H2BJ, HIST1H2BK, HIST1H2BL, HIST1H2BM, HIST1H2BN, HIST1H2BO, y H2B2, en particular incluyendo HIST2H2BE; H3, incluyendo H3A1, en particular incluyendo HIST1H3A, HIST1H3B, HIST1H3C, HIST1H3D, HIST1H3E, HIST1H3F, HIST1H3G, HIST1H3H, HIST1H3I, HIST1H3J, y H3A2, en particular incluyendo HIST2H3C, y H3A3, en particular incluyendo HIST3H3; H4, incluyendo H41, en particular incluyendo HIST1H4A, HIST1H4B, HIST1H4C, HIST1H4D, HIST1H4E, HIST1H4F, HIST1H4G, HIST1H4H, HIST1H4I, HIST1H4J, HIST1H4K, HIST1H4L, y H44, en particular incluyendo HIST4H4, y H5.

30 De acuerdo con el primer aspecto de la presente invención, la secuencia del ácido nucleico inventiva comprende una región codificante que codifica para un péptido o proteína que comprende un antígeno patológico o un fragmento del mismo como se reivindica. De preferencia, el antígeno patológico codificado no es una proteína reportera (por ejemplo luciferasa, proteína fluorescente verde (GFP), proteína fluorescente verde intensificada (EGFP), β -galactosidasa) y no es una proteína marcadora o de selección (por ejemplo alfa-globina, galactoquinasa y xantina:guanina fosforribosiltransferasa (GPT)). De preferencia, la secuencia de ácido nucleico de la invención no contiene un gen de resistencia a antibióticos, por ejemplo una secuencia

Neogénica (bacteriana) (gen de resistencia a neomicina) o una secuencia génica CAT (que codifica para cloranfenicol acetiltransferasa; un gen de resistencia a cloranfenicol).

El ácido nucleico inventivo como se reivindica en general comprende o codifica para a) una región codificante que codifica para un péptido o proteína que comprende un antígeno patogénico o un fragmento del mismo; b) al menos un tallo-bucle de histona y c) una secuencia poli(A); preferentemente para aumentar la expresión de dicho péptido o proteína codificados, donde el péptido o proteína codificados preferentemente no es una proteína de histona, ni una proteína reportera ni tampoco una proteína marcadora o de selección, como se definió anteriormente. Los elementos b) a c) del ácido nucleico inventivo pueden estar presentes en el ácido nucleico inventivo en cualquier orden, es decir, los elementos a), b) y c) pueden tener el orden a), b) y c) o a), c) y b) desde la dirección 5' hasta 3' en la secuencia de ácido nucleico inventivo, donde elementos adicionales como se describen aquí también pueden estar contenidos, como una estructura 5'-CAP, una secuencia poli(C), secuencias de estabilización, secuencias IRES, etc. Cada uno de los elementos a) a c) del ácido nucleico inventivo, en particular a) en las estructuras di-cistrónicas o multi-cistrónicas, y/o cada uno de los elementos b) y c), con mayor preferencia el elemento b), también se pueden repetir al menos una vez, preferentemente dos o más veces, en el ácido nucleico inventivo.

Como ejemplo, el ácido nucleico inventivo puede mostrar sus elementos de secuencia a), b) y c) en, por ejemplo, el siguiente orden:

5' - región codificante - tallo-bucle de histona - secuencia poli(A) - 3'; o
 5' - región codificante - tallo-bucle de la histona - señal de poliadenilación - 3' (no reivindicado); o
 5' - región codificante - secuencia poli(A) - tallo-bucle de histona - 3'; o
 5' - región codificante - señal de poliadenilación - tallo-bucle de histona - 3' (no reivindicado); o
 5' - región codificante - región codificante - tallo-bucle de la histona - señal de poliadenilación - 3' (no reivindicado); o
 5' - región codificante - tallo-bucle de la histona - tallo-bucle de histona - secuencia poli(A) - 3'; o
 5' - región codificante - tallo-bucle de la histona - tallo-bucle de la histona - señal de poliadenilación 3' (no reivindicado); etc.

En este contexto, la secuencia del ácido nucleico inventiva comprende o codifica para a) una región codificante, que codifica para un péptido o proteína que comprende un antígeno patogénico o un fragmento del mismo; b) al menos un tallo-bucle de histona y c) un secuencia poli(A) según la reivindicación 1; preferentemente para aumentar el nivel de expresión del péptido o proteína codificados, donde la proteína codificada preferentemente no es una proteína de histona, ni una proteína reportera (por ejemplo luciferasa, GFP, EGFP, β -galactosidasa, en particular EGFP) y/o no es una proteína marcadora de selección (por ejemplo alfa-globina, galactoquinasa y xantina:guanina fosforibosiltransferasa (GPT)).

La secuencia de ácido nucleico inventiva como se define aquí también puede estar presente en forma de un ácido nucleico modificado.

En este contexto, la secuencia de ácido nucleico inventiva como se define aquí se puede modificar para proporcionar un "ácido nucleico estabilizado", preferentemente un ARN estabilizado, con mayor preferencia un ARN que es esencialmente resistente a la degradación *in vivo* (por ejemplo por una exo- o endo-nucleasa). Un ácido nucleico estabilizado por ejemplo se puede obtener mediante la modificación del contenido de G/C de la región codificante de la secuencia de ácido nucleico inventivo, introduciendo análogos de nucleótidos (por ejemplo nucleótidos con modificaciones estructurales, modificaciones de azúcar o modificaciones de base) o introduciendo secuencias de estabilización de la región sin traducir 3'- y/o 5'- de la secuencia de ácido nucleico inventivo.

Como se mencionó anteriormente, la secuencia de ácido nucleico inventiva como se define aquí puede contener nucleótidos análogos/modificaciones, por ejemplo modificaciones estructurales, modificaciones de azúcar o modificaciones de base. Una modificación estructural en relación a la presente invención es una modificación donde se modifican químicamente los fosfatos del esqueleto de los nucleótidos contenidos en la secuencia de ácido nucleico inventivo como se define aquí. Una modificación del azúcar en relación a la presente invención es una modificación química del azúcar de los nucleótidos de la secuencia de ácido nucleico inventivo como se define aquí. Además, una modificación de bases en relación a la presente invención es una modificación química de la porción base de los nucleótidos de la molécula de ácido nucleico de la secuencia de ácido nucleico inventivo. En este contexto, preferentemente los análogos de nucleótidos o modificaciones se seleccionan de análogos de nucleótidos que sean aplicables para la transcripción y/o la traducción.

Los análogos/modificaciones de nucleótidos aquí definidos pueden seleccionarse preferentemente de modificaciones de bases que aumentan adicionalmente la expresión de la proteína codificada y que preferentemente se seleccionan de 2-amino-6-cloropurirribosido-5'-trifosfato, 2-aminoadenosin-5'-trifosfato, 2-tiocitidin-5'-trifosfato, 2-tiouridin-5'-trifosfato, 4-tiouridin-5'-trifosfato, 5-aminoalilcitidin-5'-trifosfato, 5-

5 aminoaliluridin-5'-trifosfato, 5-bromocitidin-5'-trifosfato, 5-bromouridin-5'-trifosfato, 5-iodocitidin-5'-trifosfato, 5-iodouridin-5'-trifosfato, 5-metilcitidin-5'-trifosfato, 5-metiluridin-5'-trifosfato, 6-azacitidin-5'-trifosfato, 6-azauridin-5'-trifosfato, 6-cloropurinribosido-5'-trifosfato, 7-deazaadenosin-5'-trifosfato, 7-deazaguanosin-5'-trifosfato, 8-azaadenosin-5'-trifosfato, 8-azidoadenosin-5'-trifosfato, benzimidazol-ribosido-5'-trifosfato, N1-metiladenosin-5'-trifosfato, N1-metilguanosin-5'-trifosfato, N6-metiladenosin-5'-trifosfato, O6-metilguanosin-5'-trifosfato, pseudouridin-5'-trifosfato, o puomicin-5'-trifosfato, xantosin-5'-trifosfato. Se da particular preferencia a los nucleótidos para las modificaciones de bases seleccionadas del grupo de nucleótidos base-modificados consiste en 5-metilcitidin-5'-trifosfato, 7-deazaguanosin-5'-trifosfato, 5-bromocitidin-5'-trifosfato y pseudouridin-5'-trifosfato.

10 La secuencia de ácido nucleico inventiva como se define aquí puede contener una modificación de lípidos. Este ácido nucleico lípido-modificado típicamente comprende un ácido nucleico como se define aquí. Esta molécula de ácido nucleico lípido-modificado de la secuencia de ácido nucleico inventiva como se define aquí típicamente comprende además al menos un enlazador que se enlaza covalentemente a esa molécula de ácido nucleico y al menos un lípido enlazado covalentemente al enlazador respectivo. Alternativamente, la molécula de ácido
15 nucleico lípido-modificada comprende al menos una molécula de ácido nucleico como se define aquí y al menos un lípido (bifuncional) enlazado covalentemente (sin enlazador) a esa molécula de ácido nucleico. De acuerdo con una tercera alternativa, la molécula de ácido nucleico lípido-modificada comprende una molécula de ácido nucleico como se define aquí, al menos un enlazador enlazado covalentemente a esa molécula de ácido nucleico y al menos un lípido enlazado covalentemente al enlazador respectivo y al menos un lípido
20 (bifuncional) enlazado covalentemente (sin enlazador) a esa molécula de ácido nucleico. En este contexto, se prefiere particularmente que la modificación de lípidos esté presente en los extremos terminales de una secuencia lineal del ácido nucleico inventivo.

La secuencia de ácido nucleico inventiva como se define aquí, en particular si se proporciona como un ARN(m), preferentemente puede por tanto estabilizarse frente a la degradación por ARNasas mediante la adición de la denominada estructura "5' CAP".
25

La secuencia de ácido nucleico inventiva como se define aquí preferentemente se puede modificar mediante una secuencia de al menos 10 citidinas, de preferencia al menos 20 citidinas, con mayor preferencia al menos 30 citidinas (también denominada "secuencia poli(C)"). En particular, la secuencia de ácido nucleico inventiva puede contener o codificar para una secuencia poli(C) de típicamente aproximadamente 10 a 200 nucleótidos de citidina, de preferencia de aproximadamente 10 a 100 nucleótidos de citidina, con mayor preferencia de aproximadamente 10 a 70 nucleótidos de citidina o incluso con mayor preferencia de aproximadamente 20 a 50 o incluso 20 a 30 nucleótidos de citidina. Esta secuencia poli(C) preferentemente se ubica en la dirección 3' de la región codificante comprendida en el ácido nucleico inventivo.
30

El contenido de G/C de la región codificante, que codifica para al menos un péptido o proteína que comprende un antígeno patogénico o un fragmento del mismo de la secuencia de ácido nucleico inventiva como se define aquí, preferentemente está modificado, en particular aumentado, en comparación con el contenido de G/C de su región codificante de tipo natural particular, es decir, la región codificante no modificada. La secuencia de aminoácidos codificados de la región codificante preferentemente no está modificada en comparación con la secuencia de aminoácidos codificados de la región codificante de tipo natural particular.
35

La modificación del contenido de G/C de la región codificante de la secuencia del ácido nucleico inventiva como se define aquí se basa en el hecho de que la secuencia de cualquier región de ARNm que se traducirá es importante para una traducción eficiente del ARNm. Así, son importantes la composición y la secuencia de diversos nucleótidos. En particular, las secuencias de ARNm que tienen un contenido aumentado de G (guanosina)/C (citosina) son más estables que las secuencias de ARNm que tienen un contenido aumentado de A (adenosina)/U (uracilo). De acuerdo con la invención, por tanto, los codones de la región codificante varían en comparación con su región codificante de tipo natural, mientras que conservan la secuencia traducida de aminoácidos, de forma que incluyen una cantidad aumentada de nucleótidos G/C. Respecto al hecho de que diversos codones codifican para uno y el mismo aminoácido (la denominada degeneración del código genético), se pueden determinar los codones más favorables para la estabilidad (el denominado uso de codones alternativos).
40
45
50

Dependiendo del aminoácido que será codificado por la región codificante de la secuencia de ácido nucleico inventiva como se define aquí, existen diversas posibilidades para la modificación de la secuencia de ácido nucleico, por ejemplo de la región codificante, en comparación con su región codificante de tipo natural. En caso de que los aminoácidos que están codificados por codones que contienen exclusivamente nucleótidos G o C, no es necesaria ninguna modificación del codón. Así, los codones para Pro (CCC o CCG), Arg (CGC o CGG), Ala (GCC o GCG) y Gly (GGC o GGG) no requieren modificación, ya que no esta presente A o U.
55

Por el contrario, los codones que contienen los nucleótidos A y/o U se pueden modificar por la sustitución por otros codones que codifican para los mismos aminoácidos pero no contienen A y/o U. Ejemplos de éstos son:

los codones para Pro se pueden modificar de CCU o CCA a CCC o CCG;
 los codones para Arg se pueden modificar de CGU o CGA o AGA o AGG a CGC o CGG;
 los codones para Ala se pueden modificar de GCU o GCA a GCC o GCG;
 los codones para Gly se pueden modificar de GGU o GGA a GGC o GGG.

- 5 En otros casos, aunque los nucleótidos A o U no se pueden eliminar de los codones, es posible sin embargo disminuir el contenido de A y U utilizando codones que tienen un contenido menor de nucleótidos A y/o U. Ejemplos de éstos son:

- los codones para Phe se pueden modificar de UUU a UUC;
 los codones para Leu se pueden modificar de UUA, UUG, CUU o CUA a CUC o CUG;
 10 los codones para Ser se pueden modificar de UCU o UCA o AGU a UCC, UCG o AGC;
 el codón para Tyr se puede modificar de UAU a UAC;
 el codón para Cys se puede modificar de UGU a UGC;
 el codón para His se puede modificar de CAU a CAC;
 el codón para Gln se puede modificar de CAA a CAG;
 15 los codones para Ile se pueden modificar de AUU o AUA a AUC;
 los codones para Thr se pueden modificar de ACU o ACA a ACC o ACG;
 el codón para Asn se puede modificar de AAU a AAC;
 el codón para Lys se puede modificar de AAA a AAG;
 los codones para Val se pueden modificar de GUU o GUA a GUC o GUG;
 20 el codón para Asp se puede modificar de GAU a GAC;
 el codón para Glu se puede modificar de GAA a GAG;
 el codón de terminación UAA se puede modificar para UAG o UGA.

En el caso de los codones para Met (AUG) y Trp (UGG), por otro lado, no existe la posibilidad de modificación de secuencia.

- 25 Las sustituciones citadas anteriormente se pueden utilizar ya sea individualmente o en todas las combinaciones posibles para aumentar el contenido de G/C de la región codificante de la secuencia de ácido nucleico inventiva como se define aquí en comparación con su región codificante de tipo natural particular (es decir, la secuencia original). Así, por ejemplo, todos los codones para Thr que están presentes en la secuencia tipo natural se pueden modificar a ACC (o ACG).
- 30 En el contexto anterior, se muestran los codones presentes en el ARNm. Por ejemplo, la uridina presente en un ARNm también puede estar presente como timidina en el ADN respectivo que codifica para el ARNm particular.

- Preferentemente, el contenido de G/C de la región codificante de la secuencia de ácido nucleico inventiva como se define aquí aumenta en al menos un 7%, con mayor preferencia en al menos 15%, con particular preferencia en al menos 20%, en comparación con el contenido de G/C de la región codificante de tipo silvestre. Específicamente al menos un 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, con mayor preferencia al menos un 70%, incluso con mayor preferencia al menos un 80% y con máxima preferencia al menos un 90%, 95% o incluso el 100% de los codones que se pueden sustituir en la región codificante que codifica para al menos un péptido o proteína que comprende un antígeno patogénico o un fragmento, variante o derivado del mismo se sustituyen, aumentando así el contenido de G/C de dicha región codificante.
- 40

En este contexto, es particularmente preferente aumentar el contenido de G/C de la región codificante de la secuencia de ácido nucleico inventiva como se define aquí al máximo (es decir, el 100% de los codones que se pueden sustituir) en comparación con la región codificante tipo natural.

- 45 De acuerdo con la invención, una modificación preferida adicional de la región codificante que codifica para al menos un péptido o proteína que comprende un antígeno patogénico o un fragmento del mismo de la secuencia de ácido nucleico inventiva como se define aquí se basa en el hallazgo de que la eficacia de traducción también está determinada por una frecuencia diferente en la presencia de los ARNt en las células. De esta forma, si los denominados "codones raros" están presentes en la región codificante de la secuencia de ácido nucleico inventiva como se define aquí en un grado aumentado, la secuencia de ácido nucleico modificado correspondiente se traduce en un grado significativamente más pobre que en el caso donde están presentes codones que codifican para los ARNt relativamente "frecuentes".
- 50

En este contexto, la región codificante de la secuencia de ácido nucleico inventiva preferentemente se modifica en comparación con la región codificante de tipo natural correspondiente de forma que al menos un codón de la secuencia de tipo natural que codifica para un ARNt que es relativamente raro en la célula se intercambia

5 por un codón que codifica para un ARNt que es relativamente frecuente en la célula y porta el mismo aminoácido que el ARNt relativamente raro. Mediante esta modificación, la región codificante de la secuencia de ácido nucleico inventiva como se define aquí se modifica de forma que los codones para los cuales los ARNt que se presentan frecuentemente están disponibles e insertados. En otras palabras, de acuerdo con la invención, mediante esta modificación todos los codones de la región codificante de tipo natural que codifican para un ARNt que es relativamente raro en la célula pueden en cada caso intercambiarse por un codón que codifica para un ARNt que es relativamente frecuente en la célula y el cual, en cada caso, porta el mismo aminoácido que el ARNt relativamente raro.

10 El experto en la técnica conoce qué ARNt se presentan con relativa frecuencia en la célula y cuáles, por el contrario, se presentan con relativa rareza; véase, por ejemplo Akashi, Curr. Opin. Genet. Prog. 2001, 11(6): 660-666. En particular se prefieren los codones que utilizan, para el aminoácido particular, el ARNt que se presenta con mayor frecuencia, por ejemplo el codón Gly que utiliza el ARNt que se presenta de forma más frecuente en la célula (humana).

15 De acuerdo con la invención, es particularmente preferente unir el contenido de G/C secuencial que aumenta, en particular al máximo, en la región codificante de la secuencia de ácido nucleico inventiva como se define aquí con los codones "frecuentes" sin modificar la secuencia de aminoácidos del péptido o proteína codificado por la región codificante de la secuencia de ácido nucleico. Esta realización preferente permite la provisión de una secuencia de ácido nucleico inventiva tal como se define aquí traducida y estabilizada (modificada) particularmente eficiente.

20 La secuencia de ácido nucleico inventiva como se define aquí preferentemente puede tener adicionalmente al menos una secuencia de estabilización 5' y/o 3'. Estas secuencias de estabilización en las regiones no traducidas 5' y/o 3' tienen el efecto de aumentar la vida media del ácido nucleico, en particular del ARNm en el citosol. Estas secuencias de estabilización pueden tener un 100% de identidad de secuencia con las secuencias de origen natural que presentes en virus, bacterias y eucariotas, pero también pueden ser parcial o totalmente sintéticas. Las secuencias no traducidas (UTR) del gen (alfa)-globina, por ejemplo de *Homo sapiens* o *Xenopus laevis*, se pueden mencionar como ejemplo de secuencias de estabilización que se pueden utilizar en la presente invención para un ácido nucleico estabilizado. Otro ejemplo de secuencia de estabilización tiene la fórmula general (C/U)CCAN_xCCC(U/A)Py_xUC(C/U)CC (SEC ID NO: 55), que está contenida en los 3'-UTR de los ARN muy estables que codifican para (alfa)-globina, colágeno tipo (I), 15-lipoxigenasa o para tirosina-hidroxilasa (véase Holcik *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1997, 94: 2410 a 2414). Estas secuencias de estabilización por supuesto se pueden utilizar individualmente o en combinación con otras y también en combinación con otras secuencias de estabilización conocidas del experto en la técnica. En este contexto, es particularmente preferente que la secuencia 3' UTR del gen alfa-globina esté ubicado 3' de la región codificante que codifica para al menos un péptido o proteína que comprende un antígeno patogénico o un fragmento del mismo comprendido en la secuencia de ácido nucleico inventiva de la invención.

35 Preferentemente, las sustituciones, adiciones o eliminaciones de bases se llevan a cabo con la secuencia de ácido nucleico inventiva como se define aquí, utilizando una matriz de ADN para preparar la secuencia de ácido nucleico por técnicas de mutagénesis sitio dirigida, bien conocidas, o con una estrategia de ligación de oligonucleótidos (véase, por ejemplo, Maniatis *et al.*, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 3rd ed., Cold Spring Harbor, NY, 2001).

40 Cualquiera de las modificaciones anteriores se puede aplicar a la secuencia de ácido nucleico inventiva como se define aquí y además a cualquier ácido nucleico tal como se utiliza en el contexto de la presente invención y, si es adecuado o necesario, se pueden combinar entre sí en cualquier combinación, con la condición de que estas combinaciones o modificaciones no interfieran entre sí en el ácido nucleico respectivo. El experto en la técnica puede tomar esta decisión correspondientemente.

Las secuencias de ácido nucleico utilizadas de acuerdo con la presente invención como se definen aquí se pueden preparar utilizando cualquier método conocido en la técnica, incluyendo métodos sintéticos, por ejemplo síntesis en fase sólida, así como métodos *in vitro*, como reacciones de transcripción *in vitro* o *in vivo*, tales como propagación *in vivo* de plásmidos de ADN en bacterias.

50 En este proceso, para preparar la secuencia de ácido nucleico inventiva como se define aquí, especialmente si el ácido nucleico está en forma de un ARNm, una molécula de ADN correspondiente se puede transcribir *in vitro*. Esta matriz de ADN preferentemente comprende un promotor adecuado, por ejemplo un promotor T7 o SP6, para la transcripción *in vitro*, que es seguido por la secuencia de nucleótidos deseada para la molécula de ácido nucleico, por ejemplo ARNm, que será preparado y una señal de terminación para la transcripción *in vitro*. La molécula de ADN, que forma la matriz del al menos un ARN de interés, se puede preparar mediante proliferación fermentativa y aislamiento posterior como parte de un plásmido que puede replicarse en bacterias.

Los plásmidos que se pueden mencionar adecuados para la presente invención son, por ejemplo, los plásmidos pT7T (número de acceso GenBank U26404; Lai *et al.*, Development 1995, 121: 2349 a 2360), la serie pGEM®, por ejemplo pGEM®-1 (número de acceso GenBank X65300; de Promega) y pSP64 (número de acceso GenBank X65327); véase también Mezei y Storts, Purification of PCR Products, en: Griffin and Griffin (ed.), PCR Technology: Current Innovation, CRC Press, Boca Raton, FL, 2001.

La secuencia de ácido nucleico inventivo como se define aquí, así como las proteínas o péptidos codificados por esta secuencia de ácido nucleico puede comprender fragmentos o variantes de aquellas secuencias. Estos fragmentos o variantes típicamente pueden comprender una secuencia que tenga una identidad de secuencia con uno de los ácidos nucleicos mencionados anteriormente, o con una de las proteínas o péptidos o secuencias, si son codificados por la secuencia de ácido nucleico inventivo, de al menos un 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, preferentemente al menos 70%, con mayor preferencia al menos 80%, igualmente con mayor preferencia al menos 85%, incluso con mayor preferencia al menos 90% y con la máxima preferencia al menos un 95% o incluso un 97%, 98% ó 99%, con la secuencia tipo natural completa, ya sea a nivel de ácido nucleico o a nivel de aminoácidos.

Los "fragmentos" de proteínas o péptidos en el contexto de la presente invención (por ejemplo según se codifican por la secuencia de ácido nucleico inventiva como se define aquí) pueden comprender una secuencia de una proteína o péptido como se define aquí que, con respecto a su secuencia de aminoácidos (o a su molécula de ácido nucleico codificado), en comparación N-terminal, C-terminal y/o intra-secuencialmente está truncada/acortada con respecto a la secuencia de aminoácidos de la proteína original (natural) (o su molécula de ácido nucleico codificado). Este truncamiento se puede así presentar ya sea al nivel de aminoácidos o correspondientemente a nivel de ácido nucleico. Una identidad de secuencia con respecto a este fragmento como se define aquí, por tanto, preferentemente puede hacer referencia a la proteína o péptido completo como se define aquí o a la molécula de ácido nucleico completa (codificante) de esta proteína o péptido. Asimismo, los "fragmentos" de ácidos nucleicos en el contexto de la presente invención pueden comprender una secuencia de un ácido nucleico como se define aquí que, con respecto a la molécula de ácido nucleico original (natural), su molécula de ácido nucleico está truncada/acortada 5'-, 3'- y/o intra-secuencialmente. Una identidad de secuencia con respecto a este fragmento como se define aquí, por tanto, preferentemente puede hacer referencia al ácido nucleico completo como se define aquí y el nivel de identidad de secuencia preferente como se indica aquí. Los fragmentos tienen la misma función biológica o actividad específica o al menos conservan la actividad de la proteína de longitud completa natural en al menos un 50%, con mayor preferencia al menos 70%, incluso con mayor preferencia al menos un 90% (según se mide en un ensayo funcional adecuado, por ejemplo por cuantificación de la respuesta a células B del organismo) en comparación con el péptido o proteína natural de longitud total, por ejemplo su propiedad antigénica específica. Por consiguiente, el "fragmento" es una porción de la proteína antigénica de longitud completa que tiene propiedades antigénicas sobre el sistema inmunitario tal como se describe aquí.

Los fragmentos de proteínas o péptidos en el contexto de la presente invención (por ejemplo, según se codifican por la secuencia de ácido nucleico inventiva como se define aquí) pueden comprender además una secuencia de una proteína o péptido como se define aquí con una longitud de aproximadamente 6 a aproximadamente 20 o incluso más aminoácidos, por ejemplo los fragmentos según se procesan y presentan mediante las moléculas clase I de MHC, preferentemente con una longitud de aproximadamente 8 a aproximadamente 10 aminoácidos, por ejemplo 8, 9, ó 10 (o incluso 6, 7, 11, ó 12 aminoácidos), o los fragmentos según se procesan y presentan mediante las moléculas clase II de MHC preferentemente con una longitud de aproximadamente 13 o más aminoácidos, por ejemplo, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o incluso más aminoácidos, pudiéndose seleccionar estos fragmentos a partir de cualquier parte de la secuencia de aminoácidos. Estos fragmentos típicamente son reconocidos por las células T en forma de un complejo consistente en el fragmento peptídico y una molécula de MHC, es decir, los fragmentos típicamente no son reconocidos en su forma nativa. Los fragmentos de proteínas o péptidos según se definen aquí pueden comprender al menos un epítipo de aquellas proteínas o péptidos. Además, también se puede entender que los dominios de una proteína, como el dominio extracelular, el dominio intracelular o el dominio transmembrana, y las versiones acortadas o truncadas de una proteína comprenden un fragmento de una proteína.

Los fragmentos de proteínas o péptidos como se definen aquí (por ejemplo, como son codificados por la secuencia de ácido nucleico inventiva como se define aquí) también pueden comprender epítopos de esas proteínas o péptidos. Los epítopos de células T o partes de proteínas en el contexto de la presente invención pueden comprender fragmentos con una longitud preferente de aproximadamente 6 a aproximadamente 20 o incluso más aminoácidos, por ejemplo los fragmentos según se procesan y presentan por las moléculas clase I de MHC con una longitud preferente de aproximadamente 8 a aproximadamente 10 aminoácidos, por ejemplo 8, 9, ó 10 (o incluso 6, 7, 11, ó 12 aminoácidos), o fragmentos según se procesan y presentan por las moléculas clase II de MHC con una longitud preferente de aproximadamente 13 o más aminoácidos, por ejemplo 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o incluso más aminoácidos, pudiéndose seleccionar estos fragmentos de cualquier parte de la secuencia de aminoácidos. Estos fragmentos típicamente son reconocidos por las células T en forma de

un complejo consistente en el fragmento peptídico y una molécula de MHC, es decir, los fragmentos típicamente no se reconocen en su forma nativa.

5 Los epítopes de células B típicamente son fragmentos ubicados en la superficie externa de una proteína (nativa) o antígenos peptídicos como se definen aquí preferentemente con 5 a 15 aminoácidos, con mayor preferencia de 5 a 12 aminoácidos, incluso con mayor preferencia de 6 a 9 aminoácidos, que se puedan reconocer por anticuerpos, es decir, en su forma natural.

10 Estos epítopes de proteínas o péptidos además se pueden seleccionar de cualquiera de las variantes mencionadas aquí de estas proteínas o péptidos. En este contexto, los determinantes antigénicos pueden ser epítopes conformacionales o discontinuos que están compuestos de segmentos de las proteínas o péptidos como se definen aquí que son discontinuos en la secuencia de aminoácidos de las proteínas o péptidos como se definen aquí, pero están reunidos en la estructura tridimensional o son epítopes continuos o lineales que están compuestos de una única cadena de polipéptidos.

Los "fragmentos" según la invención tienen una longitud de al menos 6 residuos aminoácidos y tienen una propiedad antigénica específica del péptido o la proteína nativa de longitud completa.

15 Las "variantes" de proteínas o péptidos como se definen en el contexto de la presente descripción pueden ser codificadas por la secuencia de ácido nucleico descrita como se define aquí. Por ello, se puede generar una proteína o péptido con una secuencia de aminoácidos que difiera de la secuencia original en una o más mutaciones (2, 3, 4, 5, 6, 7 o más), tal como uno o más aminoácidos sustituidos, insertados y/o suprimidos. El nivel preferido de identidad de secuencia de las "variantes" en vista de la secuencia proteica de longitud total típicamente es como se indica aquí. Preferentemente, estos fragmentos y/o variantes tienen la misma función biológica o actividad específica o al menos conservan una actividad de la proteína de longitud total y natural de al menos un 50%, con mayor preferencia al menos 70%, incluso con mayor preferencia al menos 90% (según se mide en un ensayo funcional adecuado, por ejemplo por cuantificación de la respuesta inmune a células B del organismo) en comparación con el péptido o proteína natural de longitud total, por ejemplo su propiedad antigénica específica. Por consiguiente, la "variante" es típicamente una variante de la proteína antigénica de longitud completa que ejerce propiedades antigénicas sobre el sistema inmune al grado que se describe aquí.

30 Las "variantes" de proteínas o péptidos como se definen en el contexto de la presente descripción (por ejemplo, según son codificadas por un ácido nucleico como se define aquí) pueden comprender sustituciones de aminoácidos conservativas en comparación con su secuencia fisiológica natural, es decir no mutada. Aquellas secuencias de aminoácidos, así como sus secuencias de nucleótidos codificantes, en particular, caen bajo el término de variantes como se define aquí. Las sustituciones donde los aminoácidos que se originan a partir de la misma clase se intercambian entre sí se denominan sustituciones conservativas. En particular, estos son aminoácidos que tienen cadenas laterales alifáticas, cadenas laterales cargadas positiva o negativamente, grupos aromáticos en las cadenas laterales o aminoácidos, cuyas cadenas laterales pueden participar en puentes de hidrógeno, por ejemplo cadenas laterales con una función hidroxilo. Esto significa que, por ejemplo, un aminoácido que tenga una cadena lateral polar se reemplaza por otro aminoácido que también tenga una cadena lateral polar, o, por ejemplo, un aminoácido caracterizado por una cadena lateral hidrofóbica se sustituye por otro aminoácido también con una cadena lateral hidrofóbica (por ejemplo serina (treonina) por treonina (serina) o leucina (isoleucina) por isoleucina (leucina)). En particular, son posibles inserciones y sustituciones en esas posiciones de las secuencias que no provocan una modificación a la estructura tridimensional o no afectan a la región de unión. Las modificaciones de la estructura tridimensional mediante inserciones o supresiones se pueden determinar fácilmente, por ejemplo utilizando espectros CD (espectros de dicroísmo circular) (Urry, 1985, Absorption, Circular Dichroism and ORD of Polypeptides, en: Modern Physical Methods in Biochemistry, Neuberger *et al.* (ed.), Elsevier, Amsterdam).

45 Además, las variantes de proteínas o péptidos como se definen aquí, que pueden ser codificadas por la secuencia de ácido nucleico descrita como se define aquí también pueden comprender aquellas secuencias donde los nucleótidos del ácido nucleico se intercambian de acuerdo con la degeneración del código genético sin conducir a una alteración de la secuencia de aminoácidos respectiva de la proteína o péptido, es decir, la secuencia de aminoácidos o al menos parte de la misma no puede diferir de la secuencia original en una o más mutaciones dentro del significado anterior.

55 Para determinar el porcentaje al cual son idénticas las dos secuencias, por ejemplo las secuencias de ácido nucleico o de aminoácidos como se definen aquí, preferentemente las secuencias de aminoácidos codificadas por la secuencia de ácido nucleico como se define aquí o las secuencias de aminoácidos por sí mismas, las secuencias pueden alinearse con el fin de ser comparadas posteriormente entre sí. Por tanto, por ejemplo, una posición de la primera secuencia se puede comparar con la posición correspondiente de la segunda secuencia. Si una posición en la primera secuencia está ocupada por el mismo componente, como es el caso en una

posición en la segunda secuencia, ambas secuencias son idénticas en esta posición. Si este no es el caso, las secuencias difieren en esta posición. Si están presentes inserciones en la segunda secuencia en comparación con la primera secuencia, se pueden insertar separaciones en la primera secuencia para permitir otro alineamiento. Si están presentes supresiones en la segunda secuencia en comparación con la primera secuencia, se pueden insertar separaciones en la segunda secuencia para permitir otro alineamiento. El porcentaje al cual las dos secuencias son idénticas es entonces función del número de posiciones idénticas dividido entre el número total de posiciones, incluyendo aquellas posiciones que estén ocupadas únicamente en una secuencia. El porcentaje al cual las dos secuencias son idénticas se puede determinar utilizando un algoritmo matemático. Un ejemplo preferido, pero no limitativo, de algoritmo matemático que se puede utilizar es el algoritmo de Karlin *et al.* (1993), PNAS USA, 90:5873-5877 o Altschul *et al.* (1997), Nucleic Acids Res., 25:3389-3402. Este algoritmo está integrado en el programa BLAST. Las secuencias que son idénticas a las secuencias de la presente invención en cierto grado pueden identificarse con este programa.

La secuencia de ácido nucleico descrita como se define aquí puede codificar para derivados de un péptido o proteína. Este derivado de un péptido o proteína es una molécula que se deriva de otra molécula, tal como el péptido o proteína. Un "derivado" típicamente contiene la secuencia de longitud completa del péptido o proteína natural y las características adicionales de la secuencia, por ejemplo en el terminal N o C, que pueden exhibir una función adicional para el péptido/proteína de longitud completa natural. Nuevamente estos derivados tienen la misma función biológica o actividad específica o al menos conservan una actividad de la proteína de longitud total natural de al menos el 50%, con mayor preferencia al menos 70%, incluso con mayor preferencia al menos el 90% (según se mide en un ensayo funcional adecuado), por ejemplo su propiedad antigénica específica. Así, un "derivado" también abarca proteínas/péptidos de fusión (quiméricos) que comprenden un péptido o proteína utilizado en la presente descripción o una proteína de longitud completa natural (o una variante o fragmento de la misma) fusionada a un péptido/proteína distinto, otorgando por ejemplo dos o más funciones biológicas al péptido/proteína de fusión. Por ejemplo, la fusión comprende una etiqueta, por ejemplo un epítipo, por ejemplo un epítipo FLAG o un epítipo V5 o un epítipo HA. Por ejemplo, el epítipo es un epítipo FLAG. Esta etiqueta es útil para, por ejemplo, purificar la proteína de fusión.

En este contexto, una "variante" de una proteína o péptido puede tener al menos un 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% de identidad de aminoácidos con respecto a un tramo de 10, 20, 30, 50, 75 o 100 aminoácidos de esta proteína o péptido. Análogamente, una "variante" o particularmente un "fragmento" de una secuencia de ácido nucleico pueden tener al menos un 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% de identidad de nucleótidos con respecto a un tramo de 10, 20, 30, 50, 75 ó 100 nucleótidos de esta secuencia de ácido nucleico; típicamente, sin embargo, en referencia a las secuencias de longitud completa de origen natural. En el caso de los "fragmentos" típicamente la identidad de secuencia se determina para el fragmento sobre la longitud (del fragmento) de la porción de proteína de longitud completa (reflejando la misma longitud que el fragmento) que tiene el mayor nivel de identidad de secuencia.

Preferentemente, la secuencia de ácido nucleico inventivo puede estar asociada a un vehículo, agente de transfección o de complejación para aumentar la eficiencia de transfección y/o las propiedades inmunoestimuladoras de la secuencia de ácido nucleico. Agentes adecuados particularmente preferentes en este contexto para aumentar la eficiencia de transfección son compuestos catiónicos o policatiónicos, incluyendo protamina, nucleolina, espermina o espermidina, u otros péptidos o proteínas catiónicos, tales como poli-L-lisina (PLL), poli-arginina, polipéptidos básicos, péptidos de penetración celular (CPP), incluyendo péptidos de unión a VIH, VIH-1 Tat (VIH), péptidos derivados de Tat, Penetratina, péptidos derivados o análogos de VP22 (Herpes simplex), MAP, KALA o dominios para transducción proteínica (PTD), PpT620, péptidos ricos en prolina, péptidos ricos en arginina, péptidos ricos en lisina, MPG-péptidos, Pep-1, L-oligómeros, péptidos de calcitonina, péptidos derivados de Antennapedia (en particular de *Drosophila antennapedia*), pAntp, plsl, FGF, Lactoferrina, Transportana, Buforin-2, Bac715-24, SynB, SynB(1), pVEC, péptidos derivados de hCT, SAP o histonas. Adicionalmente, proteínas o péptidos catiónicos o policatiónicos preferentes se pueden seleccionar de las siguientes proteínas o péptidos de la siguiente fórmula total: $(Arg)_l; (Lys)_m; (His)_n; (Orn)_o; (Xaa)_x$, donde $l + m + n + o + x = 8-15$, y l, m, n, u o independientemente entre si puede ser cualquier número seleccionado de 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 ó 15, con la condición de que el contenido total de Arg, Lys, His y Orn represente al menos el 50% de todos los aminoácidos del oligopéptido; y Xaa puede ser cualquier aminoácido seleccionado de aminoácidos naturales (= de origen natural) o no naturales excepto Arg, Lys, His o Orn; y x puede ser cualquier número seleccionado de 0, 1, 2, 3 ó 4, con la condición de que el contenido total de Xaa no exceda el 50% de todos los aminoácidos del oligopéptido. Péptidos catiónicos particularmente preferentes en este contexto son, por ejemplo, Arg₇, Arg₈, Arg₉, H₃R₉, R₉H₃, H₃R₉H₃, YSSR₉SSY, (RKH)₄, Y(RKH)₂R, etc. Compuestos catiónicos o policatiónicos preferentes adicionales que se pueden utilizar como agente de transfección pueden incluir polisacáridos catiónicos, por ejemplo quitosano, polibreno, polímeros catiónicos, por ejemplo polietilenimina (PEI), lípidos catiónicos, por ejemplo DOTMA: cloruro de [1-(2,3-sioleiloxi)propil]-N,N,N-trimetilamonio, DMRIE, di-C14-amidina, DOTIM, SAINT, DC-Chol, BGTC, CTAP, DOPC, DODAP, DOPE: Dioleil-fosfatidiletanol-amina, DOSPA, DODAB, DOIC, DMEPC, DOGS: Dioctadecilamidoglicilespermina, DIMRI: bromuro de dimiristil-

oxipropildimetilhidroxietilamonio, DOTAP: dioleoiloxi-3-(trimetilamonio)-propano DC-6-14: cloruro de O,O-ditradecanoil-N-(α -trimetilamonioacetil)-dietanolamina, CLIP1: cloruro de rac-[(2,3-dioctadeciloxipropil)(2-hidroxietil)]-dimetilamonio, CLIP6: rac-[2(2,3-dihexadeciloxipropil-oximetiloxi)etil]-trimetilamonio, CLIP9: rac-[2(2,3-dihexadeciloxipropil-oxisucciniloxi)etil]-trimetilamonio, oligofectamina, o polímeros catiónicos o policatiónicos, por ejemplo poliaminoácidos modificados, tales como polímeros de β -aminoácidos o poliamidas inversas, etc., polietilenos modificados, como PVP (bromuro de poli(N-etil-4-vinilpiridinio)), etc., acrilatos modificados, como pDMAEMA (metilacrilato de poli(dimetilaminoetilo)), etc., amidoaminas modificadas como pAMAM (poli(amidoamina)), etc., polibeta-aminoéster modificado (PBAE), como polímeros de 1,4-butandioldiacrilato-co-5-amino-1-pentanol modificados en el extremo de diamina, etc., dendrímeros, como dendrímeros de polipropilamina o dendrímeros a base de pAMAM, etc., poliiminas, como PEI: poli(etilenimina), poli(propilenimina), etc., polialilamina, polímeros basados en una estructura de azúcar, como polímeros basados en ciclodextrina, dextrano, quitosano, etc., polímeros basados en una estructura silano, como copolímeros PMOXA-PDMS, etc., polímeros en bloque consistentes en una combinación de uno o más bloques catiónicos (por ejemplo seleccionados de un polímero catiónico, como se mencionó anteriormente) y uno o más bloques hidrofílicos o hidrofóbicos (por ejemplo polietilenglicol); etc.

El ácido nucleico inventivo preferentemente puede estar complejado al menos parcialmente con un compuesto catiónico o policatiónico, preferentemente proteínas o péptidos catiónicos. Parcialmente significa que sólo una parte del ácido nucleico está complejado con un compuesto catiónico o policatiónico y que el resto del ácido nucleico está en forma no complejada ("libre"). Preferentemente, la proporción ácido nucleico complejado:ácido nucleico libre se selecciona en un rango de aproximadamente 5:1 (p/p) a aproximadamente de 1:10 (p/p), con mayor preferencia de aproximadamente 4:01 (p/p) a aproximadamente 1:8 (p/p), incluso con mayor preferencia de aproximadamente 3:01 (p/p) a aproximadamente 1:5 (p/p) o 1:3 (p/p) y con la máxima preferencia la proporción ácido nucleico complejado:ácido nucleico libre se selecciona de una proporción aproximadamente 1:1 (p/p).

La secuencia de ácido nucleico de la invención preferentemente puede proporcionarse en forma ya sea desnuda o complejada, por ejemplo con compuestos policatiónicos de cualquier estructura química, preferentemente (poli)péptidos policatiónicos o compuestos policatiónicos sintéticos. De preferencia, la secuencia de ácido nucleico no se proporciona junto con una célula de empaquetamiento.

En otro aspecto, la invención proporciona una composición o un kit o kit de partes que comprende una pluralidad o más de una, de preferencia 2 a 10, con mayor preferencia 2 a 5, con máxima preferencia 2 a 4 de las secuencias de ácido nucleico inventivas como se definen aquí. Estas composiciones inventivas comprenden más de una secuencia de ácido nucleico inventiva, preferentemente codificando para diferentes péptidos o proteínas que preferiblemente comprenden diferentes antígenos patogénicos o fragmentos de los mismos.

De acuerdo con otro aspecto, la presente invención también proporciona un método *in vitro* o *ex vivo* para aumentar la expresión de un péptido o proteína codificado que comprende los pasos de, por ejemplo, a) proporcionar la secuencia de ácido nucleico inventivo como se define aquí o la composición inventiva que comprende una pluralidad de secuencias de ácido nucleico inventivas como se definen aquí, b) aplicar o administrar la secuencia de ácido nucleico inventivo como se define aquí o la composición inventiva que comprende una pluralidad de secuencias de ácido nucleico inventivas como se definen aquí a un sistema de expresión, por ejemplo un sistema de expresión libre de células, una célula (por ejemplo una célula huésped para la expresión o una célula somática) o un tejido. El método *in vitro* o *ex vivo* se puede aplicar en laboratorio, para la investigación, para el diagnóstico, para la producción comercial de péptidos o proteínas y/o con fines terapéuticos. En este contexto, típicamente después de preparar la secuencia de ácido nucleico inventivo como se define aquí o la composición inventiva que comprende una pluralidad de secuencias de ácido nucleico inventivas como se definen aquí típicamente se aplica o administra a un sistema de expresión libre de células, a una célula (por ejemplo una célula huésped de expresión o una célula somática) o un tejido, por ejemplo en forma pura o complejada, o como una composición farmacéutica o vacuna como se describe aquí, de preferencia vía transfección o empleando cualquiera de los modos de administración aquí descritos. El método se lleva a cabo *in vitro* o *ex vivo*.

En este contexto, *in vitro* se define aquí como la transfección o transducción del ácido nucleico inventivo como se define aquí o de la composición de la invención que comprende una pluralidad de secuencias de ácido nucleico inventivas como se definen aquí en células cultivadas fuera de un organismo; *in vivo* se define aquí como la transfección o transducción del ácido nucleico inventivo o de la composición inventiva que comprende una pluralidad de secuencias de ácido nucleico inventivas en células mediante la aplicación del ácido nucleico inventivo o de la composición inventiva a todo el organismo o individuo y *ex vivo* se define en aquí como la transfección o transducción del ácido nucleico inventivo o de la composición de la invención que comprende una pluralidad de secuencias de ácido nucleico inventivas en células fuera de un organismo o individuo y posterior aplicación de las células transfectadas al organismo o individuo.

Asimismo, de acuerdo con otro aspecto, la presente invención también proporciona el uso de la secuencia de ácido nucleico inventiva como se define aquí o de la composición de la invención que comprende una pluralidad de secuencias de ácido nucleico inventivas como se definen aquí, preferentemente con fines diagnósticos o terapéuticos o para aumentar la expresión de un péptido o proteína codificado *in vitro*, por ejemplo aplicando o administrando la secuencia de ácido nucleico inventivo como se define aquí o la composición de la invención que comprende una pluralidad de secuencias de ácido nucleico inventivas como se definen aquí por ejemplo a un sistema de expresión libre de células, a una célula (por ejemplo una célula huésped de expresión o una célula somática) o a un tejido. El uso se puede aplicar para el laboratorio, en investigación, diagnóstico, para la producción comercial de péptidos o proteínas y/o con fines terapéuticos. En este contexto, típicamente después de preparar la secuencia de ácido nucleico inventiva como se define aquí o la composición de la invención que comprende una pluralidad de secuencias de ácido nucleico inventivas como se definen aquí típicamente su uso requiere una aplicación o administración a un sistema de expresión libre de células, una célula (por ejemplo una célula huésped de expresión o una célula somática), un tejido o un organismo, de preferencia en forma pura o complejada, o como una composición farmacéutica o vacuna como se describe aquí, preferentemente vía transfección o utilizando cualquiera de los modos de administración aquí descritos. El uso se puede llevar a cabo *in vitro*, *in vivo* (para su uso como medicamento o vacuna) o *ex vivo*. El uso además se puede llevar a cabo en el contexto del tratamiento de una enfermedad específica, en particular en el tratamiento de enfermedades infecciosas preferentemente como se definen aquí.

Todavía en otro aspecto (no reivindicado), la presente descripción también se refiere a un sistema de expresión que comprende una secuencia de ácido nucleico o un vector o plásmido de expresión de acuerdo con el primer aspecto de la presente descripción. En este contexto, el sistema de expresión puede ser un sistema de expresión libre de células (por ejemplo un sistema de transcripción/traducción *in vitro*), un sistema de expresión celular (por ejemplo células CHO similares a células mamíferas, células de insecto, células de levadura, células bacterianas similares a *E. coli*) u organismos utilizados para la expresión de péptidos o proteínas (por ejemplo plantas o animales como vacas).

Adicionalmente, de acuerdo con otro aspecto, la presente invención también se refiere al uso del ácido nucleico inventivo como se define aquí o de la composición de la invención que comprende una pluralidad de secuencias de ácido nucleico inventivas (lo que significa típicamente más de 1, 2, 3, 4, 5, 6 o más de 10 ácidos nucleicos, por ejemplo 2 a 10, de preferencia 2 a 5 ácidos nucleicos) como se definen aquí para la preparación de una composición farmacéutica para aumentar la expresión de un péptido o proteína codificados como un medicamento o vacuna, por ejemplo para tratar una enfermedad infecciosa, preferentemente tal como se define aquí, por ejemplo aplicando o administrando el ácido nucleico inventivo como se define aquí o la composición inventiva que comprende una pluralidad de secuencias de ácido nucleico inventivas como se definen aquí a una célula (por ejemplo una célula huésped de expresión o una célula somática), un tejido o un organismo, preferentemente en forma pura o complejada o como una composición farmacéutica o vacuna como se describe aquí, con mayor preferencia utilizando cualquiera de los modos de administración aquí descritos.

Por consiguiente, en otro aspecto, la presente invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende un ácido nucleico inventivo como se define aquí o una composición de la invención que comprende una pluralidad de secuencias de ácido nucleico inventivas como se definen aquí y opcionalmente un portador y/o vehículo farmacéuticamente aceptable.

Como un primer ingrediente, la composición farmacéutica de la invención comprende al menos un ácido nucleico inventivo como se define aquí.

Como un segundo ingrediente, la composición farmacéutica de la invención opcionalmente puede comprender al menos un componente farmacéuticamente activo adicional. Un componente farmacéuticamente activo a este respecto es un compuesto que tiene un efecto terapéutico de sanar, disminuir o evitar una indicación o enfermedad como se mencionan aquí, preferentemente enfermedades infecciosas. Estos compuestos incluyen, sin implicar ninguna limitación, péptidos o proteínas, de preferencia como se definen aquí, ácidos nucleicos, preferentemente tal como se definen aquí, compuestos orgánicos o inorgánicos de bajo peso molecular (terapéuticamente activos) (peso molecular inferior a 5.000, con preferencia inferior a 1.000), azúcares, antígenos o anticuerpos, de preferencia como se definen aquí, agentes terapéuticos ya conocidos en la técnica anterior, células antigénicas, fragmentos celulares antigénicos, fracciones celulares; componentes de la pared celular (por ejemplo polisacáridos), patógenos modificados, atenuados o desactivados (por ejemplo químicamente o por irradiación) (virus, bacterias, etc.), adyuvantes, de preferencia como se definen aquí, etc.

Además, la composición farmacéutica inventiva puede comprender un portador y/o vehículo farmacéuticamente aceptable. En el contexto de la presente invención, un portador farmacéuticamente aceptable típicamente incluye una base líquida o no líquida de la composición farmacéutica inventiva. Si la composición farmacéutica inventiva se proporciona en forma líquida, el portador típicamente será agua libre de pirógenos, solución salina

- isotónica o soluciones tampón (acuosas), por ejemplo fosfato, citrato, etc., soluciones tampón. El tampón de inyección puede ser hipertónico, isotónico o hipotónico en relación al medio de referencia específico, es decir, el tampón puede tener mayor, idéntico o menor contenido en sal en relación al medio de referencia específico, donde preferentemente estas concentraciones de sales mencionadas anteriormente se pueden utilizar pero sin conducir a daño celular debido a ósmosis u otros efectos de la concentración. Medios de referencia son, por ejemplo, líquidos que se emplean en métodos “*in vivo*”, como sangre, linfa, líquidos citosólicos u otros líquidos corporales, o por ejemplo líquidos que se puedan utilizar como medios de referencia en métodos “*in vitro*”, tales como tampones o líquidos comunes. Estos tampones o líquidos comunes son conocidos por el experto. En particular se prefiere como base líquida una solución Ringer-Lactato.
- 5
- 10 Sin embargo, se pueden utilizar uno o más materiales de carga o diluyentes sólidos o líquidos compatibles o compuestos encapsulantes para la composición farmacéutica inventiva, que sean adecuados para la administración a un paciente a tratar. El término “compatible” tal como se emplea aquí significa que estos constituyentes de la composición farmacéutica inventiva son capaces de mezclarse con el ácido nucleico inventivo como se define aquí de forma que no existe una interacción que pueda reducir sustancialmente la efectividad farmacéutica de la composición farmacéutica inventiva bajo las condiciones típicas de uso.
- 15
- La composición farmacéutica inventiva preferentemente puede comprender un adyuvante. En este contexto, se puede entender como adyuvante cualquier compuesto adecuado para iniciar o aumentar una respuesta inmune del sistema inmune innato, es decir una respuesta inmune no específica. En otras palabras, cuando se administra, la composición farmacéutica inventiva preferentemente produce una respuesta inmune innata debido al adyuvante opcionalmente contenido en la misma. De preferencia, este adyuvante se puede seleccionar de un adyuvante conocido por el experto y adecuado para el caso presente, es decir que soporte la inducción de una respuesta inmune innata en un mamífero, por ejemplo una proteína adyuvante como se definió arriba o un adyuvante como se define en lo que sigue.
- 20
- Como adyuvantes adecuados se prefieren en particular compuestos catiónicos o policatiónicos para el depósito y suministro como se describieron anteriormente para la secuencia de ácido nucleico inventiva como vehículo, agente de transfección o de complejación.
- 25
- La composición farmacéutica inventiva puede contener además una o más sustancias auxiliares para aumentar su inmunogenicidad o capacidad inmunoestimuladora, si se desea. Preferentemente así se alcanza una acción sinérgica de la secuencia de ácido nucleico inventivo como se define aquí y una sustancia auxiliar que puede estar contenida opcionalmente en la composición farmacéutica inventiva. Dependiendo de los diversos tipos de sustancias auxiliares, a este respecto entran en consideración diversos mecanismos. Por ejemplo, los compuestos que permitan la maduración de células dendríticas (DC), por ejemplo lipopolisacáridos, ligandos TNF-alfa o CD40, forman una primera clase de sustancias auxiliares adecuadas. En general, es posible utilizar como sustancia auxiliar cualquier agente que influye en el sistema inmune en forma de una “señal de peligro” (LPS, gp96, etc.) o citoquinas, como GM-CSF, que permiten que una respuesta inmune mejore y/o esté influida de forma dirigida. Sustancias auxiliares particularmente preferidas son citoquinas, como monoquinas, linfoquinas, interleuquinas o quimiocinas, que estimulan adicionalmente la respuesta inmune innata, tal como IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IL-19, IL-20, IL-21, IL-22, IL-23, IL-24, IL-25, IL-26, IL-27, IL-28, IL-29, IL-30, IL-31, IL-32, IL-33, IFN-alfa, IFN-beta, IFN-gamma, GM-CSF, G-CSF, M-CSF, LT-beta o TNF-alfa, factores de crecimiento, tales como hGH.
- 30
- 35
- 40
- Otros aditivos que pueden estar incluidos en la composición farmacéutica inventiva son emulsionantes, por ejemplo Tween®; agentes humectantes, por ejemplo laurilsulfato de sodio; agentes colorantes; agentes saborizantes, portadores farmacéuticos; agentes formadores de tabletas; estabilizantes; antioxidantes; conservantes.
- 45
- La composición farmacéutica inventiva también puede contener adicionalmente cualquier compuesto adicional conocido por ser inmunoestimulador debido a su afinidad de unión (como ligando) a los receptores similares a Toll humanos TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, o debido a su afinidad de unión (como ligando) con los receptores similares a Toll-murino TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, TLR11, TLR12 o TLR13.
- 50
- La composición farmacéutica inventiva se puede administrar vía oral, parenteral, inhalación de aerosol, tópica, rectal, nasal, bucal, vaginal o vía un depósito implantado. El término parenteral como se utiliza aquí incluye técnicas de inyección o infusión subcutáneas, intravenosas, intramusculares, intra-articulares, intra-sinoviales, intraesternales, intratecales, intrahepáticas, intralesionales, intracraneales, transdérmicas, intradérmicas, intrapulmonales, intraperitoneales, intracardiacas, intra-arteriales y sublinguales.

- 5 Preferentemente, la composición farmacéutica inventiva se puede administrar por inyección parenteral, con mayor preferencia por inyección subcutánea, intravenosa, intramuscular, intra-articular, intra-sinovial, intraesternal, intratecal, intrahepática, intralesional, intracraneal, transdérmica, intradérmica, intrapulmonal, intraperitoneal, intracardiaca, intraarterial, y sublingual o vía técnicas de infusión. Es particularmente preferente la inyección intradérmica e intramuscular. Las formas inyectables estériles de las composiciones farmacéuticas de la invención pueden ser una suspensión acuosa u oleosa. Estas suspensiones se pueden formular de acuerdo con técnicas conocidas en la técnica utilizando agentes de dispersión o humectantes adecuados y agentes de suspensión.
- 10 La composición farmacéutica inventiva como se define aquí también se puede administrar vía oral en cualquier forma de dosificación oralmente aceptable, incluyendo, de manera no limitativa, cápsulas, tabletas, suspensiones o soluciones acuosas.
- 15 La composición farmacéutica inventiva también se puede administrar vía tópica, en especial cuando la diana de tratamiento incluye áreas u órganos a los que se tenga fácil acceso por una aplicación tópica, por ejemplo incluyendo enfermedades de la piel o de cualquier otro tejido epitelial accesible. Las formulaciones tópicas adecuadas se preparan fácilmente para cada una de estas áreas u órganos. Para aplicaciones tópicas, la composición farmacéutica inventiva se puede formular en un ungüento adecuado que contenga el ácido nucleico inventivo como se define aquí, suspendido o disuelto en uno o más portadores.
- 20 La composición farmacéutica inventiva comprende típicamente una "cantidad segura y efectiva" de los componentes de la composición farmacéutica inventiva, en particular de las secuencias de ácido nucleico inventivas tal como se definen aquí. Tal como se emplea aquí, una "cantidad segura y efectiva" significa una cantidad de secuencias de ácido nucleico inventivas como se definen aquí que sea suficiente para inducir significativamente una modificación positiva de una enfermedad o trastorno como se define aquí. Sin embargo, al mismo tiempo, una "cantidad segura y efectiva" es lo suficientemente pequeña para evitar efectos secundarios graves, permitiendo una relación sensible entre ventaja y riesgo. La determinación de estos límites queda dentro del alcance del juicio médico sensible.
- 25 La composición farmacéutica inventiva se puede utilizar para un ser humano y también con fines médicos veterinarios, preferentemente con fines médicos humanos, como una composición farmacéutica en general o como una vacuna.
- 30 De acuerdo con otro aspecto particularmente preferente, la composición farmacéutica inventiva (o la secuencia de ácido nucleico inventivo como se define aquí o la composición de la invención que comprende una pluralidad de secuencias de ácido nucleico inventivas como se definen aquí) se puede proporcionar o utilizar como una vacuna. Típicamente, esta vacuna es como se definió anteriormente para las composiciones farmacéuticas. Adicionalmente, esta vacuna típicamente contiene el ácido nucleico inventivo como se define aquí o la composición de la invención que comprende una pluralidad de secuencias de ácido nucleico inventivas como se definen aquí.
- 35 La vacuna inventiva también puede comprender un portador, adyuvante y/o vehículo farmacéuticamente aceptable como se definen aquí para la composición farmacéutica inventiva. En el contexto específico de la vacuna inventiva, la selección de un portador farmacéuticamente aceptable se determina, en principio, por la forma en que se administra la vacuna. La vacuna inventiva se puede administrar, por ejemplo, sistémica o localmente. Las vías de administración sistémica en general incluyen, por ejemplo, las vías transdérmica, oral, parenteral, incluyendo subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraarterial, intradérmica e inyecciones intraperitoneales y/o vías de administración intranasal. Las vías para la administración local en general incluyen, por ejemplo, vías de administración tópica, aunque también intradérmica, transdérmica, subcutánea o inyecciones intramusculares o intralesionales, intracraneales, intrapulmonales, intracárdicas y sublinguales.
- 40 Con mayor preferencia, las vacunas se pueden administrar por vía intradérmica, subcutánea o intramuscular. Por tanto, las vacunas inventivas preferentemente se formulan en forma líquida (o a veces en forma sólida).
- 45 La vacuna inventiva adicionalmente puede contener una o más sustancias auxiliares para aumentar su inmunogenicidad o capacidad inmunoestimuladora, si se desea. Son particularmente preferentes los adyuvantes como sustancias auxiliares o aditivos como se definen para la composición farmacéutica.
- 50 La presente invención proporciona además diversas aplicaciones y usos de la secuencia de ácido nucleico inventiva como se define aquí, de la composición inventiva que comprende una pluralidad de secuencias de ácido nucleico inventivas como se definen aquí, de la composición farmacéutica inventiva o de la vacuna inventiva, todas comprendiendo la secuencia de ácido nucleico inventiva como se define aquí.

De acuerdo con un aspecto específico, la presente invención se dirige al primer uso médico de la secuencia de ácido nucleico inventiva como se define aquí o de la composición inventiva que comprende una pluralidad de secuencias de ácido nucleico inventivas como se definen aquí como medicamento, preferentemente como una vacuna particularmente en el tratamiento de enfermedades infecciosas.

5 De acuerdo con otro aspecto, la presente invención se dirige al segundo uso médico de la secuencia de ácido nucleico inventiva como se define aquí o de la composición inventiva que comprende una pluralidad de secuencias de ácido nucleico inventivas como se definen aquí, para el tratamiento de enfermedades infecciosas como se definen aquí, de preferencia para el uso de la secuencia de ácido nucleico inventiva como se define aquí, de la composición inventiva que comprende una pluralidad de secuencias de ácido nucleico inventivas como se definen aquí, de una composición farmacéutica o vacuna que los comprende para la preparación de un medicamento para la profilaxis, tratamiento y/o mejora de enfermedades infecciosas como se definen aquí. De preferencia, la composición farmacéutica o una vacuna se utiliza o se administra a un paciente que lo necesite para este fin.

15 Preferentemente, las enfermedades infecciosas como se mencionan aquí se seleccionan de enfermedades infecciosas virales, bacterianas, protozoológicas y priónicas. Estas enfermedades infecciosas típicamente se seleccionan de la lista consistente en infecciones por *Acinetobacter*, enfermedad africana del sueño (tripanosomiasis africana), SIDA (síndrome de inmunodeficiencia adquirida), Amoebiasis, Anaplasmosis, Anthrax, Appendicitis, infecciones por *Arcanobacterium haemolyticum*, fiebre hemorragia Argentina, Ascariasis, Aspergillosis, infecciones por *Astrovirus*, pie de atleta, Babesiosis, infecciones por *Bacillus cereus*, meningitis bacteriana, pneumonia bacteriana, vaginosis bacteriana (BV), infecciones *Bacteroides*, Balantidiasis, infecciones por *Baylisascaris*, Bilharziosis, infecciones por virus BK, piedra negra, infecciones por *Blastocystis hominis*, Blastomycosis, fiebre hemorrágica boliviana, infecciones por *Borrelia* (Borreliosis), Botulismo (y botulismo infantil), cestodo bovino, fiebre hemorrágica brasileña, Brucellosis, infecciones por *Burkholderia*, úlcera de Buruli, infecciones por *Calicivirus* (Norovirus y Sapovirus), *Campylobacteriosis*, Candidiasis (Candidosis), infecciones por cestodo canino, enfermedad por arañazo de gato, enfermedad de Chagas (tripanosomiasis Americana), Chancroide, varicela, infecciones por clamida, infecciones por *Chlamydia trachomatis*, infecciones por *Chlamydia pneumoniae*, Cólera, *Chromoblastomycosis*, bubón climático, Clonorchiasis, infecciones por *Clostridium difficile*, *Coccidioidomycosis*, catarro, fiebre por garrapatas de Colorado (CTF), resfriado común (rinofaringitis viral aguda; coryza agudo), *Condyloma acuminata*, conjuntivitis, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (CJD), fiebre hemorrágica de Crimean-Congo (CCHF), *Cryptococcosis*, *Cryptosporidiosis*, larva migran cutánea (CLM), *Leishmaniasis cutánea*, *Ciclosporiasis*, *Cisticercosis*, infecciones por citomegalovirus, fiebre del dengue, dermatofitosis, *Dientamoebiasis*, *Difteria*, *Difilobotriasis*, *Donovanosis*, *Dracunculiasis*, meningoencefalitis de verano temprano (FSME), fiebre hemorrágica por Ebola, *Echinococcosis*, *Ehrlichiosis*, *Enterobiasis* (infecciones por Pinworm), infecciones por *Enterococcus*, infecciones por *Enterovirus*, tífus epidémica, *Epiglottitis*, *Mononucleosis infecciosa* por el virus de Epstein-Barr, Eritema infeccioso (enfermedad Fifth), *Exanthem subitum*, *Fascioliasis*, *Fasciolosis*, insomnio familiar fatal (FFI), enfermedad de Fifth, *Filariasis*, envenenamiento por pescado (Ciguatera), cestodo de pescado, gripe, envenenamiento alimentario por *Clostridium perfringens*, cestodo de zorro, infecciones amebianas de crecimiento libre, infecciones por *Fusobacterium*, gangrena gaseosa, *Geotricosis*, síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker (GSS), *Giardiasis*, *Glanders*, *Gnathostomiasis*, *Gonorrhea*, *Granuloma inguinal* (*Donovanosis*), infecciones por estreptococos del Grupo A, infecciones por estreptococos Grupo B, infecciones por *Haemophilus influenzae*, enfermedad de manos, pies y boca (HFMD), síndrome pulmonar por *Hantavirus* (HPS), infecciones por *Helicobacter pylori*, síndrome hemolítico-urémico (HUS), Fiebre hemorrágica con síndrome renal (HFRS), infecciones por *Henipavirus*, *Hepatitis A*, *Hepatitis B*, *Hepatitis C*, *Hepatitis D*, *Hepatitis E*, *Herpes simplex*, *Herpes simplex* tipo I, *Herpes simplex* tipo II, *Herpes zoster*, *Histoplasmosis*, verrugas huecas, infecciones por *Anquilostoma*, infecciones por *Bocavirus humano*, *erliquiosis ewingii humana*, *anaplasmosis granulocítica humana* (HGA), infecciones por *metapneumovirus humano*, *erliquiosis monocítico humano*, infecciones por *papilomavirus humano* (HPV), infecciones por virus de *parainfluenza humana*, *Hymenolepiasis*, *Influenza*, *Isosporiasis*, *encefalitis japonesa*, enfermedad de Kawasaki, *Keratitis*, infecciones por *Kingella kingae*, *Kuru*, *Lambliasis* (*Giardiasis*), fiebre de Lassa, *Legionellosis* (enfermedad del Legionario, fiebre Pontiac), *Leishmaniasis*, *Lepra*, *Leptospirosis*, piojo, *Listeriosis*, *Lyme borreliosis*, enfermedad de Lyme, *filariasis linfática* (*Elefantiasis*), *coriomeningitis linfocítica*, *Malaria*, fiebre hemorrágica por Marburg (MHF), virus de Marburg, *Sarampión*, *Melioidosis* (enfermedad de Whitmore), *Meningitis*, enfermedad *Meningococcal*, *Metagonimiasis*, *Microsporidiosis*, cestodo miniatura, *miscarriage* (inflamación de la próstata), *Molluscum contagiosum* (MC), *Mononucleosis*, *paperas*, tífus murino (tífus endémico), *Mycetoma*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Myiasis*, *dermatitis por pañal desechable/pañal de tela*, *conjuntivitis neonatal* (*Ophthalmia neonatorum*), *sepsis neonatal* (*Chorioamnionitis*), *Nocardiosis*, *Noma*, infecciones por virus *Norwalk*, *Oncocercosis* (ceguera de los ríos), *Osteomielitis*, *Otitis media*, *Paracoccidioidomycosis* (*blastomycosis de Sudamérica*), *Paragonimiasis*, *Paratyphus*, *Pasteurellosis*, *Pediculosis capitis* (Head lice), *Pediculosis corporis* (piojos del cuerpo), *Pediculosis pubis* (piojo púbico, liendre), enfermedad inflamatoria pélvica (PID), *Pertussis* (tosferina), fiebre glandular de Pfeiffer, plaga, infecciones por *pneumococcus*, *Pneumocystis pneumonia* (PCP), *Pneumonia*, *Polio* (cojera infantil), *Poliomielitis*, cestodo porcino, infecciones

por Prevoetela, meningoencefalitis amebiana primaria (PAM), leucoencefalopatía multifocal progresiva, Pseudocroup, Psittacosis, fiebre Q, fiebre de conejo, Rabia, fiebre por mordida de rata, síndrome de Reiter, infección por virus sincitial respiratorio (RSV), Rhinosporidiosis, infecciones por Rinovirus, infecciones por Rickettsial, Rickettsialpox, fiebre amarilla (RVF), fiebre manchada de las montañas rocosas (RMSF), infecciones por Rotavirus, Rubeola, Salmonella paratyphus, Salmonella typhus, Salmonellosis, SARS (Síndrome Respiratorio Agudo Grave) sarna, escarlatina, Esquistosomiasis (Bilharziosis), Scrub typhus, Sepsis, Shigellosis (disintiera basilar), Shingles, Smallpox (Viruela), chancro suave, Sporotricosis, envenenamiento alimentario por estafilococos, infecciones por estafilococos, Strongyloidiasis, sífilis, Taeniasis, Tétanos, fiebre de los tres días, encephalitis portada por garrpatas, Tinea barbae (picazón de Barber), Tiña del cuero cabelludo (Tiña del cuerpo), Tiña corporis (tiña del cuerpo), Tiña cruris (picazón Jock), Tiña de la mano (Tiña de la mano), Tiña nigra, Tiña pedis (pie de atleta), Tiña unguium (Onicomiosis), Tiña versicolor (Pityriasis versicolor), Toxocariasis (Larva Migrans Ocular (OLM) y Larva Migrans Visceral (VLM)), Toxoplasmosis, Triquinelosis, Tricomoniasis, Tricuriasis (infecciones del intestino grueso), Tripper, Trypanosomiasis (enfermedad del sueño), enfermedad Tsutsugamushi, Tuberculosis, Tularemia, Tifo, fiebre por tifo, infecciones por Ureaplasma urealyticum, Vaginitis (Colpitis), enfermedad de Creutzfeldt-Jakob variante (vCJD, nvCJD), encefalitis equina Venezolana, fiebre hemorrágica Venezolana, neumonía viral, Leishmaniosis visceral, verrugas, Fiebre del Nilo occidental, encefalitis equina occidental, piedra blanca (Tiña blanca), tosferina, puntos por hongos de levadura, fiebre amarilla, infecciones por Yersinia pseudotuberculosis, Yersiniosis y Zigomicosis.

En otro aspecto preferente, la secuencia de ácido nucleico inventiva como se define aquí o la composición inventiva que comprende una pluralidad de secuencias de ácido nucleico inventivas como se definen aquí se puede utilizar para la preparación de una composición farmacéutica o una vacuna, en particular para los fines aquí definidos.

La composición farmacéutica inventiva o la vacuna se pueden utilizar además para el tratamiento de una enfermedad o trastorno, preferentemente de enfermedades infecciosas como se definen aquí.

De acuerdo con un aspecto final, la presente invención también proporciona kits, en particular kits de partes. Estos kits, en particular kits de partes, típicamente comprenden como componentes solos o en combinación con componentes adicionales tal como se definen aquí al menos una secuencia de ácido nucleico inventiva como se define aquí, la composición farmacéutica inventiva o la vacuna que comprende la secuencia de ácido nucleico inventiva. La al menos una secuencia de ácido nucleico inventiva como se define aquí está por ejemplo opcionalmente combinada con componentes adicionales tal como se definen aquí, donde el al menos un ácido nucleico de la invención se proporciona por separado (primera parte del kit) de al menos una otra parte del kit que comprende uno o más de los otros componentes. La composición farmacéutica inventiva y/o la vacuna inventiva pueden por ejemplo presentarse en una o diferentes partes del kit. Como ejemplo, por ejemplo al menos una parte del kit puede comprender al menos una secuencia de ácido nucleico inventiva como se define aquí y al menos otra parte del kit comprende al menos otro componente como se define aquí, por ejemplo al menos otra parte del kit puede comprender al menos una composición farmacéutica o vacuna o una parte de la misma, por ejemplo al menos una parte del kit puede comprender la secuencia de ácido nucleico inventiva como se define aquí, al menos una parte adicional del kit al menos otro componente como se define aquí, al menos otra parte del kit al menos un componente de la composición farmacéutica inventiva o vacuna o la composición farmacéutica inventiva o vacuna como un todo, y al menos otra parte del kit por ejemplo al menos un portador o vehículo farmacéutico, etc. En caso de que el kit o el kit de partes comprenda una pluralidad de secuencias de ácido nucleico inventivo (lo que significa típicamente más de 1, 2, 3, 4, 5, 6 o más de 10 ácidos nucleicos, por ejemplo 2 a 10, de preferencia 2 a 5 ácidos nucleicos), un componente del kit puede comprender sólo una, diversas o todas las secuencias de ácido nucleico inventivas comprendidas en el kit. En una realización alternativa, cada secuencia de ácido nucleico inventiva puede estar comprendida en un componente diferente/separado del kit, de forma que cada componente forme una parte del kit. Igualmente, más de un ácido nucleico puede estar comprendido en un primer componente como parte del kit, mientras que uno o más de otros (segundo, tercero, etc.) componentes (proporcionando uno o más partes del kit) pueden o bien contener uno o más de los ácidos nucleicos inventivos, que pueden ser idénticos o parcialmente idénticos o diferentes del primer componente. El kit o el kit de partes además puede contener instrucciones técnicas con información sobre la administración y dosificación de la secuencia de ácido nucleico inventiva, de la composición farmacéutica inventiva o de la vacuna inventiva o de cualquiera de sus componentes o partes, por ejemplo cuando el kit se prepara como un kit de partes.

En general, la descripción proporciona una secuencia de ácido nucleico que comprende o codifica para:

- a) una región codificante, que codifica para al menos un péptido o proteína;
- b) al menos un tallo-bucle de histona, y
- c) una secuencia poli(A) o una señal de poliadenilación;

donde dicho péptido o proteína comprende un antígeno patogénico o un fragmento, variante o derivado del mismo, en particular un antígeno proveniente de un patógeno asociado a una enfermedad infecciosa, de

preferencia asociado a una enfermedad infecciosa que es una infección bacteriana, una infección viral, una infección por protozoarios, una infección por hongos o similares. La descripción proporciona además una composición o kit o kit de partes que comprende al menos una de estas secuencias de ácido nucleico. Además, la descripción proporciona el uso de esta secuencia de ácido nucleico como medicamento, de preferencia para el tratamiento de enfermedades infecciosas, con mayor preferencia en una composición farmacéutica para el tratamiento de enfermedades infecciosas que comprende además un portador farmacéuticamente aceptable. Además, la descripción proporciona un método para aumentar la expresión de un péptido o proteína codificado que comprende los pasos de proporcionar tal secuencia de ácido nucleico o composición que contenga esta secuencia de ácido nucleico y aplicar o administrar la secuencia de ácido nucleico o la composición a un sistema de expresión libre de células, a una célula, a un tejido o a un organismo.

Además, la descripción proporciona una secuencia de ácido nucleico que comprende o codifica para:

- a) una región codificante, que codifica para al menos un péptido o proteína;
- b) al menos un tallo-bucle de histona, y
- c) una secuencia poli(A) o una señal de poliadenilación;

donde dicho péptido o proteína comprende un antígeno patogénico o un fragmento, variante o derivado del mismo, en particular un antígeno proveniente de un patógeno asociado a una enfermedad infecciosa, de preferencia asociado a una enfermedad infecciosa que es una infección bacteriana, una infección viral, una infección por protozoarios, una infección por hongos o similar, con mayor preferencia donde el antígeno patogénico se deriva de patógenos seleccionados de virus de influenza, virus sincitial respiratorio (RSV), virus de herpes simplex (HSV), virus de papiloma humano (VPH), virus de inmunodeficiencia humana (VIH), Plasmodium, Staphylococcus aureus, virus del dengue, Chlamydia trachomatis, citomegalovirus (CMV), virus de hepatitis B (HBV), tuberculosis Mycobacterium, virus de la rabia y virus de la fiebre amarilla. La descripción proporciona además una composición o kit o un kit de partes que comprende al menos una de estas secuencias de ácidos nucleicos. Además, la descripción proporciona el uso de esta secuencia de ácido nucleico como medicamento, de preferencia para el tratamiento de enfermedades infecciosas, con mayor preferencia en una composición farmacéutica para el tratamiento de enfermedades infecciosas que comprende además un portador farmacéuticamente aceptable. Además, la descripción proporciona un método para aumentar la expresión de un péptido o proteína codificado que comprende los pasos de proporcionar esta secuencia de ácido nucleico o una composición que contenga esta secuencia de ácido nucleico y aplicar o administrar la secuencia de ácido nucleico o la composición a un sistema de expresión libre de células, a una célula, a un tejido o a un organismo.

Con más preferencia, la descripción proporciona una secuencia de ácido nucleico que comprende o codifica para:

- a) una región codificante, que codifica para al menos un péptido o proteína;
- b) al menos un tallo-bucle de histona, y
- c) una secuencia poli(A) o una señal de poliadenilación;

donde el péptido o proteína comprende un antígeno patogénico o un fragmento, variante o derivado del mismo, en particular un antígeno proveniente de un patógeno asociado a una enfermedad infecciosa, de preferencia asociada a una enfermedad infecciosa que es una infección bacteriana, una infección viral, una infección por protozoarios, un infección por hongos o similar, con mayor preferencia donde el antígeno patogénico se puede derivar de patógenos seleccionados del virus de influenza, virus sincitial respiratorio (RSV), virus del herpes simplex (HSV), virus del papiloma humano (VPH), virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), Plasmodium, Staphylococcus aureus, virus del dengue, Chlamydia trachomatis, citomegalovirus (CMV), virus de la Hepatitis B (HBV), tuberculosis Mycobacterium, virus de la rabia, y virus de la fiebre amarilla, incluso de mayor preferencia el antígeno se selecciona del antígeno p24 del VIH, proteínas con envoltura del VIH (Gp120, gp41, Gp160), poliproteína GAG, proteína Nef de factor negativo, trans-activador de transcripción Tat si la enfermedad infecciosa es VIH, de preferencia una infección con el virus de la inmunodeficiencia humana. La descripción proporciona además una composición o kit o un kit de partes que comprende al menos una de estas secuencias de ácidos nucleicos. Además, la descripción proporciona el uso de esta secuencia de ácido nucleico como medicamento, de preferencia para el tratamiento de enfermedades infecciosas, con mayor preferencia en una composición farmacéutica para el tratamiento de enfermedades infecciosas que comprende además un portador farmacéuticamente aceptable. Además, la descripción proporciona un método para aumentar la expresión de un péptido o proteína codificado que comprende los pasos de proporcionar una secuencia de ácido nucleico o una composición que contenga esta secuencia de ácido nucleico y aplicar o administrar la secuencia de ácido nucleico o la composición a un sistema de expresión libre de células, a una célula, a un tejido o a un organismo.

Además con preferencia, la descripción proporciona una secuencia de ácido nucleico que comprende o codifica para:

- a) una región codificante, que codifica para al menos un péptido o proteína;
- b) al menos un tallo-bucle de histona, y
- c) una secuencia poli(A) o una señal de poliadenilación;

donde dicho péptido o proteína comprende un antígeno patógeno o un fragmento, variante o derivado del mismo, en particular un antígeno proveniente de un patógeno asociado a una enfermedad infecciosa, con preferencia asociado a una enfermedad infecciosa que es una infección bacteriana, una infección viral, una infección por protozoarios, un infección por hongos o similar, con mayor preferencia donde el antígeno patógeno se puede derivar de patógenos seleccionados del virus de influenza, virus sincitial respiratorio (RSV), virus del herpes simplex (HSV), virus del papiloma humano (VPH), virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), Plasmodium, Staphylococcus aureus, virus del dengue, Chlamydia trachomatis, citomegalovirus (CMV), virus de la hepatitis B (HBV), tuberculosis Mycobacterium, virus de la rabia y virus de la fiebre amarilla, incluso con mayor preferencia el antígeno se selecciona de proteína MOMP de membrana externa mayor, la proteína de membrana externa PMPC probable, proteína compleja de membrana externa B OmcB, proteínas de choque térmico Hsp60 HSP10, proteína IncA, proteínas provenientes del sistema de secreción tipo III, proteína de cadena pequeña de reductasa y ribonucleótido NrdB, proteína plasmídica Pgp3, proteína externa de clamidia N CopN, antígeno CT521, antígeno CT425, antígeno CT043, antígeno TC0052, antígeno TC0189, antígeno TC0582, antígeno TC0660, antígeno TC0726, antígeno TC0816, antígeno TC0828 si la enfermedad infecciosa es una infección por Chlamydia trachomatis. La descripción proporciona además una composición o kit o un kit de partes que comprende al menos una de estas secuencias de ácidos nucleicos. Además, la descripción proporciona el uso de esta secuencia de ácido nucleico como medicamento, de preferencia para el tratamiento de enfermedades infecciosas, con mayor preferencia en una composición farmacéutica para el tratamiento de enfermedades infecciosas que comprende además un portador farmacéuticamente aceptable. Además, la descripción proporciona un método para aumentar la expresión de un péptido o proteína codificado que comprende los pasos de proporcionar esta secuencia de ácido nucleico o una composición que contenga esta secuencia de ácido nucleico y aplicar o administrar la secuencia de ácido nucleico o la composición a un sistema de expresión libre de células, a una célula, a un tejido o a un organismo.

Además con preferencia, la descripción proporciona una secuencia de ácido nucleico que comprende o codifica para:

- a) una región codificante, que codifica para al menos un péptido o proteína;
- b) al menos un tallo-bucle de histona, y
- c) una secuencia poli(A) o una señal de poliadenilación;

donde dicho péptido o proteína comprende un antígeno patógeno o un fragmento, variante o derivado del mismo, en particular un antígeno proveniente de un patógeno asociado a una enfermedad infecciosa, de preferencia asociado a una enfermedad infecciosa que es una infección bacteriana, una infección viral, una infección por protozoarios, un infección por hongos o similar, con mayor preferencia donde el antígeno patógeno se puede derivar de patógenos seleccionados del virus de influenza, virus sincitial respiratorio (RSV), virus del herpes simplex (HSV), virus del papiloma humano (VPH), virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), Plasmodium, Staphylococcus aureus, virus del dengue, Chlamydia trachomatis, citomegalovirus (CMV), virus de la hepatitis B (HBV), tuberculosis Mycobacterium, virus de la rabia y virus de la fiebre amarilla, incluso con mayor preferencia el antígeno se selecciona del antígeno pp65, proteína de membrana pp15, proteína tegumental cápside-proximal pp150, proteína M45, ADN polimerasa UL54, helicasa UL105, glucoproteína gM, glucoproteína gN, glucoproteína H, glucoproteína B gB, proteína UL83, proteína UL94, proteína UL99 si la enfermedad infecciosa es una infección por Citomegalovirus, de preferencia una infección con citomegalovirus (CMV). La descripción proporciona además una composición o kit o un kit de partes que comprende al menos una de estas secuencias de ácidos nucleicos. Además, la descripción proporciona el uso de esta secuencia de ácido nucleico como un medicamento, de preferencia para el tratamiento de enfermedades infecciosas, con mayor preferencia en una composición farmacéutica para el tratamiento de enfermedades infecciosas que comprende además un portador farmacéuticamente aceptable. Además, la descripción proporciona un método para aumentar la expresión de un péptido o proteína codificado que comprende los pasos de proporcionar esta secuencia de ácido nucleico o una composición que contenga esta secuencia de ácido nucleico y aplicar o administrar la secuencia de ácido nucleico o la composición a un sistema de expresión libre de células, a una célula, a un tejido o a un organismo.

Además con preferencia, la descripción proporciona una secuencia de ácido nucleico que comprende o codifica para:

- a) una región codificante, que codifica para al menos un péptido o proteína;

- b) al menos un tallo-bucle de histona, y
- c) una secuencia poli(A) o una señal de poliadenilación;

5 donde dicho péptido o proteína comprende un antígeno patogénico o un fragmento, variante o derivado del mismo, en particular un antígeno proveniente de un patógeno asociado a una enfermedad infecciosa, de preferencia asociado a una enfermedad que es una infección bacteriana, una infección viral, una infección protozoaria, una infección por hongos o similar, con mayor preferencia donde el antígeno patogénico se puede derivar de patógenos seleccionados del virus de influenza, virus sincitial respiratorio (RSV), Virus de herpes simplex (HSV), virus de papiloma humano (HPV), Virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), Plasmodium, Staphylococcus aureus, virus del dengue, Chlamydia trachomatis, Cytomegalovirus (CMV), virus de Hepatitis B (HBV), tuberculosis Mycobacterium, virus de la rabia y el Virus de fiebre amarilla, incluso con mayor preferencia el antígeno se selecciona de la proteína C con cápside, proteína premembrana prM, proteína membrana M, proteína con envoltura E (dominio I, dominio II, dominio II), proteína NS1, proteína NS2A, proteína NS2B, proteína NS3, proteína NS4A, proteína 2K, proteína NS4B, proteína NS5, de preferencia una infección con los virus de dengue (DEN-1, DEN-2, DEN-3 y DEN-4)-Flavivirus. La descripción proporciona además una composición o kit o un kit de partes que comprende al menos una de estas secuencias de ácidos nucleicos. 10 Además, la descripción proporciona el uso de esta secuencia de ácido nucleico como medicamento, de preferencia para el tratamiento de enfermedades infecciosas, con mayor preferencia en una composición farmacéutica para el tratamiento de enfermedades infecciosas que comprende además un portador farmacéuticamente aceptable. Además, la descripción proporciona un método para aumentar la expresión de un péptido o proteína codificado que comprende los pasos de proporcionar esta secuencia de ácido nucleico o una composición que contenga esta secuencia de ácido nucleico y aplicar o administrar la secuencia de ácido nucleico o la composición a un sistema de expresión libre de células, a una célula, a un tejido o a un organismo. 15 20

Además con preferencia, la descripción proporciona una secuencia de ácido nucleico que comprende o codifica para:

- 25 a) una región codificante, que codifica para al menos un péptido o proteína;
- b) al menos un tallo-bucle de histona, y
- c) una secuencia poli(A) o una señal de poliadenilación;

30 donde dicho péptido o proteína comprende un antígeno patogénico o un fragmento, variante o derivado del mismo, en particular un antígeno proveniente de un patógeno asociado a una enfermedad infecciosa, con preferencia asociado a una enfermedad que es una infección bacteriana, una infección viral, una infección protozoaria, una infección por hongos o similar, con mayor preferencia donde el antígeno patogénico se puede derivar de patógenos seleccionados del virus de influenza, virus de influenza, virus sincitial respiratorio (RSV), Virus de herpes simplex (HSV), virus de papiloma humano (HPV), Virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), Plasmodium, Staphylococcus aureus, virus del dengue, Chlamydia trachomatis, Cytomegalovirus (CMV), virus de Hepatitis B (HBV), tuberculosis Mycobacterium, virus de la rabia y el Virus de fiebre amarilla, incluso con mayor preferencia el antígeno se selecciona del antígeno superficial hepatitis B HBsAg, antígeno núcleo de Hepatitis B HbcAg, polimerasa, proteína Hbx, proteína superficial media preS2, proteína superficial L, proteína larga S, proteína viral VP1, proteína viral VP2, proteína viral VP3, proteína viral VP4 si la enfermedad infecciosa es Hepatitis B, de preferencia una infección con virus de hepatitis B (HBV). La descripción proporciona además una composición o kit o un kit de partes que comprende al menos una de estas secuencias de ácidos nucleicos. 35 Además, la descripción proporciona el uso de esta secuencia de ácido nucleico como medicamento, de preferencia para el tratamiento de enfermedades infecciosas, con mayor preferencia en una composición farmacéutica para el tratamiento de enfermedades infecciosas que comprende además un portador farmacéuticamente aceptable. Además, la descripción proporciona un método para aumentar la expresión de un péptido o proteína codificado que comprende los pasos de proporcionar esta secuencia de ácido nucleico o una composición que contenga esta secuencia de ácido nucleico y aplicar o administrar la secuencia de ácido nucleico o la composición a un sistema de expresión libre de células, a una célula, a un tejido o a un organismo. 40 45

Además con preferencia, la descripción proporciona una secuencia de ácido nucleico que comprende o codifica para:

- 50 a) una región codificante, que codifica para al menos un péptido o proteína;
- b) al menos un tallo-bucle de histona, y
- c) una secuencia poli(A) o una señal de poliadenilación;

55 donde dicho péptido o proteína comprende un antígeno patogénico o un fragmento, variante o derivado del mismo, en particular un antígeno proveniente de un patógeno asociado a una enfermedad infecciosa, de preferencia asociado a una enfermedad infecciosa que es una infección bacteriana, una infección viral, una infección por protozoarios, un infección por hongos o similar, con mayor preferencia donde el antígeno patogénico se puede derivar de patógenos seleccionados del virus de influenza, virus sincitial respiratorio

(RSV), Virus de herpes simplex (HSV), virus de papiloma humano (HPV), Virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), Plasmodium, Staphylococcus aureus, virus del dengue, Chlamydia trachomatis, Cytomegalovirus (CMV), virus de Hepatitis B (HBV), tuberculosis Mycobacterium, virus de la rabia y el Virus de fiebre amarilla, incluso con mayor preferencia el antígeno se selecciona de la proteína de replicación de E1, proteína reguladora E2, proteína E3, proteína E4, proteína E5, proteína E6, proteína E7, proteína E8, proteína con cápside mayor L1, proteína con cápside menor L2 si la enfermedad infecciosa es infección por papilomavirus humano (HPV); de preferencia una infección con papilomavirus humano (HPV). La descripción proporciona además una composición o kit o un kit de partes que comprende al menos una de estas secuencias de ácidos nucleicos. Además, la descripción proporciona el uso de esta secuencia de ácido nucleico como medicamento, de preferencia para el tratamiento de enfermedades infecciosas, con mayor preferencia en una composición farmacéutica para el tratamiento de enfermedades infecciosas que comprende además un portador farmacéuticamente aceptable. Además, la descripción proporciona un método para aumentar la expresión de un péptido o proteína codificado que comprende los pasos de proporcionar esta secuencia de ácido nucleico o una composición que contenga esta secuencia de ácido nucleico y aplicar o administrar la secuencia de ácido nucleico o la composición a un sistema de expresión libre de células, a una célula, a un tejido o a un organismo.

Además con preferencia, la descripción proporciona una secuencia de ácido nucleico que comprende o codifica para:

- a) una región codificante, que codifica para al menos un péptido o proteína;
- b) al menos un tallo-bucle de histona, y
- c) una secuencia poli(A) o una señal de poliadenilación;

donde dicho péptido o proteína comprende un antígeno patogénico o un fragmento, variante o derivado del mismo, en particular un antígeno proveniente de un patógeno asociado a una enfermedad infecciosa, de preferencia asociada a una enfermedad infecciosa que es una infección bacteriana, una infección viral, una infección por protozoarios, un infección por hongos o similar, con mayor preferencia donde el antígeno patogénico se puede derivar de patógenos seleccionados del virus de influenza, virus sincitial respiratorio (RSV), virus del herpes simplex (HSV), virus del papiloma humano (VPH), virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), Plasmodium, Staphylococcus aureus, virus del dengue, Chlamydia trachomatis, citomegalovirus (CMV), virus de la hepatitis B (HBV), tuberculosis Mycobacterium, virus de la rabia y virus de la fiebre amarilla, incluso con mayor preferencia el antígeno se selecciona de proteína de fusión F, hemaglutinina-neuramidasa HN, glucoproteína G, proteína de matriz M, fosfoproteína P, nucleoproteína N, polimerasa L si la enfermedad infecciosa es una infección por el virus de la parainfluenza, preferentemente una infección por el virus de la parainfluenza humana (HPIV). La descripción proporciona además una composición o kit o un kit de partes que comprende al menos una de estas secuencias de ácidos nucleicos. Además, la descripción proporciona el uso de esta secuencia de ácido nucleico como medicamento, de preferencia para el tratamiento de enfermedades infecciosas, con mayor preferencia en una composición farmacéutica para el tratamiento de enfermedades infecciosas que comprende además un portador farmacéuticamente aceptable. Además, la descripción proporciona un método para aumentar la expresión de un péptido o proteína codificado que comprende los pasos de proporcionar esta secuencia de ácido nucleico o una composición que contenga esta secuencia de ácido nucleico y aplicar o administrar la secuencia de ácido nucleico o la composición a un sistema de expresión libre de células, a una célula, a un tejido o a un organismo.

Además con preferencia, la descripción proporciona una secuencia de ácido nucleico que comprende o codifica para:

- a) una región codificante, que codifica para al menos un péptido o proteína;
- b) al menos un tallo-bucle de histona, y
- c) una secuencia poli(A) o una señal de poliadenilación;

donde dicho péptido o proteína comprende un antígeno patogénico o un fragmento, variante o derivado del mismo, en particular un antígeno proveniente de un patógeno asociado a una enfermedad infecciosa, con preferencia asociado a una enfermedad infecciosa que es una infección bacteriana, una infección viral, una infección por protozoarios, un infección por hongos o similar, con mayor preferencia donde el antígeno patogénico se puede derivar de patógenos seleccionados del virus de influenza, virus sincitial respiratorio (RSV), virus del herpes simplex (HSV), virus del papiloma humano (VPH), virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), Plasmodium, Staphylococcus aureus, virus del dengue, Chlamydia trachomatis, citomegalovirus (CMV), virus de la hepatitis B (HBV), tuberculosis Mycobacterium, virus de la rabia y virus de la fiebre amarilla, incluso con mayor preferencia el antígeno se selecciona de hemaglutinina (HA), neuraminidasa (NA), nucleoproteína (NP), proteína M1, proteína M2, proteína NS1, proteína NS2 (proteína NEP: proteína de exportación nuclear), proteína PA, proteína PB1 (proteína de polimerasa básica 1), proteína PB1-F2 y proteína PB2 (familia Ortomixoviridae, virus de Influenza (gripe)); nucleoproteína N, proteína estructural grande L, fosfoproteína P, proteína de matriz M, glucoproteína G si la enfermedad infecciosa es la rabia, de preferencia una infección con

5 el virus de la rabia; con mayor preferencia el antígeno se deriva de un virus de la Orthomyxoviridae, de mayor preferencia de un virus de influenza, con total preferencia de hemaglutinina (HA), neuraminidasa (NA), nucleoproteína (NP), uno o ambas de las proteínas de matriz (M1) y (M2), proteínas de la polimerasa (PB1), (PB2) y las proteínas NS1 y NS2. La descripción proporciona además una composición o kit o un kit de partes que comprende al menos una de estas secuencias de ácidos nucleicos. Además, la descripción proporciona el uso de esta secuencia de ácido nucleico como medicamento, de preferencia para el tratamiento de enfermedades infecciosas, con mayor preferencia en una composición farmacéutica para el tratamiento de enfermedades infecciosas que comprende además un portador farmacéuticamente aceptable. Además, la descripción proporciona un método para aumentar la expresión de un péptido o proteína codificado que comprende los pasos de proporcionar esta secuencia de ácido nucleico o una composición que contenga esta secuencia de ácido nucleico y aplicar o administrar la secuencia de ácido nucleico o la composición a un sistema de expresión libre de células, a una célula, a un tejido o a un organismo.

Además con preferencia, la descripción proporciona una secuencia de ácido nucleico que comprende o codifica para:

- 15 a) una región codificante, que codifica para al menos un péptido o proteína;
 b) al menos un tallo-bucle de histona, y
 c) una secuencia poli(A) o una señal de poliadenilación;

20 donde el péptido o proteína comprende un antígeno patogénico o un fragmento, variante o derivado del mismo, en particular un antígeno proveniente de un patógeno asociado a una enfermedad infecciosa, con preferencia asociado a una enfermedad infecciosa que es una infección bacteriana, una infección viral, una infección por protozoarios, un infección por hongos o similar, de mayor preferencia donde el antígeno patogénico se puede derivar de patógenos seleccionados del virus de influenza, virus sincitial respiratorio (RSV), virus del herpes simplex (HSV), virus del papiloma humano (VPH), virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), Plasmodium, Staphylococcus aureus, virus del dengue, Chlamydia trachomatis, citomegalovirus (CMV), virus de la hepatitis B (HBV), tuberculosis Mycobacterium, virus de la rabia y virus de la fiebre amarilla, incluso con mayor preferencia el antígeno se selecciona de proteína de fusión F, nucleoproteína N, proteína de matriz M, proteína de matriz M2-1, proteína de matriz M2-2, fosfoproteína P, proteína hidrofóbica pequeña SH, glucoproteína G de superficie mayor, polimerasa L, proteína 1 no estructural NS1, proteína 2 no estructural NS2 si la enfermedad infecciosa es la infección del virus sincitial respiratorio, de preferencia una infección con virus sincitial respiratorio (RSV).

Además con preferencia, la descripción proporciona una secuencia de ácido nucleico que comprende o codifica para:

- 35 a) una región codificante, que codifica para al menos un péptido o proteína;
 b) al menos un tallo-bucle de histona, y
 c) una secuencia poli(A) o una señal de poliadenilación;

40 donde dicho péptido o proteína comprende un antígeno patogénico o un fragmento, variante o derivado del mismo, en particular un antígeno proveniente de un patógeno asociado a una enfermedad infecciosa, de preferencia asociado a una enfermedad infecciosa que es una infección bacteriana, una infección viral, una infección por protozoarios, un infección por hongos o similar, con mayor preferencia donde el antígeno patogénico se puede derivar de patógenos seleccionados del virus de influenza, virus sincitial respiratorio (RSV), virus del herpes simplex (HSV), virus del papiloma humano (VPH), virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), Plasmodium, Staphylococcus aureus, virus del dengue, Chlamydia trachomatis, citomegalovirus (CMV), virus de la hepatitis B (HBV), tuberculosis Mycobacterium, virus de la rabia y virus de la fiebre amarilla, incluso con mayor preferencia el antígeno se selecciona de antígeno secretorio SssA (Staphylococcus genus; envenenamiento de alimentos por estafilococo) antígeno secretorio SssA (Staphylococcus genus; por ejemplo, infección por aureus, Staphylococcal); chaperona molecular DnaK, lipoproteína Mpt83 de superficie celular, lipoproteína P23, proteína permeasa pstA del sistema de transporte de fosfato, antígeno de 14 kDa, proteína C de unión a fibronectina FbpC1, alanina deshidrogenasa TB43, glutamina sintetasa 1, proteína ESX-1, proteína CFP10, proteína TB10.4, proteína MPT83, proteína MTB12, proteína MTB8, proteínas similares a Rpf, proteína MTB32, proteína MTB39, cristalina, proteína de choque térmico HSP65, proteína PST-S si la enfermedad infecciosa es tuberculosis, de preferencia una infección con Mycobacterium tuberculosis. La descripción proporciona además una composición o kit o un kit de partes que comprende al menos una de estas secuencias de ácidos nucleicos. Además, la descripción proporciona el uso de esta secuencia de ácido nucleico como medicamento, de preferencia para el tratamiento de enfermedades infecciosas, con mayor preferencia en una composición farmacéutica para el tratamiento de enfermedades infecciosas que comprende además un portador farmacéuticamente aceptable. Además, la descripción proporciona un método para aumentar la expresión de un péptido o proteína codificado que comprende los pasos de proporcionar esta secuencia de ácido nucleico o una composición que contenga esta secuencia de ácido nucleico y aplicar o

administrar la secuencia de ácido nucleico o la composición a un sistema de expresión libre de células, a una célula, a un tejido o a un organismo.

Además con preferencia, la descripción proporciona una secuencia de ácido nucleico que comprende o codifica para:

- 5 a) una región codificante, que codifica para al menos un péptido o proteína;
- b) al menos un tallo-bucle de histona, y
- c) una secuencia poli(A) o una señal de poliadenilación;

10 donde dicho péptido o proteína comprende un antígeno patogénico o un fragmento, variante o derivado del mismo, en particular un antígeno proveniente de un patógeno asociado a una enfermedad infecciosa, con preferencia asociado a una enfermedad infecciosa que es una infección bacteriana, una infección viral, una infección por protozoarios, un infección por hongos o similar, con mayor preferencia donde el antígeno patogénico se puede derivar de patógenos seleccionados del virus de influenza, el virus sincitial respiratorio (RSV), virus del herpes simplex (HSV), virus del papiloma humano (VPH), virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), Plasmodium, Staphylococcus aureus, virus del dengue, Chlamydia trachomatis, citomegalovirus (CMV), virus de la hepatitis B (HBV), tuberculosis Mycobacterium, virus de la rabia y virus de la fiebre amarilla, incluso con mayor preferencia el antígeno se selecciona de poliproteína genómica, proteína E, proteína M, proteína C con cápside, proteasa NS3, proteína NS1, proteína NS2A, proteína AS2B, proteína NS4A, proteína NS4B, proteína NS5, si la enfermedad infecciosa es la fiebre amarilla, de preferencia una infección por el virus de fiebre amarilla. La descripción proporciona además una composición o kit o un kit de partes que comprende al menos una de estas secuencias de ácidos nucleicos. Además, la descripción proporciona el uso de esta secuencia de ácido nucleico como medicamento, de preferencia para el tratamiento de enfermedades infecciosas, con mayor preferencia en una composición farmacéutica para el tratamiento de enfermedades infecciosas que comprende además un portador farmacéuticamente aceptable. Además, la descripción proporciona un método para aumentar la expresión de un péptido o proteína codificado que comprende los pasos de proporcionar esta secuencia de ácido nucleico o una composición que contenga esta secuencia de ácido nucleico y aplicar o administrar la secuencia de ácido nucleico o la composición a un sistema de expresión libre de células, a una célula, a un tejido o a un organismo.

25 En la presente invención, si no se indica de otra manera, las diferentes características de las alternativas y realizaciones se pueden combinar entre sí. Además, el término “que comprende” no se debe interpretar con el significado de “que consiste en”, si no se menciona específicamente. Sin embargo, en el contexto de la presente invención, el término “que comprende” se puede sustituir con el término “que consiste en”, cuando sea adecuado.

FIGURAS

35 Las siguientes figuras pretenden ilustrar la invención adicionalmente reflejando realizaciones reivindicadas y no reivindicadas y no se deben interpretar como limitantes de la presente invención.

Figura 1: muestra la secuencia consenso tallo-bucle de histona generada a partir de secuencias tallo-bucle de metazoarios y protozoarios (según se reporta por Dávila López, M., & Samuelsson, T. (2008), *RNA* (New York, N.Y.), 14(1), 1-10. doi:10.1261/rna.782308). Se alinearon 4001 secuencias tallo-bucle de histona provenientes de metazoarios y protozoarios y se indica el número de nucleótidos existentes para cada posición en la secuencia del tallo-bucle. La secuencia consenso generada que representa todos los nucleótidos presentes en las secuencias analizadas se proporciona utilizando el código de nucleótidos de una sola letra. Además de la secuencia consenso, se muestran secuencias que muestran al menos el 99%, 95% y 90% de los nucleótidos presentes en las secuencias analizadas.

45 Figura 2: muestra la secuencia consenso tallo-bucle de histona generada a partir de secuencias del tallo-bucle de protozoarios (según se reporta por Dávila López, M., & Samuelsson, T. (2008), *RNA* (New York, N.Y.), 14(1), 1-10. doi:10.1261/rna.782308). Se alinearon 131 secuencias del tallo-bucle de histonas provenientes de protozoarios y se indica el número de nucleótidos presentes para cada posición en la secuencia del tallo-bucle. La secuencia consenso generada que representa todos los nucleótidos presentes en las secuencias analizadas se proporciona utilizando el código de nucleótidos de una sola letra. Además de la secuencia consenso, se muestran las secuencias que muestran al menos el 99%, 95% y 90% de los nucleótidos presentes en las secuencias analizadas.

55 Figura 3: muestra la secuencia consenso del tallo-bucle de histona generada a partir de secuencias del tallo-bucle metazoarios (según se reporta por Dávila López, M., & Samuelsson, T. (2008), *RNA* (New York, N.Y.), 14(1), 1-10. doi:10.1261/rna.782308). Se alinearon 3870 secuencias del tallo-bucle de histona de metazoarios y se indica el número de nucleótidos presentes para cada posición en la secuencia del tallo-bucle.

La secuencia consenso generada que representa todos los nucleótidos presentes en las secuencias analizadas se proporciona utilizando el código de nucleótidos de una sola letra. Además de la secuencia consenso, se muestran secuencias que representan al menos el 99%, 95% y 90% de los nucleótidos presentes en las secuencias analizadas.

5 Figura 4: muestra la secuencia consenso del tallo-bucle de histona generada a partir de secuencias del tallo-bucle de vertebrados (según se reporta por Dávila López, M., & Samuelsson, T. (2008), *RNA* (New York, N.Y.), 14(1), 1-10. doi:10.1261/rna.782308). Se alinearon 1333 secuencias del tallo-bucle de histona de vertebrados y se indica el número de nucleótidos presentes para cada posición en la secuencia del tallo-bucle. La secuencia consenso generada que representa todos los nucleótidos presentes en las secuencias analizadas se proporciona utilizando el código de nucleótidos de una sola letra. Además de la secuencia consenso, se muestran secuencias que representan al menos el 99%, 95% y 90% de los nucleótidos presentes en las secuencias analizadas.

15 Figura 5: muestra la secuencia consenso del tallo-bucle de histona generado a partir secuencias del tallo-bucle humana (*Homo sapiens*) (como se informa por Dávila López, M., & Samuelsson, T. (2008), *RNA* (New York, N.Y.), 14(1), 1-10. doi:10.1261/rna.782308). Se alinearon 84 secuencias del tallo-bucle de histona en seres humanos y se indica el número de nucleótidos presentes para cada posición en la secuencia del tallo-bucle. La secuencia consenso generada que representa todos los nucleótidos presentes en las secuencias analizadas se proporciona utilizando el código de nucleótidos de una sola letra. Además de la secuencia consenso, se muestran secuencias que representan al menos el 99%, 95% y 90% de los nucleótidos presentes en las secuencias analizadas.

Figuras 6 a 19: muestran los ARNm de la transcripción *in vitro*. Se proporciona la designación y la secuencia de los ARNm obtenidos mediante transcripción *in vitro*. Se utilizan las siguientes abreviaturas:

ppLuc (GC):	secuencia de ARNm enriquecido con GC que codifica para <i>Photinus pyralis</i> luciferasa
ag:	región no traducida (UTR) 3' del gen alfa-globina
25 A64:	secuencia poli(A) con 64 adenilatos
A120:	secuencia poli(A) 120 adenilatos
histonaSL:	tallo-bucle de histona
aCPSL:	tallo-bucle que se ha seleccionado a partir de la biblioteca para su unión específica de la proteína α CP-2KL
30 PolioCL:	hoja de trébol 5' proveniente de ARN genómico del virus de polio
G30	secuencia poli(G) con 30 guanilatos
U30	secuencia poli(U) con 30 uridilatos
SL	tallo-bucle no específica/artificial
N32	secuencia no específica de 32 nucleótidos

35 Dentro de las secuencias, se resaltan los siguientes elementos: región codificante (ORF) (letras mayúsculas), ag (negrillas), histonaSL (subrayado), secuencias distintas adicionales probadas (cursiva).

Figura 6: muestra la secuencia de ARNm de ppLuc(GC) - ag (SEC ID NO: 43). Por linearización del vector original en el sitio de restricción inmediatamente después del 3'-UTR de alfa-globina (ag), se obtiene el ARNm sin una secuencia poli(A).

40 Figura 7: muestra la secuencia de ARNm de ppLuc(GC) - ag - A64 (SEC ID NO: 44). Por linearización del vector original en el sitio de restricción inmediatamente después de la secuencia poli(A) A64, se obtiene el ARNm que termina con una secuencia poli(A) A64.

Figura 8: muestra la secuencia de ARNm de ppLuc(GC) - ag - histonaSL (SEC ID NO: 45). La secuencia poli(A) A64 se reemplazó por una histonaSL. La secuencia del tallo-bucle de histona utilizada en los ejemplos se obtuvo a partir de Cakmakci *et al.* (2008). *Molecular and Cellular Biology*, 28(3), 1182-1194.

45 Figura 9: muestra la secuencia de ARNm de ppLuc(GC) - ag - A64 - histonaSL (SEC ID NO: 46). La histonaSL se agregó 3' de la poli(A) A64.

Figura 10: muestra la secuencia de ARNm de ppLuc(GC) - ag - A120 (SEC ID NO: 47). La secuencia poli(A) A64 se reemplazó por una secuencia poli(A) A120.

50 Figura 11: muestra la secuencia ARNm de ppLuc(GC) - ag - A64 - ag (SEC ID NO: 48). Una segunda 3'-UTR de alfa-globina se agregó 3' de una poli(A) A64.

Figura 12: muestra la secuencia de ARNm de ppLuc(GC) - ag - A64 - aCPSL (SEC ID NO: 49). Se agregó un tallo-bucle 3' de la poli(A) A64. El tallo-bucle se había seleccionado de una librería para su unión

específica de la proteína α CP-2KL (Thisted *et al.*, (2001), *The Journal of Biological Chemistry*, 276(20), 17484-17496) α CP-2KL es una isoforma de α CP-2, la proteína α CP expresada con mayor fuerza (proteína de unión poli(C) de ARNm de alfa-globina) (Makeyev *et al.*, (2000), *Genomics*, 67(3), 301-316), un grupo de proteínas de unión a ARN que se unen a la 3'-UTR de alfa-globina (Chkheidze *et al.*, (1999), *Molecular and Cellular Biology*, 19(7), 4572-4581).

Figura 13: muestra la secuencia ARNm de ppLuc(GC) – ag – A64 – PolioCL (SEC ID NO: 50). La hoja de trébol 5' proveniente del ARN genómico del virus de Polio se agregó 3' de poli(A) A64.

Figura 14: muestra la secuencia ARNm de ppLuc(GC) – ag – A64 – G30 (SEC ID NO: 51). Se agregó un tramo de 30 guanilatos 3' de la poli(A) A64.

Figura 15: muestra la secuencia ARNm de ppLuc(GC) – ag – A64 – U30 (SEC ID NO: 52). Se anexó un tramo de 30 uridilatos 3' de la poli(A) A64.

Figura 16: muestra la secuencia ARNm de ppLuc(GC) – ag – A64 – SL (SEC ID NO: 53). Se anexó un tallo-bucle 3' de poli(A) A64. La parte superior del tallo y el bucle se tomaron de Babendure *et al.*, (2006), *RNA* (New York, N.Y.), 12(5), 851-861. El tallo-bucle consiste en 17 pares de bases largas, un tallo rico en CG y un bucle largo de 6 bases.

Figura 17: muestra ppLuc(GC) – ag – A64 – N32 (SEC ID NO: 54). Por linearización del vector original en un sitio de restricción alternativo, se obtuvo un ARNm con 32 nucleótidos adicionales después de la poli(A).

Figura 18: muestra la secuencia ARNm de HA (H1N1/PR8) (GC) – ag – A64 – C30 (SEC ID NO: 55).

Figura 19: muestra la secuencia ARNm de HA (H1N1/PR8) (GC) – ag – A64 – C30 - histonaSL (SEC ID NO: 56).

Figura 20: muestra la combinación de poli(A) y los aumentos de histonaSL de la expresión proteínica a partir de un ARNm de una forma sinérgica. Se examinó el efecto de la secuencia poli(A), histonaSL y la combinación de la poli(A) y la histonaSL sobre la expresión de luciferasa a partir del ARNm. Así, células HeLa se sometieron a electroporación con diferentes ARNm. Los niveles de luciferasa se midieron 6, 24 y 48 horas después de la transfección. Se expresa poca luciferasa proveniente del ARNm que no tiene ni una secuencia poli(A) ni una histonaSL. Tanto la secuencia poli(A) como la histonaSL aumentan el nivel de luciferasa. Sin embargo, extraordinariamente, la combinación de poli(A) e histonaSL aumenta además fuertemente el nivel de luciferasa, muchas veces por encima del nivel observado con cualquiera de los elementos individuales, actuando así sinérgicamente. Los datos se muestran como media RLU \pm SD (unidades de luz relativas \pm desviación estándar) para transfecciones por triplicado. En el ejemplo 11.2 se resumen los RLU específicos.

Figura 21: muestra que la combinación de poli(A) y la histonaSL aumenta la expresión proteínica a partir del ARNm independientemente de su orden. Se examinó el efecto de la secuencia poli(A), la histonaSL, la combinación de poli(A) y la histonaSL, y su orden por la expresión de luciferasa a partir del ARNm. Así, se lipofectaron diferentes ARNm en células HeLa. Los niveles de luciferasa se midieron 6, 24 y 48 horas después del inicio de la transfección. Tanto la secuencia poli(A) A64 o la histonaSL dieron lugar a niveles comparables de luciferasa. Aumentar la longitud de la secuencia poli(A) de A64 hasta A120 o hasta A300 aumenta el nivel de luciferasa moderadamente. Por el contrario, la combinación de poli(A) y la histonaSL aumenta el nivel de luciferasa mucho más que el alargamiento de la secuencia poli(A). La combinación de poli(A) e histonaSL actúa sinérgicamente, ya que aumenta el nivel de luciferasa muchas veces por encima del nivel observado con cualquiera de los elementos individuales. Se observa el nivel sinérgico de la combinación de poli(A) e histonaSL independientemente del orden de la poli(A) y la histonaSL e independientemente de la longitud de la poli(A) con el ARNm de A64-histonaSL o histonaSL-A250. Los datos se muestran como media RLU \pm SD para transfecciones por triplicado. En el ejemplo 11.3 se resumen los RLU específicos.

Figura 22: muestra que el aumento en la expresión proteínica mediante la combinación de poli(A) y la histonaSL es específico. Se examinó el efecto de combinar la poli(A) y la histonaSL o la poli(A) y secuencias alternativas sobre la expresión de luciferasa a partir de un ARNm. Así, se sometieron a electroporación diferentes ARNm en células HeLa. Se midieron los niveles de luciferasa 6, 24, y 48 horas después de la transfección. Tanto la secuencia poli(A) o la histonaSL dieron lugar a niveles comparables de luciferasa. La combinación de poli(A) y la histonaSL aumenta en gran medida el nivel de luciferasa, muchas veces por encima del observado con cualquiera de los elementos individuales, actuando así sinérgicamente. Por el contrario, combinar la poli(A) con cualquiera de las otras secuencias no tiene efecto sobre el nivel de luciferasa en comparación con el ARNm que contiene sólo una secuencia poli(A). De esta forma, la combinación de la poli(A) y la histonaSL actúa específica sinérgicamente. Los datos se muestran como media RLU \pm SD para transfecciones por triplicado. En el ejemplo 11.4 se resumen los RLU específicos.

Figura 23: muestra que la combinación de la poli(A) y la histonaSL aumenta la expresión proteínica a partir del ARNm de una manera sinérgica *in vivo*. Se examinó el efecto de la secuencia poli(A), la histonaSL y la combinación de la poli(A) y la histonaSL sobre la expresión de luciferasa a partir del ARNm *in vivo*. Así, se inyectaron intradérmicamente diferentes ARNm en ratones. Los ratones se sacrificaron 16 horas después de la inyección y se midieron los niveles de luciferasa en los sitios de inyección. La luciferasa se expresa a partir de un ARNm que tiene ya sea una histonaSL o una secuencia poli(A). Sin embargo, asombrosamente la combinación de poli(A) e histonaSL aumenta fuertemente el nivel de luciferasa, muchas veces por encima del nivel observado con cualquiera de los elementos individuales, actuando así sinérgicamente. Los datos se muestran como media RLU \pm SEM (unidades de luz relativa \pm error estándar de la media). En el ejemplo 11.5 se resumen los RLU específicos.

Figura 24: muestra que la combinación de la poli(A) y la histonaSL aumenta el nivel de anticuerpos producidos por la vacunación con un ARNm. Se examinó el efecto de la secuencia poli(A) y la combinación de la poli(A) y la histonaSL sobre la inducción de anticuerpos anti-HA producidos por la vacunación con un ARNm. Así, ratones Balb/c se vacunaron intradérmicamente con diferentes ARNm. El nivel de anticuerpos HA-específicos en ratones vacunados y de control se analizó mediante ELISA con diluciones en serie de sueros. El IgG1 anti-HA se indujo mediante ARNm que tiene sólo una secuencia poli(A). Sin embargo, sorprendentemente, la combinación de poli(A) e histonaSL aumenta fuertemente el nivel de IgG1 anti-HA, por encima del nivel observado con sólo una secuencia poli(A).

Ejemplos

Los siguientes ejemplos se incluyen para ilustrar adicionalmente la invención en base a realizaciones reivindicadas y no reivindicadas y no se deben interpretar como limitantes de la presente invención.

1. Generación de secuencias consenso de tallo-bucle de histonas

Antes de los experimentos, se determinaron las secuencias consenso del tallo-bucle de histonas en base a secuencias tallo-bucle de histonas de metazoarios y protozoarios. Las secuencias se tomaron del suplemento proporcionado por Lopez *et al.* (Dávila López, M., & Samuelsson, T. (2008), RNA (New York, N.Y.), 14(1), 1-10. doi:10.1261/rna.782308), quienes identificaron un gran número de secuencias del tallo-bucle de histonas naturales mediante la búsqueda de secuencias genómicas y etiquetas de secuencias expresadas. En primer lugar, todas las secuencias provenientes de metazoarios y protozoarios (4001 secuencias), o todas las secuencias provenientes de protozoarios (131 secuencias) o, alternativamente, de metazoarios (3870 secuencias), o de vertebrados (1333 secuencias) o de humanos (84 secuencias) se agruparon y alinearon. Después, se determinó la cantidad de los nucleótidos presentes para cada posición. Con base en las tablas así obtenidas, se generaron secuencias consenso para los 5 diferentes grupos de secuencias representando todos los nucleótidos presentes en las secuencias analizadas. Además, también se obtuvieron secuencias consenso restrictivas, enfatizando cada vez más los nucleótidos conservados.

2. Preparación de plantillas de ADN

Se construyó un vector para la transcripción *in vitro* que contenía un promotor T7 seguido por una secuencia enriquecida con GC que codifica para *Photinus pyralis* luciferasa (ppLuc(GQ), la parte central de la región no traducida 3' (UTR) de alfa-globina (AG) y una secuencia poli(A). La secuencia de poli(A) estaba seguida inmediatamente por un sitio de restricción utilizado para la linearización del vector antes de la transcripción *in vitro* para obtener el ARNm terminado en una secuencia poli(A) A64. El ARNm así obtenido de este vector mediante transcripción *in vitro* se denominó "ppLuc(GC) - ag - A64".

La linearización de este vector en los sitios de restricción alternativos antes de la transcripción *in vitro* permitió tener un ARNm ya sea extendido mediante nucleótidos adicionales 3' de A64 o que carecen de A64. Además, el vector original se modificó para incluir secuencias alternativas. En resumen, se obtuvieron los siguientes ARNm a partir de estos vectores mediante transcripción *in vitro* (en las figuras 6, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16 y 17 se proporcionan las secuencias de ARNm):

	ppLuc(GC) - ag	(SEC ID NO: 43)
	ppLuc(GC) - ag - A64	(SEC ID NO: 44)
	ppLuc(GC) - ag - histonaSL	(SEC ID NO: 45)
50	ppLuc(GC) - ag - A64 - histonaSL	(SEC ID NO: 46)
	ppLuc(GC) - ag - A120	(SEC ID NO: 47)
	ppLuc(GC) - ag - A64 - ag	(SEC ID NO: 48)
	ppLuc(GC) - ag - A64 - aCPSL	(SEC ID NO: 49)

	ppLuc(GC) – ag – A64 – PolioCL	(SEC ID NO: 50)
	ppLuc(GC) – ag – A64 – G30	(SEC ID NO: 51)
	ppLuc(GC) – ag – A64 – U30	(SEC ID NO: 52)
5	ppLuc(GC) – ag – A64 – SL	(SEC ID NO: 53)
	ppLuc(GC) – ag – A64 – N32	(SEC ID NO: 54)

Además, se prepararon como se describió anteriormente secuencias de plásmido de ADN que codifican para el antígeno patogénico HA (H1 N1/PR8).

En resumen, se obtuvieron los siguientes ARNm de estos vectores mediante transcripción *in vitro* (en las figuras 18 y 19 se proporciona las secuencias de ARN):

10	HA (H1N1/PR8) (GC) – ag – A64 – C30	(SEC ID NO: 55)
	HA (H1N1/PR8) (GC) – ag – A64 – C30 - histonaSL	(SEC ID NO: 56)

3. Transcripción *in vitro*

La plantilla de ADN de acuerdo con el Ejemplo 2 se linearizó y se transcribió *in vitro* utilizando T7 polimerasa. La plantilla de ADN luego se digirió mediante tratamiento con ADNasa. Todas las transcripciones de ARNm contenían una estructura 5'-CAP obtenida por adición de un exceso de N7-metil-guanosin-5'-trifosfato-5'-guanosina a la reacción de transcripción. El ARNm así obtenido se purificó y sesuspendió en agua.

4. Adenilación enzimática del ARNm

Dos ARNm se sometieron a adenilación enzimáticamente:

ppLuc(GC) - ag - A64 y ppLuc(GC) - ag - histonaSL.

Para ello, el ARN se incubó con *E. coli* poli(A)-polimerasa y ATP (Poli(A) Polimerase Tailing Kit, Epicentre, Madison, USA) siguiendo las instrucciones del fabricante. El ARNm con la secuencia poli(A) extendida se purificó y sesuspendió en agua. La longitud de la secuencia poli(A) se determinó vía electroforesis en gel de agarosa. Los ARNm de partida se extendieron en aproximadamente 250 adenilatos, los ARNm obtenidos se denominaron ppLuc(GC) - ag - A300 y ppLuc(GC) - ag - histonaSL - A250, respectivamente.

5. Expresión de luciferasa mediante electroporación de ARNm

Se trataron con tripsina células HeLa y se lavaron en opti-MEM. 1×10^5 células en 200 μ l de opti-MEM cada una se sometieron a electroporación con 0,5 μ g de ARNm que codifica para ppLuc. Como control, se sometió a electroporación por separado un ARNm no codificante para ppLuc. Las células sometidas a electroporación se sembraron en placas de 24 pocillos en 1 ml de medio RPMI 1640. 6, 24 ó 48 horas después de la transfección, el medio se aspiró y las células se lisaron en 200 μ l de tampón de lisis (Tris 25 mM, pH 7.5 (HCl), EDTA 2 mM, 10% de glicerol, 1% de Triton X-100, DTT 2 mM, PMSF 1 mM). Los lisados se almacenaron a -20°C hasta que se midió la actividad de ppLuc.

6. Expresión de luciferasa mediante lipofección de ARNm

Células HeLa se sembraron en placas de 96 pocillos a una densidad de 2×10^4 células por pocillo. Al siguiente día, las células se lavaron en Opti-MEM y luego se transfectaron con 0,25 μ g de ARNm que codifican para ppLuc-complejados con lipofectina en 150 μ l de Opti-MEM. Como control, se sometió a lipofección por separado un ARNm no codificante para ppLuc. En algunos pocillos, el Opti-MEM se aspiró y las células se lisaron en 200 μ l de tampón de lisis 6 horas después del inicio de la transfección. En los pocillos restantes, el Opti-MEM se intercambiaba por medio RPMI 1640 en ese momento. En estos pocillos, el medio se aspiró y las células se lisaron en 200 μ l de tampón de lisis 24 ó 48 horas después del inicio de la transfección. Los lisados se almacenaron a -20°C hasta que se midió la actividad de ppLuc.

7. Medición de luciferasa

La actividad ppLuc se midió como unidades de luz relativa (RLU) en un lector de placas BioTek SynergyHT a un tiempo de medición de 5 segundos utilizando 50 μ l del lisado y 200 μ l de tampón de luciferina (Glicilglicina 25 mM, pH 7.8 (NaOH), MgSO₄ 15 mM, ATP 2 mM, luciferina 75 μ M). Se calcularon los RLU específicos al restar el RLU del ARN control del RLU totales.

8. Expresión de luciferasa mediante inyección de ARNm intradérmico (expresión de luciferasa *in vivo*)

Se anestesiaron ratones con una mezcla Rompun y Ketavet. Cada ARNm que codifica para ppLuc se inyectó intradérmicamente (0,5 µg de ARNm en 50 µl por inyección). Como control, se inyectó por separado ARNm no codificante para ppLuc. 16 horas después de la inyección, los ratones se sacrificaron y se recogieron los tejidos. Las muestras de tejido se congelaron instantáneamente en nitrógeno líquido y se lisaron en un lisador de tejido (Qiagen) en 800 µl de tampón de lisis (Tris 25 mM, pH 7.5 (HCl), EDTA 2 mM, glicerol al 10%, Triton X-100 al 1%, DTT 2 mM, PMSF 1 mM). Posteriormente las muestras se sometieron a centrifugación a 13.500 rpm a 4°C durante 10 minutos. Los lisados se almacenaron a -80°C hasta que se midió la actividad de ppLuc (véase 7. Medición de luciferasa).

9. Detección de una respuesta inmune a linfocitos B antígeno-específica (anticuerpos)

Ratones BALB/c (8 ratones por grupo) se vacunaron dos veces en 7 días intradérmicamente con una vacuna que comprendía 10 µg de ARNm que codifica para HA (hemaglutinina de A/Puerto Rico/8/34, de acuerdo con la SEC ID NO: 55 y 56). Para el control negativo, los ratones se trataron un tampón.

La detección de una respuesta inmune antígeno-específica se llevó detectando los anticuerpos proteína-específicos HA. Así, se extrajeron muestras sanguíneas de ratones vacunados cuatro semanas después de la última vacunación y se prepararon los sueros. Placas MaxiSorp® (Nalgene Nunc International) se recubrieron con proteína HA (Charles River Laboratories). Después de bloquear con 1xPBS que contenía 0,05% de Tween-20 y 1% de BSA, las placas se incubaron con suero diluido de ratón (1:50). Posteriormente se agregó un anticuerpo secundario acoplado con biotina (anti-mouse-IgG Dianova, cat. #115035003). Después de lavar, la placa se incubó con peroxidasa estreptavidina de rábano picante y posteriormente se midió la conversión del sustrato ABTS (ácido 2,2'-azino-bis(3-etil-benzotiazolin-6-sulfónico). En la figura 24, se muestran los resultados de este experimento.

10. Detección de una respuesta inmune celular antígeno-específica (respuesta inmune a células T) mediante ELISPOT

Ratones C57BL/6 se vacunaron intradérmicamente con ARNm que codifica para HA (hemaglutinina de A/Puerto Rico/8/34, de acuerdo con la SEC ID NO: 55 y 56) complejada con protamina (2 veces en 7 días). Los ratones control se trataron con tampón. 1 semana después de la vacunación los ratones se sacrificaron, se retiraron los bazo y se aislaron los esplenocitos. Los esplenocitos se volvieron a estimular durante 7 días en presencia de los péptidos provenientes del antígeno anterior (biblioteca de péptidos) o se co-incubaron con células dendríticas generadas a partir de células de médula ósea de ratones singénicos naturales, que se sometieron a electroporación con un ARNm que codifica para el antígeno. Para determinar una respuesta inmune celular antígeno-específica, se midió la secreción INFgamma después de la re-estimulación. Para la detección de INFgamma, una placa de multi-selección recubierta (Millipore) se incubó durante la noche con tampón de recubrimiento de carbonato-bicarbonato 0,1 M, pH 9,6, 10,59 g/l de Na₂CO₃, 8,4 g/l de NaHCO₃) que comprende el anticuerpo contra IFNγ (BD Pharmingen, Heidelberg, Alemania). Se incubaron estimuladores y células efectoras conjuntamente en la placa en la proporción de 1:20 durante 24 h. La placa se lavó con 1 x PBS y se incubó con un anticuerpo secundario acoplado con biotina. Después del lavado con 1 x PBS/0.05% de Tween-20 al sustrato (5-bromo-4-cloro-3-indolyl fosfato/Nitro Blue Tetrazolium Liquid Substrate System de Sigma Aldrich, Taufkirchen, Alemania) se agregó a la placa y se podría detectar visualmente la conversión del sustrato.

RESULTADOS

11.1 Secuencias tallo-bucle de histona

Para caracterizar las secuencias del tallo-bucle de histonas, se agruparon y alinearon las secuencias provenientes de metazoarios y protozoarios (4001 secuencias), o de protozoarios (131 secuencias) o alternativamente de metazoarios (3870 secuencias), o de vertebrados (1333 secuencias) o de humanos (84 secuencias). Luego, la cantidad de nucleótidos presentes se determinó para cada posición. Con base de las tablas así obtenidas, se generaron las secuencias consenso para los 5 diferentes grupos de secuencias representando todos los nucleótidos presentes en las secuencias analizadas. Dentro de la secuencia consenso de metazoarios y protozoarios combinados, se conservaron 3 nucleótidos, uno T/U en el asa y un G y un C en el tallo, formando un par de bases. Estructuralmente, típicamente se formó un tallo de 6 pares de bases y un asa de 4 nucleótidos. Sin embargo, son comunes estructuras de desviación: de 84 tallos*-bucle de histona humanas, dos contenían un tallo de sólo 5 nucleótidos que comprende 4 pares de bases y un mal apareamiento.

5 Otro tallo-bucle de histonas humanas contenía un tallo de sólo 5 pares de bases. Cuatro más tallos-bucle de histonas humanas contenían un tallo de 6 nucleótidos de largo, aunque incluían un mal apareamiento en tres posiciones diferentes, respectivamente. Además, cuatro tallos-bucle de histonas humanas contenían un par de bases inestables en dos posiciones diferentes, respectivamente. Con relación al bucle, una longitud de 4 nucleótidos parece no ser estrictamente necesaria, ya que un nucle de 5 nucleótidos se ha identificado en *D. discoideum*.

Además de las secuencias consenso que representan todos los nucleótidos presentes en las secuencias analizadas, también se obtuvieron más secuencias consenso restrictivas, enfatizando cada vez más los nucleótidos conservados. En resumen, se obtuvieron las siguientes secuencias:

- 10 (Cons): representa todos los nucleótidos presentes
(99%): representa al menos el 99% de todos los nucleótidos presentes
(95%): representa al menos el 95% de todos los nucleótidos presentes
(90%): representa al menos el 90% de todos los nucleótidos presentes

15 Los resultados de los análisis de las secuencias del tallo-bucle de histona se resumen en las siguientes Tablas 1 a 5 (véanse también las figuras 1, 2, 3, 4 y 5):

Tabla 1: Secuencia consenso del tallo-bucle de histonas de metazoarios y protozoarios: (con base en una alineación de 4001 secuencias del tallo-bucle de histonas de metazoarios y protozoarios) (véase también la figura 1)

# A	222 4	158 6	307 5	287 2	128 4	<	<	<	<	<	<	<	<	<	<	<	<	<	>	>	>	>	372 7	61	771	201 2	249 9
# T	172 7	188 1	47 8	205 5	19 5	6	162 0	394 7	383 0	370 4	400 1	182	1	21	15	11	0	179	8	64	557	201	690				
# C	155 7	221 1	875 1	918 5	267 5	270	339 4	234 2	378 3	51	119	227	0	314 0	7	50	31	16	400 1	354 3	154 0	387 0	263 6	174 4	674		
# G	25	16	4	6	23	354 1	400 1	25	27	10	2	5	11	0	4	175 5	373 9	235 1	345 1	0	265	112	4	37	43	138	
Cons	N*	N*	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	T	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N*	N*	N*
99%	H*	H*	H	H	V	V	G	Y	Y	Y	Y	H	H	T	H	R	V	R	C	B	V	H	H*	H*	N*	N*	
95%	M*	M*	M	M	M	S	G	Y	Y	Y	T	T	Y	T	M	A	R	R	C	S	M	C	H*	H*	H*	H*	
90%	M*	M*	M	M	M	S	G	Y	Y	Y	T	T	T	T	M	A	G	R	R	C	A	C	H*	H*	M*	H*	

H	A o C o T/U	Sin G
B	G o T/U o C	Sin A
V	G o C o A	Sin T/U
D	G o A o T/U	Sin C
N	G o C o T/U o A	Cualquier base
*	Presente o no	La base puede estar presente o no

11.2 La combinación de la poli(A) y la histonaSL aumenta la expresión proteica de un ARNm de forma sinérgica

- 5 Para investigar el efecto de la combinación de la poli(A) y la histonaSL sobre la expresión proteica a partir de un ARNm, se sintetizaron ARNm con diferentes secuencias 3' de 3'-UTR de alfa-globina: ARNm terminado solo en 3' del 3'-UTR, careciendo así de la secuencia poli(A) como de la histonaSL, o conteniendo ya sea una secuencia poli(A) A64 o una histonaSL en su lugar, o conteniendo tanto la poli(A) A64 como la histonaSL 3' de la 3'-UTR. Los ARNm que codifican para luciferasa o el ARNm control se sometieron a electroporación en células HeLa. Se midieron los niveles de luciferasa 6, 24, y 48 horas después de la transfección (véase la
- 10 siguiente Tabla 6 y la figura 20).

Tabla 6

ARNm	RLU 6 horas	RLU 24 horas	RLU 48 horas
ppLuc(GC)-ag-A64-histonaSL	466553	375169	70735
ppLuc(GC)-ag-histonaSL	50947	3022	84
ppLuc(GC)-ag-A64	10471	19529	4364
ppLuc(GC)-ag	997	217	42

- 15 Se expresó poca luciferasa a partir de un ARNm sin una secuencia poli(A) ni una histonaSL. Tanto una secuencia poli(A) o la histonaSL aumentaron el nivel de luciferasa a un nivel similar. Cualquier ARNm dio lugar a un nivel de luciferasa mucho mayor de lo que lo hizo el ARNm que carece tanto de la poli(A) como de la histonaSL. Sin embargo, sorprendentemente, la combinación de la poli(A) y la histonaSL aumentaron fuerte y adicionalmente el nivel de luciferasa, muchas veces por encima del nivel observado con cualquiera de los elementos individuales. La magnitud del aumento en el nivel de luciferasa debido a la combinación de la poli(A) y la histonaSL en el mismo ARNm demuestra que están actuando sinérgicamente.
- 20 La sinergia entre la poli(A) y la histonaSL se cuantificó dividiendo la señal proveniente del ARNm de poli(A)-histonaSL (+/+) entre la suma de las señales provenientes del ARNm de la histonaSL (-/+) más el ARNm de poli(A) (+/-) (véase la siguiente Tabla 7).

Tabla 7

	A64	histonaSL	RLU 6 horas	RLU 24 horas	RLU 48 horas
	+	+	466553	375169	70735
	-	+	50947	3022	84
	+	-	10471	19529	4364
Sinergia			7,6	16,6	15,9

- 25 El factor aquí calculado especifica cuánto mayor es el nivel de luciferasa proveniente de la combinación del ARNm de la poli(A) y la histonaSL de lo que se podría esperar si los efectos de la poli(A) y la histonaSL fueran puramente aditivos. El nivel de luciferasa a partir del ARNm que combina la poli(A) y la histonaSL era hasta 16,6 veces mayor que si sus efectos hubieran sido puramente aditivos. Este resultado confirma que la combinación de la poli(A) y la histonaSL provoca un aumento marcadamente sinérgico en la expresión de
- 30 proteínas.

11.3 La combinación de la poli(A) y la histonaSL aumenta la expresión proteica a partir de ARNm independientemente de su orden

El efecto de la combinación de la poli(A) y la histonaSL podría depender de la longitud de la secuencia poli(A) y el orden de la poli(A) y la histonaSL. Así, se sintetizaron ARNm con una longitud de secuencia poli(A) cada vez mayor y un ARNm con la poli(A) y la histonaSL en orden inverso: los dos ARNm contenían 3' de la 3'-UTR y una secuencia poli(A) ya sea A120 o A300. Otro ARNm contenía 3' de la 3'-UTR en primer lugar una histonaSL, seguida por una secuencia poli(A) A250. Los ARNm que codifican para luciferasa o el ARNm control se sometieron a lipofección en células HeLa. Se midieron los niveles de luciferasa 6, 24, y 48 horas después del inicio de la transfección (véase la siguiente Tabla 8 y la figura 21).

10

Tabla 8

ARNm	RLU 6 horas	RLU 24 horas	RLU 48 horas
ppLuc(GC)-ag-histonaSL-A250	98472	734222	146479
ppLuc(GC)-ag-A64-histonaSL	123674	317343	89579
ppLuc(GC)-ag-histonaSL	7291	4565	916
ppLuc(GC)-ag-A300	4357	38560	11829
ppLuc(GC)-ag-A120	4371	45929	10142
ppLuc(GC)-ag-A64	1928	26781	537

15

Tanto la secuencia poli(A) A64 o la histonaSL dieron lugar a niveles comparables de luciferasa. De acuerdo con el experimento anterior, la combinación de A64 y la histonaSL aumentó fuertemente el nivel de luciferasa, muchas veces por encima del nivel observado con cualquiera de los elementos individuales. La magnitud del aumento en el nivel de luciferasa debido a la combinación de la poli(A) y la histonaSL en el mismo ARNm demuestra que están actuando sinérgicamente. La sinergia entre la A64 y la histonaSL se cuantificó como antes, en base a los niveles de luciferasa del ARNm del A64-histonaSL, A64 y la histonaSL (véase la siguiente Tabla 9). El nivel de luciferasa a partir de la combinación del ARNm A64 y la histonaSL era hasta 61,7 veces mayor que si los efectos de la poli(A) y la histonaSL fueran puramente aditivos.

20

Tabla 9

	A64	histonaSL	RLU 6 horas	RLU 24 horas	RLU 48 horas
	+	+	123674	317343	89579
	-	+	7291	4565	916
	+	-	1928	26781	537
Sinergia			13,4	10,1	61,7

25

30

Por el contrario, aumentar la longitud de la secuencia poli(A) de A64 hasta A120 o hasta A300 aumenta el nivel de luciferasa sólo moderadamente (véase la Tabla 8 y la figura 19). El ARNm con la secuencia poli(A) más larga, A300, también se comparó con el ARNm en el cual se combinó una secuencia poli(A) de longitud similar con la histonaSL, la histonaSL-A250. Además de tener una secuencia poli(A) larga, el orden de la histonaSL y la poli(A) se invierte en este ARNm con relación al ARNm de la A64-histonaSL. La combinación de A250 y la histonaSL aumenta fuertemente el nivel de luciferasa, muchas veces por encima del nivel observado con ya sea la histonaSL o A300. Nuevamente, se cuantificó la sinergia entre A250 y la histonaSL como antes en comparación con el RLU proveniente del ARNm de la histonaSL-A250 y el RLU proveniente del ARNm A300 más el ARNm de la histonaSL (véase la siguiente Tabla 10). El nivel de luciferasa a partir del ARNm que combina A250 y la histonaSL era hasta 17,0 veces mayor que si los efectos de la poli(A) y la histonaSL fueran puramente aditivos.

35

Tabla 10

	histonaSL	A250/A300	RLU 6 horas	RLU 24 horas	RLU 48 horas
	+	+	98472	734222	146479
	+	—	7291	4565	916
	—	+	4357	38560	11829
Sinergia			8,5	17,0	11,5

5 En resumen, se ha demostrado un efecto altamente sinérgico de la combinación de la histonaSL y la poli(A) sobre la expresión proteica a partir de ARNm para longitudes sustancialmente diferentes de la poli(A) e independientemente del orden de la poli(A) y la histonaSL.

11.4 El aumento en la expresión proteica mediante la combinación de la poli(A) y la histonaSL es específico

10 Para investigar si el efecto de la combinación de la poli(A) y la histonaSL sobre la expresión proteica a partir del ARNm es específico, se sintetizaron ARNm con secuencias alternativas en combinación con la poli(A): estos ARNm contenían 3' de A64 una de siete secuencias distintas, respectivamente. Los ARNm que codifican para luciferasa o el ARNm control se sometieron a electroporación en células HeLa. Se midieron los niveles de luciferasa 6, 24, y 48 horas después de la transfección (véase la siguiente Tabla 11 y la figura 22).

Tabla 11

ARNm	RLU 6 horas	RLU 24 horas	RLU 48 horas
ppLuc(GC)-ag-A64-N32	33501	38979	2641
ppLuc(GC)-ag-A64-SL	28176	20364	874
ppLuc(GC)-ag-A64-U30	41632	54676	3408
ppLuc(GC)-ag-A64-G30	46763	49210	3382
ppLuc(GC)-ag-A64-PolioCL	46428	26090	1655
ppLuc(GC)-ag-A64-aCPSL	34176	53090	3338
ppLuc(GC)-ag-A64-ag	18534	18194	989
ppLuc(GC)-ag-A64-histonaSL	282677	437543	69292
ppLuc(GC)-ag-histonaSL	27597	3171	0
ppLuc(GC)-ag-A64	14339	48414	9357

15 Tanto una secuencia poli(A) o la histonaSL dieron lugar a niveles comparables de luciferasa. Nuevamente, la combinación de la poli(A) y la histonaSL aumentó fuertemente el nivel de luciferasa, muchas veces por encima del nivel observado con cualquiera de los elementos individuales, actuando así sinérgicamente. Por el contrario, combinar la poli(A) con cualquiera de las secuencias alternativas no tuvo efecto sobre el nivel de luciferasa en comparación con el ARNm que contenía sólo una secuencia poli(A). De esta forma, la combinación de la poli(A) 20 y la histonaSL aumenta la expresión proteica a partir del ARNm de una forma sinérgica y este efecto es específico.

11.5 La combinación de la poli(A) y la histonaSL aumenta la expresión proteica a partir del ARNm de forma sinérgica *in vivo*

25 Para investigar el efecto de la combinación de la poli(A) y la histonaSL sobre la expresión proteica a partir de ARNm *in vivo*, ARNm que codifican para luciferasa con diferentes secuencias 3' de la 3'-UTR alfa-globina o del ARNm control se inyectaron intradérmicamente en ratones: los ARNm contenían ya sea una secuencia poli(A) A64 o una histonaSL en su lugar, o tanto una poli(A) A64 como una histonaSL 3' de la 3'-UTR. Se midieron los niveles de luciferasa 16 horas después de la inyección (véase la siguiente Tabla 12 y figura 23).

Tabla 12

ARNm	RLU 16 horas
ppLuc(GC)-ag-A64-histonaSL	38081
ppLuc(GC)-ag-histonaSL	137
ppLuc(GC)-ag-A64	4607

- 5 La luciferasa se expresó a partir del ARNm con ya sea una histonaSL o una secuencia poli(A). Sin embargo, sorprendentemente la combinación de la poli(A) y la histonaSL aumentó en gran medida adicionalmente el nivel de luciferasa, muchas veces por encima del nivel observado con cualquiera de los elementos individuales. La magnitud del aumento en el nivel de luciferasa debido a la combinación de la poli(A) y la histonaSL en el mismo ARNm demuestra que están actuando sinérgicamente.
- 10 La sinergia entre la poli(A) y la histonaSL se cuantificó dividiendo la señal proveniente del ARNm de poli(A) - histonaSL (+/+) entre la suma de las señales provenientes del ARNm de la histonaSL (-/+) más el ARNm de poli(A) (+/-) (véase la siguiente tabla 13).

Tabla 13

	A64	histonaSL	RLU 16 horas
	+	+	38081
	-	+	137
	+	-	4607
Sinergia			8,0

- 15 El factor así calculado especifica cuánto mayor es el nivel de luciferasa proveniente del ARNm que combina la poli(A) y la histonaSL es de lo que se podría esperar si los efectos de la poli(A) y la histonaSL fueran puramente aditivos. El nivel de luciferasa proveniente del ARNm al combinar la poli(A) y la histonaSL era 8 veces mayor que si sus efectos fueran puramente aditivos. Este resultado confirma que la combinación de la poli(A) y la histonaSL provoca un aumento marcadamente sinérgico en la expresión proteínica *in vivo*.

20 **11.6 La combinación de la poli(A) y la histonaSL aumenta el nivel de anticuerpos producidos por la vacunación con ARNm**

- Para investigar el efecto de la combinación de la poli(A) y la histonaSL sobre la inducción de anticuerpos producidos por la vacunación con ARNm, se vacunaron intradérmicamente ratones Balb/c con los ARNm que codifican para HA con diferentes secuencias 3' de la 3'-UTR de alfa-globina mutada. Los ARNm contenían ya sea una secuencia poli(A) A64 o tanto una poli(A) A64 como la histonaSL 3' de la 3'-UTR. Mediante ELISA se analizó el nivel de anticuerpos HA-específicos en ratones vacunados y de control con diluciones en serie de suero (véase la figura 24).

- Se indujo IgG1 anti-HA con un ARNm que tiene sólo una secuencia poli(A). Sin embargo, sorprendentemente la combinación de la poli(A) y la histonaSL aumentó fuertemente el nivel IgG1 anti-HA, por encima del nivel observado con sólo una secuencia poli(A).

30

LISTADO DE SECUENCIAS

- <110> CUREVAC GMBH
- 35 <120> Ácido nucleico que comprende o codifica para un tallo-bucle de histona y una secuencia poli(A) o una señal de poliadenilación para aumentar la expresión de un antígeno patogénico codificado
- <130> CU01P127WO1EPT1
- <140> PCT/EP2012/000673

<141> 2012-02-15

<160> 56

5 <170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 16

<212> ARN

10 <213> artificial

<220>

<223> secuencia de tallo-bucle de histona de acuerdo con la fórmula (Ic): secuencia consenso de tallo-bucle de histona de metazoarios y protozoarios sin elementos frontera de tallo

15 <220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(1)

<223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo

20 <220>

<221> misc_feature

<222> (3)..(8)

<223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo

25 <220>

<221> misc_feature

<222> (10)..(14)

<223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo

30 <220>

<221> misc_feature

<222> (16)..(16)

<223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo

35 <220>

<221> misc_feature

<222> (16)..(16)

<223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo

40 <400> 1
ngnnnnnnun nnnncn 16

<210> 2

45 <211> 26

<212> ARN

<213> artificial

<220>

50 <223> secuencia de tallo-bucle de histona de acuerdo con la fórmula (IIc): secuencia consenso de tallo-bucle de histona de metazoarios y protozoarios con elementos frontera de tallo

<220>

55 <221> misc_feature

<222> (1)..(6)

<223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo

60 <220>

<221> misc_feature

<222> (8)..(13)

<223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (15)..(19)
 5 <223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo

<220>
 <221> misc_feature
 10 <222> (21)..(26)
 <223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo

<400> 2
 15 nnnnnngnnc nnnnnnc nnnnnn 26

<210> 3
 <211> 16
 20 <212> ARN
 <213> artificial

<220>
 <223> secuencia de tallo-bucle de histona de acuerdo con la fórmula (Id): sin elementos frontera de tallo
 25

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 30 <223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo

<220>
 <221> misc_feature
 35 <222> (3)..(8)
 <223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo

<220>
 <221> misc_feature
 40 <222> (10)..(14)
 <223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (16)..(16)
 <223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo
 45

<400> 3
 50 ncnnnnnnun nnnngn 16

<210> 4
 <211> 26
 55 <212> ARN
 <213> artificial

<220>
 <223> secuencia de tallo-bucle de histona de acuerdo con la fórmula (IId): con elementos frontera de tallo
 60

<220>
 <221> misc_feature

ES 2 812 280 T3

	<222>	(1)..(6)	
	<223>	n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo	
5	<220>		
	<221>	misc_feature	
	<222>	(8)..(13)	
	<223>	n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo	
10	<220>		
	<221>	misc_feature	
	<222>	(15)..(19)	
	<223>	n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo	
15	<220>		
	<221>	misc_feature	
	<222>	(21)..(26)	
	<223>	n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo	
20	<220>		
	<221>	misc_feature	
	<222>	(21)..(26)	
	<223>	n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo	
	<400>	4	
25		nnnnnncnnn nnnunnnng nnnnnn	26
	<210>	5	
	<211>	16	
	<212>	ARN	
30	<213>	artificial	
	<220>		
	<223>	secuencia de tallo-bucle de histona de acuerdo con la fórmula (Ie): secuencia consenso de tallo-bucle de histona de protozoarios sin elementos frontera de tallo	
35	<220>		
	<221>	misc_feature	
	<222>	(3)..(8)	
	<223>	n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo	
40	<220>		
	<221>	misc_feature	
	<222>	(10)..(14)	
	<223>	n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo	
45	<220>		
	<221>	misc_feature	
	<222>	(10)..(14)	
	<223>	n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo	
	<400>	5	
50		dgnnnnnnun nnnnch	16
	<210>	6	
	<211>	26	
	<212>	ARN	
55	<213>	artificial	
	<220>		
	<223>	secuencia de tallo-bucle de histona de acuerdo con la fórmula (Ile): secuencia consenso de tallo-bucle de histona de protozoarios con elementos frontera de tallo	
60	<220>		
	<221>	misc_feature	
	<222>	(1)..(5)	

ES 2 812 280 T3

- <223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo
- 5 <220>
<221> misc_feature
<222> (8)..(13)
<223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo
- 10 <220>
<221> misc_feature
<222> (15)..(19)
<223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo
- 15 <220>
<221> misc_feature
<222> (22)..(26)
<223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo
- 20 <400> 6
nnnnndggnnn nnnunnnnnc hnnnnn 26
- 25 <210> 7
<211> 16
<212> ARN
<213> artificial
- 30 <220>
<223> secuencia de tallo-bucle de histona de acuerdo con la fórmula (If): secuencia consenso de tallo-bucle de histona de metazoarios sin elementos frontera de tallo
- 35 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo
- 40 <220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(3)
<223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo
- 45 <220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(8)
<223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo
- 50 <220>
<221> misc_feature
<222> (10)..(10)
<223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo
- 55 <220>
<221> misc_feature
<222> (12)..(12)
<223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo
- 60 <220>
<221> misc_feature
<222> (12)..(12)
<223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo

ES 2 812 280 T3

	<220>		
	<221>	misc_feature	
	<222>	(14)..(14)	
5	<223>	n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo	
	<220>		
	<221>	misc_feature	
	<222>	(16)..(16)	
10	<223>	n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo	
	<400>	7	
15		ngnbyynnun vndncn	16
	<210>	8	
	<211>	26	
	<212>	ARN	
20	<213>	artificial	
	<220>		
	<223>	secuencia de tallo-bucle de histona de acuerdo con la fórmula (If): secuencia consenso de tallo-bucle de histona de metazoarios con elementos frontera de tallo	
25	<220>		
	<221>	misc_feature	
	<222>	(1)..(6)	
30	<223>	n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo	
	<220>		
	<221>	misc_feature	
	<222>	(8)..(8)	
35	<223>	n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo	
	<220>		
	<221>	misc_feature	
	<222>	(12)..(13)	
40	<223>	n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo	
	<220>		
	<221>	misc_feature	
	<222>	(15)..(15)	
45	<223>	n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo	
	<220>		
	<221>	misc_feature	
	<222>	(17)..(17)	
50	<223>	n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo	
	<220>		
	<221>	misc_feature	
	<222>	(19)..(19)	
55	<223>	n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo	
	<220>		
	<221>	misc_feature	
	<222>	(21)..(26)	
60	<223>	n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo	

ES 2 812 280 T3

<223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo

5 <400> 8
 nnnnnngnby ynnunvndnc nnnnnn 26

<210> 9
 <211> 16
 <212> ARN
 <213> artificial

10 <220>
 <223> secuencia de tallo-bucle de histona de acuerdo con la fórmula (Ig): secuencia consenso de tallo-bucle de histona de vertebrados sin elementos frontera de tallo

15 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo

20 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (8)..(8)
 <223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo

25 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (16)..(16)
 <223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo

30 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (16)..(16)
 <223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo

35 <400> 9
 nghyydnuh abrdcn 16

<210> 10
 <211> 26
 <212> ARN
 <213> artificial

40 <220>
 <223> secuencia de tallo-bucle de histona de acuerdo con la fórmula (IIg): secuencia consenso de tallo-bucle de histona de vertebrados con elementos frontera de tallo

45 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(2)
 <223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo

50 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (4)..(6)
 <223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo

55 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo

60 <220>
 <221> misc_feature

ES 2 812 280 T3

	<222>	(21)..(25)	
	<223>	n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo	
5	<400>	10 nnhnnnghyy ydnuhabrdc nnnnnh	26
10	<210>	11	
	<211>	16	
	<212>	ARN	
	<213>	artificial	
15	<220>		
	<223>	secuencia de tallo-bucle de histona de acuerdo con la fórmula (Ih): secuencia consenso de tallo-bucle de histona de humano (<i>Homo sapiens</i>) sin elementos frontera de tallo	
20	<400>	11 dghycudyuh asrrcc	16
25	<210>	12	
	<211>	26	
	<212>	ARN	
	<213>	artificial	
30	<220>		
	<223>	secuencia de tallo-bucle de histona de acuerdo con la fórmula (IIh): secuencia consenso de tallo-bucle de histona de humano (<i>Homo sapiens</i>) con elementos frontera de tallo	
35	<220>		
	<221>	misc_feature	
	<222>	(1)..(1)	
	<223>	n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo	
40	<220>		
	<221>	misc_feature	
	<222>	(25)..(25)	
	<223>	n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo	
45	<400>	12 nhaahdghyc udyuhasrrc cvhbnh	26
50	<210>	13	
	<211>	16	
	<212>	ADN	
	<213>	artificial	
55	<220>		
	<223>	secuencia de tallo-bucle de histonas (sin elementos frontera de tallo) de acuerdo con la fórmula (Ic)	
60	<400>	13 vgyyyyhhth rvrcb	16
	<210>	14	
	<211>	16	
	<212>	ADN	
	<213>	artificial	
	<220>		

ES 2 812 280 T3

	<223>	secuencia de tallo-bucle de histonas (sin elementos frontera de tallo) de acuerdo con la fórmula (1c)	
	<400>	14	
5		sgyytytm arrrcs	16
	<210>	15	
	<211>	16	
10	<212>	ADN	
	<213>	artificial	
	<220>		
	<223>	secuencia de tallo-bucle de histonas (sin elementos frontera de tallo) de acuerdo con la fórmula (1c)	
15	<400>	15	
		sgyyctttm agrrcs	16
	<210>	16	
20	<211>	16	
	<212>	ADN	
	<213>	artificial	
	<220>		
25	<223>	secuencia de tallo-bucle de histonas (sin elementos frontera de tallo) de acuerdo con la fórmula (1e)	
	<220>		
	<221>	misc_feature	
	<222>	(3)..(5)	
30	<223>	n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo	
	<220>		
	<221>	misc_feature	
35	<222>	(7)..(8)	
	<223>	n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo	
	<220>		
	<221>	misc_feature	
40	<222>	(12)..(14)	
	<223>	n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo	
45	<400>	16	
		dgnnbnnth vnnch	16
	<210>	17	
50	<211>	16	
	<212>	ADN	
	<213>	artificial	
	<220>		
55	<223>	secuencia de tallo-bucle de histonas (sin elementos frontera de tallo) de acuerdo con la fórmula (1e)	
	<220>		
	<221>	misc_feature	
	<222>	(3)..(5)	
60	<223>	n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo	
	<220>		
	<221>	misc_feature	

ES 2 812 280 T3

	<222>	(13)..(14)	
	<223>	n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo	
5	<400>	17 rgnnnyhbth rdncyc	16
10	<210>	18	
	<211>	16	
	<212>	ADN	
	<213>	artificial	
15	<220>		
	<223>	secuencia de tallo-bucle de histonas (sin elementos frontera de tallo) de acuerdo con la fórmula (le)	
20	<220>		
	<221>	misc_feature	
	<222>	(3)..(3)	
	<223>	n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo	
25	<220>		
	<221>	misc_feature	
	<222>	(14)..(14)	
	<223>	n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo	
30	<400>	18 rgndbyhyth rdhncy	16
35	<210>	19	
	<211>	16	
	<212>	ADN	
	<213>	artificial	
40	<220>		
	<223>	secuencia de tallo-bucle de histonas (sin elementos frontera de tallo) de acuerdo con la fórmula (lf)	
45	<400>	19 vgyytyhth rvrrcb	16
50	<210>	20	
	<211>	16	
	<212>	ADN	
	<213>	artificial	
55	<220>		
	<223>	secuencia de tallo-bucle de histonas (sin elementos frontera de tallo) de acuerdo con la fórmula (lf)	
60	<400>	20 sgyyctytm agrrcs	16
60	<210>	21	
	<211>	16	
	<212>	ADN	
	<213>	artificial	
	<220>		
	<223>	secuencia de tallo-bucle de histonas (sin elementos frontera de tallo) de acuerdo con la fórmula (lf)	

ES 2 812 280 T3

	<400>	21	
	sgyyctttm	agrrcs	16
5	<210>	22	
	<211>	16	
	<212>	ADN	
	<213>	artificial	
10	<220>		
	<223>	secuencia de tallo-bucle de histonas (sin elementos frontera de tallo) ccording to formula (lg)	
15	<400>	22	
	ggyycttyth	agrrcc	16
	<210>	23	
	<211>	16	
20	<212>	ADN	
	<213>	artificial	
	<220>		
	<223>	secuencia de tallo-bucle de histonas (sin elementos frontera de tallo) de acuerdo con la fórmula (lg)	
25	<400>	23	
	ggcycttytm	agrgcc	16
30	<210>	24	
	<211>	16	
	<212>	ADN	
	<213>	artificial	
35	<220>		
	<223>	secuencia de tallo-bucle de histonas (sin elementos frontera de tallo) de acuerdo con la fórmula (lg)	
40	<400>	24	
	ggctctttm	agrgcc	16
	<210>	25	
	<211>	16	
	<212>	ADN	
45	<213>	artificial	
	<220>		
	<223>	secuencia de tallo-bucle de histonas (sin elementos frontera de tallo) de acuerdo con la fórmula (lh)	
50	<400>	25	
	dghyctdyth	asrrcc	16
	<210>	26	
55	<211>	16	
	<212>	ADN	
	<213>	artificial	
	<220>		
60	<223>	secuencia de tallo-bucle de histonas (sin elementos frontera de tallo) de acuerdo con la fórmula (lh)	
	<400>	26	
	ggcycttth	agrgcc	16

ES 2 812 280 T3

- 5 <210> 27
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> artificial
- <220>
 <223> secuencia de tallo-bucle de histonas (sin elementos frontera de tallo) de acuerdo con la fórmula (Ih)
- 10 <400> 27
 ggcyctttm agrgcc 16
- 15 <210> 28
 <211> 26
 <212> ADN
 <213> artificial
- 20 <220>
 <223> secuencia de tallo-bucle de histona (con elementos frontera de tallo) de acuerdo con la fórmula (Iic)
- 25 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (25)..(26)
 <223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo
- 30 <400> 28
 hhhhvgyy yhhtrvrc bvhhnn 26
- 35 <210> 29
 <211> 26
 <212> ADN
 <213> artificial
- 40 <220>
 <223> secuencia de tallo-bucle de histona (con elementos frontera de tallo) de acuerdo con la fórmula (Iic)
- <400> 29
 mhmhmsgygy tytmarrc smchhh 26
- 45 <210> 30
 <211> 26
 <212> ADN
 <213> artificial
- 50 <220>
 <223> secuencia de tallo-bucle de histona (con elementos frontera de tallo) de acuerdo con la fórmula (Iic)
- 55 <400> 30
 mmmmsgyyc tttmagrrc sachmh 26
- 60 <210> 31
 <211> 26
 <212> ADN
 <213> artificial
- <220>

- <223> secuencia de tallo-bucle de histona (con elementos frontera de tallo) de acuerdo con la fórmula (Ile)
- 5 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(5)
<223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo
- 10 <220>
<221> misc_feature
<222> (8)..(10)
<223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo
- 15 <220>
<221> misc_feature
<222> (12)..(13)
<223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo
- 20 <220>
<221> misc_feature
<222> (17)..(19)
<223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo
- 25 <220>
<221> misc_feature
<222> (22)..(22)
<223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo
- 30 <220>
<221> misc_feature
<222> (24)..(26)
<223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo
- 35 <220>
<221> misc_feature
<222> (24)..(26)
<223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo
- 40 <400> 31
nnnnndgnnn bnthvnnnc hnhnnn 26
- 45 <210> 32
<211> 26
<212> ADN
<213> artificial
- 50 <220>
<223> secuencia de tallo-bucle de histona (con elementos frontera de tallo) de acuerdo con la fórmula (Ile)
- 55 <220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(2)
<223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo
- 60 <220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(5)
<223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo

- <220>
 <221> misc_feature
 <222> (8)..(10)
 5 <223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo
- <220>
 <221> misc_feature
 10 <222> (18)..(19)
 <223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo
- <220>
 <221> misc_feature
 15 <222> (25)..(26)
 <223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo
- 20 <400> 32
 nnhhnrgrnnn yhbthrdnnc ydhnn 26
- <210> 33
 25 <211> 26
 <212> ADN
 <213> artificial
- <220>
 30 <223> secuencia de tallo-bucle de histona (con elementos frontera de tallo) de acuerdo con la fórmula (Ile)
- <220>
 <221> misc_feature
 35 <222> (1)..(1)
 <223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo
- <220>
 40 <221> misc_feature
 <222> (8)..(8)
 <223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo
- 45 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (19)..(19)
 <223> n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo
- 50 <400> 33
 nhhhvrgrndb yhythrdhnc yrhhhh 26
- 55 <210> 34
 <211> 26
 <212> ADN
 <213> artificial
- 60 <220>
 <223> secuencia de tallo-bucle de histona (con elementos frontera de tallo) de acuerdo con la fórmula (IIf)
 <220>
 <221> misc_feature

ES 2 812 280 T3

	<222>	(26)..(26)	
	<223>	n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo	
5	<400>	34 hhmhmvgyyy tythrvrrc bvmhhn	26
10	<210>	35	
	<211>	26	
	<212>	ADN	
	<213>	artificial	
15	<220>		
	<223>	secuencia de tallo-bucle de histona (con elementos frontera de tallo) de acuerdo con la fórmula (If)	
	<400>	35 mmmmmsgyyc ttytmagrrc smchhh	26
20	<210>	36	
	<211>	26	
	<212>	ADN	
	<213>	artificial	
25	<220>		
	<223>	secuencia de tallo-bucle de histona (con elementos frontera de tallo) de acuerdo con la fórmula (If)	
30	<400>	36 mmmmmsgyyc tttmagrrc sachmh	26
35	<210>	37	
	<211>	26	
	<212>	ADN	
	<213>	artificial	
40	<220>		
	<223>	secuencia de tallo-bucle de histona (con elementos frontera de tallo) de acuerdo con la fórmula (Ifg)	
45	<220>		
	<221>	misc_feature	
	<222>	(24)..(25)	
	<223>	n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo	
50	<400>	37 hhmamggyyc ttythagrrc cvhnnm	26
55	<210>	38	
	<211>	26	
	<212>	ADN	
	<213>	artificial	
60	<220>		
	<223>	secuencia de tallo-bucle de histona (con elementos frontera de tallo) de acuerdo con la fórmula (Ifg)	
	<400>	38 hhaamggcyc ttytmagrrc cvchhm	26

ES 2 812 280 T3

	<210>	39	
	<211>	26	
	<212>	ADN	
	<213>	artificial	
5	<220>		
	<223>	secuencia de tallo-bucle de histona (con elementos frontera de tallo) de acuerdo con la fórmula (IIg)	
10	<400>	39	
		mmaamggctc tttmagrgc cmcymm	26
	<210>	40	
15	<211>	26	
	<212>	ADN	
	<213>	artificial	
	<220>		
20	<223>	secuencia de tallo-bucle de histona (con elementos frontera de tallo) de acuerdo con la fórmula (IIh)	
	<220>		
	<221>	misc_feature	
25	<222>	(1)..(1)	
	<223>	n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo	
	<220>		
	<221>	misc_feature	
30	<222>	(25)..(25)	
	<223>	n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo	
35	<400>	40	
		nhaahdghyc tdythasrrc cvhbnh	26
	<210>	41	
40	<211>	26	
	<212>	ADN	
	<213>	artificial	
	<220>		
45	<223>	secuencia de tallo-bucle de histona (con elementos frontera de tallo) de acuerdo con la fórmula (IIh)	
	<220>		
	<221>	misc_feature	
50	<222>	(25)..(25)	
	<223>	n se selecciona a partir de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo	
	<400>	41	
55		hhaamggcyc tttthagrgc cvmynm	26
	<210>	42	
60	<211>	26	
	<212>	ADN	
	<213>	artificial	
	<220>		

ES 2 812 280 T3

	<223>	secuencia de tallo-bucle de histona (con elementos frontera de tallo) de acuerdo con la fórmula (IIh)	
	<400>	42	
5		hmaaaggcyc tttmagrgc crmyhm	26
	<210>	43	
	<211>	1747	
10	<212>	ARN	
	<213>	artificial	
	<220>		
	<223>	secuencia de ARNm de ppLuc(GC)-ag	
15	<400>	43	
		gggagaaagc uugaggauagg aggacgcca gaacaucaag aagggcccgg cgcccuucua	60
		cccgcuggag gacgggaccg ccggcgagca gcuccacaag gccaugaagc gguacgccc	120
20		ggugcccggc acgaucgcu ucaccgacgc ccacaucgag gucgacauc ccuacgcgga	180
		guacuucgag augagcgugc gccuggcccga ggccaugaag cgguacggcc ugaacaccaa	240
25		ccaccggauc guggugugcu cggagaacag ccugcaguuc uucaugccgg ugcuggggcg	300
		ccucuuauc ggcguggccg ucgcccggc gaacgacauc uacaacgagc gggagcugcu	360
		gaacagcaug gggaucaagg agccgaccgu gguguucgug agcaagaagg gccugcagaa	420
30		gauccugaac gugcagaaga agcugcccau cauccagaag aucaucauca uggacagcaa	480
		gaccgacuac caggguucc agucgaugua cacguucgug accagccacc ucccggcg	540
35		cuucaacgag uacgacuucg ucccggagag cuucgaccgg gacaagacca ucgcccugau	600
		caugaacagc agcggcagca ccggccugcc gaagggggug gccugccgc accggaccgc	660
		cugcgugcgc uucucgacg cccgggacc caucuucggc aaccagauca ucccggacac	720
40		cgccauccug agcggggugc cguuccacca cggcuucggc auguucacga ccuugggcu	780
		ccucaucugc ggcuucccggg ugguccugau guaccgguuc gagggaggagc uguuccugc	840
45		gagccugcag gacuacaaga uccagagcgc gcugcucgug ccgaccugc ucagcuucuu	900
		cgccaagagc acccugaucg acaaguacga ccugucgaac cugcagcaga ucgcccagcg	960
		gggcccggc cugagcaagg agguggggcga ggccguggcc aagcgguucc accuccggg	1020
50		cauccgccag ggcuaaggcc ugaccgagac cacgagcgcg auccugauca ccccgaggg	1080
		ggagcacaag ccggggcggc ugggcaaggu ggucccguc uucgaggcca agguggugga	1140
55		ccuggacacc ggcaagacc ugggugugaa ccagcggggc gagcugugcg ugcggggggc	1200
		gaugaucaug agcggcuacg ugaacaaccc ggaggccacc aacgcccua ucgacaagga	1260
		cggcuggcug cacagcggc acaucgcca cugggacgag gacgagcacu ucuucaucgu	1320
60		cgaccggcug aagucgcuga ucaaguacaa gggcuaccag guggcggcg ccgagcugga	1380
		gagcauccug cuccagcacc ccaacaucuu cgacgcccgc guggccgggc ugccggacga	1440

ES 2 812 280 T3

	cgacgccggc gagcugccgg ccgcgguugu ggugcuggag cacggcaaga ccaugacgga	1500
	gaaggagauc gucgacuacg uggccagcca ggugaccacc gccaagaagc ugcggggcgg	1560
5	cgugguguuc guggacgagg ucccgaagg ccugaccggg aagcucgacg cccggaagau	1620
	ccgcgagauc cugaucaagg ccaagaagg cggaagauc gccguguaag acuaguuaa	1680
10	agacugacia gcccgauggg ccucccaacg ggcccuccuc cccuccuugc accgagauua	1740
	auagauc	1747
15	<210> 44 <211> 1806 <212> ARN <213> artificial	
20	<220> <223> secuencia de ARNm de ppLuc(GC)-ag-A64	
	<400> 44	
	gggagaaagc uugaggauug aggacgcaa gaacaucaag aagggcccgg cgccuucua	60
25	ccgcugggag gacgggaccg ccggcgagca guccacaag gccaugaag gguacgccu	120
	ggugcccggc acgaucgccu ucaccgacgc ccacaucgag gucgacauc cuacgcgga	180
30	guacuucgag augagcugc gccuggccga ggccaugaag cgguacggcc ugaacaccaa	240
	ccaccggauc guggugugcu cggagaacag ccugcaguuc uucaugccgg ugcugggcgc	300
	ccucuaucau ggcguggccg ucgcccggc gaacgacauc uacaacgagc gggagcugcu	360
35	gaacagcaug gggaucaacc agccgaccgu gguguucgug agcaagaag gccugcagaa	420
	gauccugaac gugcagaaga agcugcccau cauccagaag aucaucauca uggacagcaa	480
40	gaccgacuac caggguucc agucgaugua cacguucgug accagccacc ucccgccggg	540
	cuucaacgag uacgacuucg ucccggagag cuucgaccgg gacaagacca ucgcccugau	600
	caugaacagc agcggcagca ccggccugcc gaagggggug gccugccgc accggaccgc	660
45	cugcugcgc uucucgacg cccgggaccc caucuucggc aaccagauca ucccggacac	720
	cgccauccug agcugggugc cguuccacca cgguucggc auguucacga cccugggcu	780
50	ccucaucugc ggcuuccggg ugguccugau guaccgguuc gaggaggagc uguuccugc	840
	gagccugcag gacuacaaga uccagagcgc gcugcucgug ccgaccugcu ucagcuucu	900
	cgccaagagc acccugaucg acaaguacga ccugucgaac cugcacgaga ucgccagcgg	960
55	gggcgccccg cugagcaagg aggugggcga ggccguggcc aagcggaucc accuccggg	1020
	cauccgccag ggcuaaggcc ugaccgagac cacgagcgcg auccugauca ccccgaggg	1080
60	ggacgacaag ccgggcggc ugggcaaggu ggucccuuc uucgaggcca agguggugga	1140
	ccugacacc ggcaagacc ugggcugaa ccagcgggc gagcugugc ugcggggcc	1200
	gaugaucaug agcggcuacg ugaacaacc ggaggccacc aacgcccua ucgacaagga	1260

ES 2 812 280 T3

	cggcuggcug cacagcggcg acaucgccua cugggacgag gacgagcacu ucuucaucgu	1320
	cgaccggcug aagucgcuga ucaaguacaa gggcuaccag guggcgccgg ccgagcugga	1380
5	gagcauccug cuccagcacc ccaacaucuu cgacgccggc guggccgggc ugccggacga	1440
	cgacgccggc gagcugccgg ccgcguggu ggugcuggag cacggcaaga ccaugacgga	1500
10	gaaggagauc gucgacuacg uggccagcca ggugaccacc gccaagaagc ugcggggcgg	1560
	cgugguguuc guggacgagg ucccgaagg ccugaccggg aagcucgacg cccggaagau	1620
	ccgcgagauc cugaucaagg ccaagaagg cggaagauc gccguguaag acuaguuaa	1680
15	agacugacua gcccgaugg ccucccaacg ggcccuccuc cccuccuugc accgagauua	1740
	auaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	1800
20	aaaaaa	1806
	<210> 45	
	<211> 1772	
25	<212> ARN	
	<213> artificial	
	<220>	
	<223> secuencia de ARNm de ppLuc(GC)-ag-histonaSL	
30	<400> 45	
	gggagaaagc uugaggauagg aggacgcaa gaacaucaag aagggcccgg cgcccuuca	60
	cccgcuggag gacgggaccg ccggcgagca gcuccacaag gccaugaagc gguacgccu	120
35	ggugccgggc acgaucgccu ucaccgacgc ccacaucgag gucgacauc ccuacgcgga	180
	guacuucgag augagcgugc gccuggccga ggccaugaag cgguacggcc ugaacaccaa	240
40	ccaccggauc guggugugcu cggagaacag ccugcaguuc uucaugccgg ugcugggcgc	300
	ccucuuauc ggcguggccg ucgcccggc gaacgacauc uacaacgagc gggagcugcu	360
	gaacagcaug gggauagcc agccgaccgu gguguucgug agcaagaag gccugcagaa	420
45	gauccugaac gugcagaaga agcugcccau cauccagaag aucaucauca uggacagcaa	480
	gaccgacuac caggguucc agucgaugua cacguucgug accagccacc ucccggcggg	540
50	cuucaacgag uacgacuucg ucccggagag cuucgaccgg gacaagacca ucgcccugau	600
	caugaacagc agcggcagca ccggccugcc gaagggggug gccugccgc accggaccgc	660
	cugcugcgc uucucgcacg cccgggacc caucuucggc aaccagauca ucccggacac	720
55	cgccauccug agcggugguc cguuccacca cggcuucggc auguucacga cccugggcu	780
	ccucaucugc ggcuccggg ugguccugau guaccgguuc gaggaggagc uguuccugcg	840
60	gagccugcag gacuacaaga uccagagcgc gcugcucgug ccgaccugc ucagcuucuu	900
	cgccaagagc acccugaucg acaaguacga ccugucgaac cugcagcaga ucgccagcgg	960
	gggcgccccg cugagcaagg aggugggcga ggccguggcc aagcggaucc accuccggg	1020

ES 2 812 280 T3

	cauccgccag ggcuacggcc ugaccgagac cacgagcgcg auccugauca cccccgaggg	1080
	ggagcacaag ccgggcgccc ugaggcaaggu ggucccguc uucgaggcca agguggugga	1140
5	ccuggacacc ggcaagacc ugggcgugaa ccagcggggc gagcugugcg ugcggggggc	1200
	gaugaucaug agcggcuacg ugaacaaccc ggaggccacc aacgcccua ucgacaagga	1260
10	cggcuggcug cacagcggcg acaucgccua cugggacgag gacgagcacu ucuucaucgu	1320
	cgaccggcug aagucgcuga ucaaguaca gggcuaccag guggcgccgg ccgagcugga	1380
	gagcauccug cuccagcacc ccaacaucuu cgacgccggc guggccgggc ugccggacga	1440
15	cgacgccggc gagcugcccg ccgcguggu ggugcuggag cacggcaaga ccaugacgga	1500
	gaaggagauc gucgacuacg uggccagcca ggugaccacc gccagaagc ugcggggcgg	1560
20	cgugguguuc guggacgagg ucccgaagg ccugaccggg aagcucgacg cccggaagau	1620
	ccgcgagauc cugaucaagg ccaagaagg cggaagauc gccguguaag acuaguuaa	1680
	agacugacua gcccgaugg ccucccaacg ggccuccuc ccucuuugc accgagaua	1740
25	auagaucuca aaggcucuu ucagagccac ca	1772
	<210> 46	
	<211> 1835	
30	<212> ARN	
	<213> artificial	
	<220>	
35	<223> secuencia de ARNm de ppLuc(GC)-ag-A64-histonaSL	
	<400> 46	
	gggagaaagc uugaggauagg aggacgcaa gaacaucaag aagggcccgg cgccuucua	60
40	cccgcuggag gacgggaccg ccggcgagca gcuccacaag gccaugaagc gguacgccc	120
	ggugcccggc acgauccgu ucaccgacgc ccacaucgag gucgacauc ccaucgagg	180
	guacuucgag augagcgugc gccuggccga ggccaugaag cgguacggcc ugaacacaa	240
45	ccaccggauc guggugugcu cggagaacag ccugcaguuc uucaugcccg ucguggggc	300
	ccucucauc ggcguggccg ucgcccggc gaacgacauc uacaacgagc gggagcugcu	360
50	gaacagcaug gggauccagc agccgaccgu gguguucgug agcaagaagg gccugcagaa	420
	gauccugaac gucgagaaga agcugccau cauccagaag aucaucauca uggacagcaa	480
	gaccgacuac caggguucc agucgaugua cacguucgug accagccacc ucccgggg	540
55	cuucaacgag uacgacuucg ucccggagag cuucgaccgg gacaagacca ucgcccugau	600
	caugaacagc agcggcagca ccggccugcc gaagggggug gccugccgc accggaccgc	660
60	cugcugcgc uucucgacg cccgggacc caucuucggc aaccagauca ucccggacac	720
	cgccauccug agcggugugc cguuccacca cggcuucggc auguucacga cccugggcu	780
	ccucaucugc ggcuuccggg ugguccugau guaccgguuc gaggaggagc uguuccugc	840

ES 2 812 280 T3

	gagccugcag gacuacaaga uccagagcgc gcugcucgug ccgacccugu ucagcuucu	900
	cgccaagagc acccugaucg acaaguacga ccugucgaac cugcacgaga ucgccagcgg	960
5	gggcccccg cugagcaagg aggugggcga ggccguggcc aagcgguucc accucccggg	1020
	cauccgccag ggcucaggcc ugaccgagac cacgagcgcg auccugauca cccccgaggg	1080
10	ggacgacaag ccgggcccgg ugggcaaggu ggucccguuc uucgaggcca agguggugga	1140
	ccuggacacc ggcaagacc ugggugugaa ccagcggggc gagcugugcg ugcggggggc	1200
	gaugaucaug agcggcuacg ugaacaaccc ggaggccacc aacgcccua ucgacaagga	1260
15	cggcuggcug cacagcggcg acaucgccua cugggacgag gacgagcacu ucuucaucgu	1320
	cgaccggcug aagucgcuga ucaaguacaa gggcuaccag guggcggcg ccgagcugga	1380
20	gagcauccug cuccagcacc ccaacaucuu cgacgccggc guggccgggc ugccggacga	1440
	cgacgccggc gagcugccgg ccgcguggu ggugcuggag cacggcaaga ccaugacgga	1500
	gaaggagauc gucgacuacg uggccagcca ggugaccacc gccaagaagc ugcggggcgg	1560
25	cgugguguuc guggacgagg ucccgaagg ccugaccggg aagcucgacg cccggaagau	1620
	ccgcgagauc cugaucaagg ccaagaaggg cggcaagauc gccguguaag acuaguuaa	1680
30	agacugacua gcccgauggg ccucccaacg ggcccuccuc cccuccuugc accgagaua	1740
	aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa	1800
	aaaaaaaaugca ucaaaggcuc uuuucagagc cacca	1835
35	<210> 47	
	<211> 1869	
	<212> ARN	
	<213> artificial	
40	<220>	
	<223> secuencia de ARNm de ppLuc(GC)-ag-A120	
	<400> 47	
45	gggagaaagc uugaggauagg aggacgcca gaacaucaag aagggcccgg cgcccuuca	60
	ccgcugggag gacgggaccg ccggcgagca gcuccacaag gccaugaagc gguacgccc	120
50	ggugccgggc acgaucccu ucaccgacgc ccacaucgag gucgacauca ccuacgcgga	180
	guacuucgag augagcugc gccuggccga ggccaugaag cgguacggcc ugaacaccaa	240
	ccaccggauc guggugugcu cggagaacag ccugcaguuc uucaugccgg ugcuggggc	300
55	ccucucauc ggcguggccg ucgccccggc gaacgacauc uacaacgagc gggagcugcu	360
	gaacagcaug gggaucagcc agccgaccgu gguguucgug agcaagaagg gccugcagaa	420
60	gauccugaac gugcagaaga agcugcccau cauccagaag aucaucauca uggacagcaa	480
	gaccgacuac caggguucc agucgaugua cacguucgug accagccacc ucccggcggg	540
	cuucaacgag uacgacuucg ucccggagag cuucgaccgg gacaagacca ucgcccugau	600

ES 2 812 280 T3

	caugaacagc agcggcagca ccggccugcc gaagggggug gccucgccc accggaccgc	660
	cugcgugcgc uucucgcacg cccgggaccc caucuucggc aaccagauca ucccggacac	720
5	cgccauccug agcggggugc cguuccacca cggcuucggc auguucacga cccugggcua	780
	ccucaucugc ggcuuccggg ugguccugau guaccgguuc gaggaggagc uguuccugcg	840
10	gagccugcag gacuacaaga uccagagcgc gcugcucgug ccgaccucgu ucagcuucuu	900
	cgccaagagc acccugaucg acaaguacga ccugucgaac cugcacgaga ucgccagcgg	960
	gggcccgcg cugagcaagg agguggggcga ggccguggcc aagcgguucc accuccggg	1020
15	cauccgccag ggcuacggcc ugaccgagac cacgagcgcg auccugauca cccccgaggg	1080
	ggagcacaag ccggggcggc ugggcaaggu ggucccgguu uucgaggcca agguggugga	1140
20	ccuggacacc ggcaagaccc ugggcuugaa ccagcggggc gagcugugcg ugcggggggc	1200
	gaugaucaug agcggcuacg ugaacaaccc ggaggccacc aacgcccua ucgacaagga	1260
	cggcuggcug cacagcggcg acaucgccua cugggacgag gacgagcacu ucuucaucgu	1320
25	cgaccggcug aagucgcuga ucaaguacaa gggcuaccag guggcggcgg ccgagcugga	1380
	gagcauccug cuccagcacc ccaacaucuu cgacgccggc guggccgggc ugccggacga	1440
30	cgacgccggc gagcugccgg ccgcguggu ggugcuggag cacggcaaga ccaugacgga	1500
	gaaggagauc gucgacuacg uggccagcca ggugaccacc gccagaagc ugcggggcgg	1560
	cgugguguuc guggacgagg uccgaaggg ccugaccggg aagcucgacg cccggaagau	1620
35	ccgcgagauc cugaucaagg ccaagaaggg cggcaagauc gccuguaag acuaguuaa	1680
	agacugacua gcccgauggg ccucccaacg ggcccuccuc ccucuuugc accgagauua	1740
40	auagaucuaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa	1800
	aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa	1860
	aaaaaaaaa	1869
45	<210> 48	
	<211> 1858	
	<212> ARN	
	<213> artificial	
50	<220>	
	<223> secuencia de ARNm de ppLuc(GC)-ag-A64-ag	
	<400> 48	
55	gggagaaagc uugaggauagg aggacgcaa gaacaucaag aagggcccgg cgccuucua	60
	cccgcuggag gacgggaccg ccggcgagca gcuccacaag gccaugaagc gguacgccu	120
	ggugccgggc acgaucgccu ucaccgacgc ccacaucgag gucgacauca ccuacgcgga	180
60	guacuucgag augagcugc gccuggccga ggccaugaag cgguacggcc ugaacaccaa	240
	ccaccggaucc guggugugcu cggagaacag ccugcaguuc uucaugcccg ucguggggc	300

ES 2 812 280 T3

	ccucucauc ggcguggccg ucgccccggc gaacgacauc uacaacgagc gggagcugcu	360
	gaacagcaug gggauacagcc agccgaccgu gguguucgug agcaagaagg gccugcagaa	420
5	gauccugaac gugcagaaga agcugcccau cauccagaag aucaucauca uggacagcaa	480
	gaccgacuac caggguucc agucgaugua cacguucgug accagccacc ucccgccggg	540
10	cuucaacgag uacgacuucg ucccggagag cuucgaccgg gacaagacca ucgcccugau	600
	caugaacagc agcggcagca ccggccugcc gaagggggug gccugccgc accggaccgc	660
	cugcgugcgc uucucgcacg cccgggaccc caucuucggc aaccagauca ucccggacac	720
15	cgccauccug agcguggugc cguuccacca cggcuucggc auguucacga ccugggcua	780
	ccucaucugc ggcuuccggg ugguccugau guaccgguuc gaggaggagc uguuccugc	840
20	gagccugcag gacuacaaga uccagagcgc gcugcucgug ccgaccugu ucagcuucu	900
	cgccaagagc acccugaucg acaaguacga ccugucgaac cugcacgaga ucgccagcgg	960
	gggcgccccg cugagcaagg aggugggcga ggccguggcc aagcgguucc accuccggg	1020
25	cauccgccag ggcuacggc ugaccgagac cacgagcgcg auccugauca cccccgagg	1080
	ggacgacaag ccgggcgccg ugggcaaggu ggucccguuc uucgaggcca agguggugga	1140
30	ccugacacc ggcaagacc ugggcuguaa ccagcggggc gagcugugcg ugcggggcc	1200
	gaugaucaug agcggcuacg ugaacaaccc ggaggccacc aacgccuca ucgacaagga	1260
	cggcuggcug cacagcggcg acaucgccua cugggacgag gacgagcacu ucucaucgu	1320
35	cgaccggcug aagucgcuga ucaaguacaa gggcuaccag guggcggccg ccgagcugga	1380
	gagcauccug cuccagcacc ccaacaucu cgacgccggc guggccgggc ugccggacga	1440
40	cgacgccggc gagcugccg ccgcguggu ggugcuggag cacggcaaga ccaugacgga	1500
	gaaggagauc gucgaucagc uggccagcca ggugaccacc gccaagaagc ugcggggcgg	1560
	cgugguguuc guggacgagg ucccgaagg ccugaccggg aagcucgacg cccggaagau	1620
45	ccgcgagauc cugaucaagg ccaagaagg cggaagauc gccguguaag acuaguuaa	1680
	agacugacua gcccgaugg ccucccaacg ggcccuccc cccuccuugc accgagaua	1740
50	aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa	1800
	aaaaaagca uccugcccga ugggccuccc aacgggccu ccucccucc uugcaccg	1858
	<210> 49	
	<211> 1894	
55	<212> ARN	
	<213> artificial	
	<220>	
	<223> secuencia de ARNm de ppLuc(GC)-ag-A64-aCPSL	
60	<400> 49	
	gggagaaagc uugaggauagg aggacgcaa gaacaucaag aagggcccgg cgccuucua	60
	cccgcuggag gacgggaccg ccggcgagca gcuccacaag gccaugaagc gguacgccu	120

ES 2 812 280 T3

	ggugccgggc acgaucgccu ucaccgacgc ccacaucgag gucgacauca ccuacgcgga	180
5	guacuucgag augagcgugc gccuggccga ggccaugaag cgguacggcc ugaacaccaa	240
	ccaccggauc guggugugcu cggagaacag ccugcaguuc uucaugccgg ugcuggggcg	300
	ccucucauc ggcguggccg ucgccccggc gaacgacauc uacaacgagc gggagcugcu	360
10	gaacagcaug gggaucagcc agccgaccgu gguguucgug agcaagaagg gccugcagaa	420
	gauccugaac gugcagaaga agcugcccau cauccagaag aucaucauca uggacagcaa	480
15	gaccgacuac caggguucc agucgaugua cacguucgug accagccacc ucccgccggg	540
	cuucaacgag uacgacuucg ucccggagag cuucgaccgg gacaagacca ucgcccugau	600
	caugaacagc agcggcagca ccggccugcc gaagggggug gccucgccc accggaccgc	660
20	cugcgugcgc uucucgcacg cccgggaccc caucuucggc aaccagauca ucccggacac	720
	cgccauccug agcguugguc cguuccacca cggcuucggc auguucacga ccugggcua	780
25	ccucaucugc ggcuuccggg ugguccugau guaccgguuc gaggaggagc uguuccugcg	840
	gagccugcag gacuacaaga uccagagcgc gcugcucgug ccgaccucgu ucagcuucu	900
	cgccaagagc acccugaucg acaaguacga ccugucgaac cugcacgaga ucgccagcgg	960
30	gggcgccccg cugagcaagg aggugggcca ggccguggcc aagcggaucc accuccggg	1020
	cauccgccag ggcuacggcc ugaccgagac cacgagcgcg auccugauca cccccgaggg	1080
35	ggacgacaag ccgggcccgg ugggcaaggu ggucccguuc uucgaggcca agguggugga	1140
	ccugacaccc ggcaagaccc ugggugugaa ccagcggggc gagcugugcg ugcgggggcc	1200
	gaugaucaug agcggcuacg ugaacaaccc ggaggccacc aacgcccua ucgacaagga	1260
40	cggcuggcug cacagcggcg acaucgccua cugggacgag gacgagcacu ucucaucgu	1320
	cgaccggcug aagucgcuga ucaaguacaa gggcuaccag guggcgccgg ccgagcugga	1380
45	gagcauccug cuccagcacc ccaacaucuu cgacgccggc guggccgggc ugccggacga	1440
	cgacgccggc gagcugccgg ccgcguggu ggugcuggag cacggcaaga ccaugacgga	1500
	gaaggagauc gucgacuacg uggccagcca ggugaccacc gccaagaagc ugcggggcgg	1560
50	cgugguguuc guggacgagg ucccgaagg ccugaccggg aagcucgacg cccggaagau	1620
	ccgcgagauc cugaucaagg ccaagaagg cggcaagauc gccguguaag acuaguuaa	1680
55	agacugacua gcccgauggg ccucccaacg ggcccuccuc ccuuccuugc accgagauua	1740
	auaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	1800
	aaaaaaaaugca ucaauuccua cacgugaggc gcugugauuc ccuaucccc ucauucccu	1860
60	auacauuagc acagcgccau ugcauguagg aauu	1894

<210> 50
<211> 1909

ES 2 812 280 T3

	<212>	ARN	
	<213>	artificial	
	<220>		
5	<223>	secuencia de ARNm de ppLuc(GC)-ag-A64-PolioCL	
	<400>	50	
		gggagaaagc uugaggaugg aggacgcaa gaacaucaag aagggcccgg cgcccuucia	60
10		cccgcuggag gacgggaccg ccggcgagca gcuccacaag gccaugaagc gguacgccu	120
		ggugccgggc acgaucgccu ucaccgacgc ccacaucgag gucgacauca ccuacgcgga	180
		guacuucgag augagcgugc gccuggccga ggccaugaag cgguacggcc ugaacaccaa	240
15		ccaccggauc guggugugcu cggagaacag ccugcaguuc uucaugccgg ugcuggggcg	300
		ccucucauc ggcguggccg ucgcccggc gaacgacauc uacaacgagc gggagcugcu	360
20		gaacagcaug gggaucagcc agccgaccgu gguguucgug agcaagaagg gccugcagaa	420
		gauccugaac gugcagaaga agcugcccau cauccagaag aucaucauca uggacagcaa	480
		gaccgacuac caggguucc agucgaugua cacguucgug accagccacc ucccgcggg	540
25		cuucaacgag uacgacuucg ucccggagag cuucgaccgg gacaagacca ucgcccugau	600
		caugaacagc agcggcagca ccggccugcc gaagggggug gccugccgc accggaccgc	660
30		cugcugcgc uucucgcacg cccgggaccc caucuucggc aaccagauca ucccggacac	720
		cgccauccug agcguugguc cguuccacca cggcuucggc auguucacga ccugggcua	780
		ccucaucugc ggcuuaccggg ugguccugau guaccgguuc gaggaggagc uguuccugc	840
35		gagccugcag gacuacaaga uccagagcgc gcugcucgug ccgaccugc ucagcuucu	900
		cgccaagagc acccugaucg acaaguacga ccugucgaac cugcacgaga ucgccagcg	960
40		gggcgccccg cugagcaagg aggugggcca ggccguggcc aagcgguucc accuccggg	1020
		cauccgccag ggcuaaggcc ugaccgagac cacgagcgcg auccugauca cccccgagg	1080
		ggacgacaag ccgggcgccc ugggcaaggu ggucccguuc uucgaggcca agguggugga	1140
45		ccuggacacc ggcaagacc ugggcgugaa ccagcggggc gagcugugcg ugcggggg	1200
		gaugaucaug agcggcuacg ugaacaacc ggaggccacc aacgcccua ucgacaagga	1260
50		cggcuggcug cacagcggcg acaucgcca cugggacgag gacgagcacu ucuucaucg	1320
		cgaccggcug aagucgcuga ucaaguacaa ggcuaaccag guggcgccgg ccgagcugga	1380
		gagcauccug cuccagcacc ccaacaucu cgacgccggc guggccgggc ugccggacga	1440
55		cgacgccggc gagcugccgg ccgcguggu ggugcuggag cacggcaaga ccaugacgga	1500
		gaaggagauc gucgacuacg uggccagcca ggugaccacc gccagaagc ugcggggcg	1560
60		cgugguguuc guggacgagg ucccgaagg ccugaccggg aagcucgacg cccggaagau	1620
		ccgcgagauc cugaucaagg ccaagaagg cggcaagauc gccguguaag acuaguuaa	1680
		agacugacua gccgauggg ccucccaacg gcccuccuc ccucuuugc accgagaua	1740

ES 2 812 280 T3

	auaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa	1800
	aaaaaaaaugca ucaauucuaa aacagcucug gguuguuacc caccagag gccacgugg	1860
5	cgguaguac uccgguauug cgguacccuu guacgccugu uuuagaauu	1909
10	<210> 51 <211> 1841 <212> ARN <213> artificial	
15	<220> <223> secuencia de ARNm de ppLuc(GC)-ag-A64-G30	
	<400> 51 gggagaaagc uugaggauug aggacgcaa gaacaucaag aagggcccgg cgccuucua	60
20	cccgcuggag gacgggaccg ccggcgagca gcuccacaag gccaugaagc gguacgccu	120
	ggugccgggc acgauccgu ucaccgacgc ccacaucgag gucgacauc ccuacgcgga	180
25	guacuucgag augagcgugc gccuggccga ggccaugaag cgguacggcc ugaacaccaa	240
	ccaccggauc guggugugcu cggagaacag ccugcaguuc uucaugccgg ugcugggcgc	300
	ccucuucauc ggcguggccg ucgcccggc gaacgacauc uacaacgagc gggagcugcu	360
30	gaacagcaug gggauccagc agccgaccgu gguguucgug agcaagaag gccugcagaa	420
	gauccugaac gugcagaaga agcugcccau cauccagaag aucaucauca uggacagcaa	480
35	gaccgacuac caggguuucc agucgaugua cacguucgug accagccacc ucccgcggg	540
	cuucaacgag uacgacuucg ucccggagag cuucgaccgg gacaagacca ucgcccugau	600
	caugaacagc agcggcagca ccggccugcc gaagggggug gccugccgc accggaccgc	660
40	cugcgugcgc uucucgcacg cccgggaccc caucuucggc aaccagauca ucccggacac	720
	cgcauccug agcguugguc cguuccacca cggcuucggc auguucacga ccugggcua	780
45	ccucaucugc ggcuuccggg ugguccugau guaccgguuc gaggaggagc uguuccugcg	840
	gagccugcag gacuacaaga uccagagcgc gcugcugug ccgaccugc ucagcuucuu	900
	cgccaagagc acccugaucg acaaguacga ccugucgaac cugcacgaga ucgccagcgg	960
50	gggcgccccg cugagcaag aggugggcca ggccugggc aagcguuucc accuccggg	1020
	cauccgccag ggcuacggcc ugaccgagac cacgagcgcg auccugauca cccccaggg	1080
55	ggacgacaag ccgggcgccc ugggcaaggu ggucccguuc uucgaggcca agguggugga	1140
	ccuggacacc ggcaagacc ugggugugaa ccagcggggc gagcugugcg ugcggggcc	1200
	gaugaucaug agcggcuacg ugaacaaccc ggaggccacc aacgcccua ucgacaagga	1260
60	cggcuggcug cacagcggcg acaucgccua cugggacgag gacgagcacu ucuucaucgu	1320
	cgaccggcug aagucgcuga ucaaguacaa gggcuaccag guggcggcg ccgagcugga	1380
	gagcauccug caccagcacc ccaacaucuu cgacgccggc guggccgggc ugccggacga	1440

ES 2 812 280 T3

	cgacgccggc gacgugcccg ccgcguggu ggugcuggag cacggcaaga ccaugacgga	1500
5	gaaggagauc gucgacuacg uggccagcca ggugaccacc gccaagaagc ugcggggcgg	1560
	cgugguguuc guggacgagg ucccgaagg ccugaccggg aagcucgacg cccggaagau	1620
	ccgcgagauc cugaucaagg ccaagaagg cggaagauc gccguguaag acuaguuaa	1680
10	agacugacua gcccgauggg ccucccaacg ggcccuccuc cccuccuugc accgagauua	1740
	auaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	1800
15	aaaaaaaaugca uggggggggg gggggggggg gggggggggg g	1841
	<210> 52	
	<211> 1841	
20	<212> ARN	
	<213> artificial	
	<220>	
	<223> secuencia de ARNm de ppLuc(GC)-ag-A64-U30	
25	<400> 52	
	gggagaaagc uugaggauug aggacgcaa gaacaucaag aagggcccg cgccuucua	60
	cccgucggag gacgggaccg ccggcgagca gcuccacaag gccaugaagc gguacgccu	120
30	ggugccgggc acgaucgccu ucaccgacgc ccacaucgag gucgacauc cuacgcgga	180
	guacuucgag augagcgugc gccuggccga ggcaugaag cgguacggcc ugaacaccaa	240
35	ccaccggauc guggugugcu cggagaacag ccugcaguuc uucaugccgg ugcuggggc	300
	ccucuucauc ggcguggccg ucgcccggc gaacgacauc uacaacgagc gggagcugcu	360
	gaacagcaug gggauacgcc agccgaccgu gguguucgug agcaagaagg gccugcagaa	420
40	gauccugaac gugcagaaga agcugccau cauccagaag aucaucaua uggacagcaa	480
	gaccgacuac caggguucc agucgaugua cacguucgug accagccacc ucccggcgg	540
45	cuucaacgag uacgacuucg ucccggagag cuucgaccgg gacaagacca ucgcccugau	600
	caugaacagc agcggcagca ccggccugcc gaagggggug gccugccgc accggaccgc	660
	cugcgugcgc uucucgcacg cccgggacc caucuucggc aaccagauca ucccggacac	720
50	cgccauccug agcguggugc cguuccacca cggcuucggc auguucacga cccugggcu	780
	ccuacucgc ggcuccggg ugguccugau guaccguuc gaggaggagc uguuccugc	840
55	gagccugcag gacuacaaga uccagagcgc gcugcucgug ccgaccugc ucagcuucu	900
	cgccaagagc acccugaucg acaaguacga ccugucgaac cugcacgaga ucgcccggg	960
	gggcgccccg cugagcaagg aggugggcga ggccguggcc aagcggaucc accuccggg	1020
60	cauccgccag ggcucaggcc ugaccgagac cacgagcgcg auccugauca cccccgagg	1080
	ggacgacaag ccgggcgccg ugggcaaggu gguccguuc uucgaggcca agguggugga	1140
	ccugacacc ggcaagacc ugggcugaa ccagcgggc gagcugugc ugcggggcc	1200

ES 2 812 280 T3

	gaugaucaug agcggcuacg ugaacaaccc ggaggccacc aacgcccua ucgacaagga	1260
5	cggcuggcug cacagcggcg acaucgccua cugggacgag gacgagcacu ucuucaucgu	1320
	cgaccggcug aagucgcuga ucaaguacaa gggcuaccag guggcgccgg ccgagcugga	1380
	gagcauccug cuccagcacc ccaacaucuu cgacgccggc guggccgggc ugccggacga	1440
10	cgacgccggc gagcugccgg ccgcgguugu ggugcuggag cacggcaaga ccaugacgga	1500
	gaaggagauc gucgacuacg uggccagcca ggugaccacc gccaagaagc ugcggggcgg	1560
15	cgugguguuc guggacgagg ucccgaagg ccugaccggg aagcucgacg cccggaagau	1620
	ccgcgagauc cugaucaagg ccaagaagg cggaagauc gccguguaag acuaguuaa	1680
	agacugacua gcccgaugg ccucccaacg ggcccuccuc ccucuuugc accgagaua	1740
20	aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa	1800
	aaaaaaaaugca uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu u	1841
25	<210> 53	
	<211> 1857	
	<212> ARN	
	<213> artificial	
30	<220>	
	<223> secuencia de ARNm de ppLuc(GC)-ag-A64-SL	
	<400> 53	
35	gggagaaagc uagaggauug aggacgcaa gaacaucaag aagggcccgg cgccuucua	60
	cccgcuggag gacgggaccg ccggcgagca gcuccacaag gccaugaagc gguacgccu	120
	ggugccgggc acgaucccu ucaccgacgc ccacaucgag gucgacauc cuacgcgga	180
40	guacuucgag augagcugc gccuggccga ggccaugaag cgguacggcc ugaacaccaa	240
	ccaccggauc guggugugcu cggagaacag ccugcaguuc uucaugccgg ugcugggcgc	300
	ccucucauc ggcguggccg ucgcccggc gaacgacauc uacaacgagc gggagcugcu	360
45	gaacagcaug gggaucaacc agccgaccgu gguguucgug agcaagaag gccugcagaa	420
	gauccugaac gugcagaaga agcugccau cauccagaag aucaucauca uggacagcaa	480
50	gaccgacuac caggguucc agucgaugua cacguucgug accagccacc ucccgcggg	540
	cuucaacgag uacgacuucg ucccggagag cuucgaccgg gacaagacca ucgcccugau	600
	caugaacagc agcggcagca ccggccugcc gaagggggug gccugccgc accggaccgc	660
55	cugcgugcgc uucucgcacg cccgggaccc caucuucggc aaccagauca ucccggacac	720
	cgccauccug agcguggugc cguuccacca cggcuucggc auguucacga cccugggcu	780
60	ccucaucugc ggcuuccggg ugguccugau guaccguuc gaggaggagc uguuccugc	840
	gagccugcag gacuacaaga uccagagcgc gcugcucgug ccgaccuugu ucagcuucu	900
	cgccaagagc acccugaucg acaaguacga ccugucgaac cugcacgaga ucgccagcgg	960

ES 2 812 280 T3

	gggcgccccg cugagcaagg agggugggcga ggccguggcc aagcgguucc accucccggg	1020
5	cauccgccag ggcuacggcc ugaccgagac caccgagcgc auccugauca cccccgaggg	1080
	ggacgacaag ccgggocgocg ugggcaaggu ggucccguuc uucgaggcca aggguggugga	1140
	ccuggacacc ggcaagaccc ugggocugaa ccagcggggc gagcugugcg ugcggggggc	1200
10	gaugaucaug agcggcuacg ugaacaaccc ggaggccacc aacgcccua ucgacaagga	1260
	cggcuggcug cacagcggcg acaucgcca cugggacgag gacgagcacu ucuucaucgu	1320
15	cgaccggcug aagucgcuga ucaaguacaa gggcuaccag guggcggcg cagagcugga	1380
	gagcauccug cuccagcacc ccaacaucuu cgacgcccgc guggccgggc ugccggacga	1440
	cgacgcccgc gagcugcccg ccgcgguugu ggugcuggag cacggcaaga ccaugacgga	1500
20	gaaggagauc gucgacuacg uggccagcca ggugaccacc gccaagaagc ugcggggcgg	1560
	cgugguguuc guggacgagg uccgaaggg ccugaccggg aagcucgacg cccggaagau	1620
25	ccgcgagauc cugaucaagg ccaagaaggg cggcaagauc gccguguaag acuaguuaa	1680
	agacugacua gcccgauggg ccucccaacg ggcccuccuc ccucuuugc accgagaua	1740
	auaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	1800
30	aaaaaaaaugca uuauggcggc cguguccacc acggauauca ccguggugga cgcgcc	1857
	<210> 54	
	<211> 1838	
35	<212> ARN	
	<213> artificial	
	<220>	
40	<223> ppLuc(GC)-ag-A64-N32	
	<400> 54	
	gggagaaagc uugaggaugg agggacgcaa gaacaucaag aagggcccgg cgcccuucua	60
45	cccgcuggag gacgggaccg ccggcgagca gcuccacaag gccaugaagc gguacgccc	120
	ggugcccggc acgaucgcu ucaccgacgc ccacaucgag gucgacauc ccaucgagg	180
	guacuucgag augagcguvc gccuggccga ggccaugaag cgguacggcc ugaacaccaa	240
50	ccaccggauc guggugugcu cggagaacag ccugcaguuc uucaugccgg ugcuggggc	300
	ccucucauc ggcguggccg ucgcccggc gaacgacauc uacaacgagc gggagcugcu	360
	gaacagcaug gggauacgac agccgaccgu gguguucgug agcaagaagc gccugcagaa	420
55	gauccugaac gugcagaaga agcugcccau cauccagaag aucaucauca uggacagcaa	480
	gaccgacuac caggguucc agucgaugua cacguucgug accagccacc ucccggcgg	540
60	cuucaacgag uacgacuucg ucccggagag cuucgaccgg gacaagacca ucgcccugau	600
	caugaacagc agcggcagca ccggccugcc gaagggggug gccugccgc accggaccgc	660
	cugcugcgc uucucgacg cccgggacc caucuucggc aaccagauca ucccggacac	720

ES 2 812 280 T3

	cgccauccug agcguggugc cguuccacca cggcuucggc auguucacga ccuugggcu	780
5	ccucaucugc ggcuuccggg ugguccugau guaccgguuc gaggaggagc uguuccugcg	840
	gagccugcag gacuacaaga uccagagcgc gcugcucgug ccgaccucgu ucagcuucu	900
	cgccaagagc acccugaucg acaaguacga ccugucgaac cugcacgaga ucgccagcgg	960
10	gggcgcccc cugagcaagg aggugggcga ggccguggcc aagcgguucc accuccggg	1020
	cauccgccag ggcuacggcc ugaccgagac cacgagcgcg auccugauca cccccgagg	1080
15	ggacgacaag ccgggcgccc ugggcaaggu gguccguuc uucgaggcca agguggugga	1140
	ccuggacacc ggcaagacc ugggcgugaa ccagcggggc gagcugugcg ugcggggcc	1200
	gaugaucaug agcggcuacg ugaacaacc ggaggccacc aacgccuca ucgacaagga	1260
20	cggcuggcug cacagcggcg acaucgccua cugggacgag gacgagcacu ucucaucgu	1320
	cgaccggcug aagucgcuga ucaaguaca gggcuaccag guggcggcg ccgagcugga	1380
25	gagcauccug cuccagcacc ccaacaucuu cgacgccggc guggccgggc ugccggacga	1440
	cgacgccggc gagcugcccg ccgcguggu ggucguggag cacggcaaga ccaugacgga	1500
	gaaggagauc gucgacuacg uggccagcca ggugaccacc gccagaagc ugcggggcg	1560
30	cgugguguuc guggacgagg uccgaagg ccugaccggg aagcucgacg cccggaagau	1620
	ccgcgagauc cugaucaagg ccaagaagg cggcaagauc gccguguaag acuaguuaa	1680
35	agacugacua gcccgaugg ccucccaacg ggcccuccc cccuccuugc accgagaua	1740
	aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	1800
	aaaaaaaaugca uccccucua gacaauugga auuccaua	1838
40	<210> 55	
	<211> 1902	
	<212> ARN	
	<213> artificial	
45	<220>	
	<223> secuencia de ARNm de HA (H1N1/PR8) (GC)-ag-A64-C30	
50	<400> 55	
	gggagaaagc uuaccaugaa ggccaaccug cucgugcugc ugugcgccu cgcggccgc	60
	gacgccgaca ccaucugcau cggcuaccac gccacaaca gcaccgacac ggucgacacc	120
55	gugcuggaga agaacgugac cgucaccac uccgugaacc ugcucgagga cagccacaac	180
	gggaagcugu gccggcugaa gggcaucgcg cccuccagc uggggaagug caacaucgcc	240
	ggcuggcugc ucgggaacc ggagugcgac cccucgugc ccgugcguc cuggagcuac	300
60	aucgucgaga cgccaacuc cgagaacggc aucugcuacc cggcgacuu caucgacuac	360
	gaggagcucc gggagcagcu gagcuccgug agcuccuucg agcgcuucga gauuuccc	420
	aaggagagcu ccuggcccaa ccacaacacc aacgggguga ccgcccug cagccagag	480

ES 2 812 280 T3

	ggcaagucca gcuucuaccg gaaccugcuc uggcugaccg agaaggagg guccuacccc	540
5	aagcugaaga acagcuacgu caacaagaag ggcaaggagg ugcucgugcu gugggggauc	600
	caccacccgc ccaacuccaa ggagcagcag aaccuguacc agaacgagaa cgcuacguc	660
	agcgugguga cguccaacua caaccgccg uucacccccg agaucgccga gcgccccaaag	720
10	guccgggacc agggccggcg caugaacuac uacuggacc uccugaagcc gggcgacacc	780
	aucaucuucg aggccaacgg gaaccugauc gccccgaugu acgcuucgc ccucagccg	840
15	ggcuucggga gcggcaucau cacguccaac gccagcaugc acgagugcaa caccaagugc	900
	cagaccccc ugggcgccau caacuccagc cugccuacc agaacaucca cccggugacc	960
	aucggggagu gccccagua cgugcgucc gccaaagucc ggauggucac gggccugcg	1020
20	aacaacccca gcauccaguc ccggggcgug uucggcgcg ucgccggguu caucgagggc	1080
	ggcuggaccg ggaugaucga cggcugguac ggguaccacc accagaacga gcagggcagc	1140
	ggguacgccg ccgaccagaa guccaccag aacgccauca acggcaucac caacaaggug	1200
25	aacacgguga ucgagaagau gaacauccag uucaccgccg ucgcaagga guucaacaag	1260
	cucgagaagc gcauggagaa ccugaacaag aagguggacg acggguuccu ggacaucugg	1320
30	accuacaacg ccgagcuccu ggugcugcuc gagaacgagc ggaccucgga cuuccacgac	1380
	agcaacguca agaaccugua cgagaaggug aagucccagc ucaagaaca cgccaaggag	1440
	aucggcaacg ggugcuucga guucuaccac aagugcgaca acgagugcau ggagagcugc	1500
35	cgcaacggca cguacgacua cccaaguac uccgaggaga gcaagcugaa ccgggagaag	1560
	guggacgggg ugaagcugga guccaugggc aucuaccaga uccucgccau cuacagcacc	1620
40	gucgccucca gccuggugcu gcuggugucc cucggcgcg ucagcuucug gaugugcagc	1680
	aacggguccc ugcagugccg caucugcauc ugaccacuag uuuaagacu gacuagccc	1740
	augggccucc caacgggcc uccucccuc cuugcaccga gauuaaaaa aaaaaaaaa	1800
45	aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa auauucccc	1860
	cccccccc cccccccc ccccucug acaauuggaa uu	1902
50	<210> 56	
	<211> 1915	
	<212> ARN	
	<213> artificial	
55	<220>	
	<223> secuencia de ARNm de HA (H1N1/PR8) (GC)-ag-A64-C30-histonaSL	
	<400> 56	
60	gggagaaagc uuaccaugaa ggccaaccug cucgugcugc ugugcgccu cgcgccgcc	60
	gacgccgaca ccaucugcau cggcuaccac gccacaaca gcaccgacac ggucgacacc	120
	gugcuggaga agaacgugac cgucacccac uccgugaacc ugcucgagga cagccacaac	180

ES 2 812 280 T3

	gggaagcugu gccggcugaa gggcaucgcg cccuccagc uggggaagug caacaucgcc	240
5	ggcuggcugc ucgggaacct ggagugcgac cccugcugc ccgugcguc cuggagcuac	300
	aucgucgaga cgcccaacuc cgagaacggc aucugcuacc cgggcgacuu caucgacuac	360
	gaggagcucc gggagcagcu gagguccgug agcuccuucg agcgcuucga gaucuucccc	420
10	aaggagagcu ccuggcccaa ccacaacacc aacgggguga ccgccgccug cagccacgag	480
	ggcaagucca gcuucuaccg gaaccugcuc uggcugaccg agaaggagg guccuacccc	540
15	aagcugaaga acagcuacgu caacaagaag ggcaaggagg ugcucgugcu gugggggauc	600
	caccacccgc ccaacuccaa ggagcagcag aaccuguacc agaacgagaa cgcguacguc	660
	agcuggguga cguccaacua caaccgccg uucaccccc agaucgccga gcgccccaa	720
20	guccgggacc aggccggccg caugaacuac uacuggacc uccugaagcc gggcgacacc	780
	aucaucuucg aggccaacgg gaaccugauc gcccgaugu acgguucgc ccucagccg	840
25	ggcuucggga gcggcaucau cacguccaac gccagcaugc acgagugcaa caccaagugc	900
	cagaccccc ugggcgccau caacuccagc cugccuacc agaacauc caaccgggacc	960
	aucggggagu gcccgaagua cgugcgucg ccaagcucc ggauggucac gggccugcg	1020
30	aacaaccca gcauccaguc ccggggcgug uucggcgca ucgccggguu caucgagggc	1080
	ggcuggaccg ggaugaucga cggcugguac gguaccacc accagaacga gcagggcagc	1140
35	ggguacgcc cgcaccagaa guccaccag aacgccaua acggcaucac caacaaggug	1200
	aacacgguga ucgagaagau gaacaucag uucaccgccg ucggcaagga guucaacaag	1260
	cucgagaagc gcauggagaa ccugaacaag aagguggacg acggguuccu ggacaucgg	1320
40	accuacaacg ccgagcuccu ggugcugcuc gagaacgagc ggaccucgga cuuccacgac	1380
	agcaacguca agaaccugua cgagaaggug aagucccagc ucaagaaca cgccaaggag	1440
45	aucggcaacg ggugcuucga guucuaccac aagugcgaca acgagugcau ggagagcguc	1500
	cgcaacggca cguacgacua cccaaguac uccgaggaga gcaagcugaa ccgggagaag	1560
	guggacgggg ugaagcugga guccauggc aucuaccaga uccucgccau cuacagcacc	1620
50	gucgccucca gccuggugcu gcuggugucc cucggcgca ucagcuucug gaugugcagc	1680
	aacggguucc ugcagugccg caucugcauc ugaccacuag uuuaagacu gacuagccc	1740
55	augggccucc caacgggcc uccucccuc cuugcaccga gauuaaaaa aaaaaaaaa	1800
	aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa augcaucucc	1860
	cccccccc cccccccc ccccccaaa ggcucuuuc agagccacca gaauu	1915
60		

REIVINDICACIONES

1. Secuencia de ácido nucleico que comprende o codifica en la dirección 5' → 3' para:

- 5 i) – una región codificante, que codifica para al menos un péptido o proteína;
 – al menos un tallo-bucle de histona, y
 – una secuencia poli(A),
 o
 10 ii) – una región codificante, que codifica para al menos un péptido o proteína;
 – una secuencia poli(A), y
 – al menos un tallo-bucle de histona,

donde el al menos tallo-bucle de histona en i) o ii) se selecciona de las secuencias SEQ IN NO:27 o SEQ ID NO: 42 y

15 donde dicho péptido o proteína comprende un antígeno patogénico o un fragmento del mismo con una longitud de al menos seis residuos aminoácidos y tiene la propiedad antigénica específica del péptido o proteína nativa de longitud completa,

20 donde el antígeno patogénico está asociado a una infección bacteriana, una infección viral o una infección protozoaria y donde el antígeno patogénico se selecciona de un antígeno patogénico del grupo consistente en

- Virus sincitial respiratorio (RSV),
- Virus de la inmunodeficiencia humana (VIH),
- Virus del herpes simplex (HSV),
- Virus de papiloma humano (HPV),
- 25 • Virus de parainfluenza humana (HPIV),
- Virus del Dengue,
- Virus de la Hepatitis B (HBV),
- Virus de Influenza,
- Virus de fiebre amarilla,
- 30 • Virus de la rabia,
- Plasmodium,
- Cytomegalovirus (CMV),
- Staphylococcus,
- Mycobacterium tuberculosis,
- 35 • Chlamydia trachomatis,
- Rotavirus,
- Metapneumovirus Humano (hMPV),
- Virus de fiebre hemorrágica de Crimea-Congo (CCHF),
- Virus de ébola,
- 40 • Henipavirus,
- Norovirus,
- Virus Lassa,
- Coronavirus,
- Rinovirus,
- 45 • Flavivirus,
- Virus de fiebre Rift Valley y
- Virus de la enfermedad de manos, pies y boca.

2. Secuencia de ácido nucleico según la reivindicación 1, donde el antígeno patogénico se selecciona del grupo consistente en:

- 50 • Antígeno p24 de VIH, proteínas de envoltura de VIH (Gp120, Gp41, Gp160), poliproteína GAG, proteína del factor negativo Nef, trans-activador de transcripción Tat si la enfermedad infecciosa en VIH, preferentemente una infección con el virus de inmunodeficiencia humana;
- 55 • proteína de cápside C, proteína premembrana prM, proteína membrana M, proteína de envoltura E (dominio I, dominio II, dominio II), proteína NS1, proteína NS2A, proteína NS2B, proteína NS3, proteína NS4A, proteína 2K, proteína NS4B, proteína NS5, si la enfermedad infecciosa es fiebre del Dengue, preferentemente una infección con el virus del Dengue (DEN-1, DEN-2, DEN-3 y DEN-4)—Flavivirus;

- antígeno superficial de hepatitis B HBsAg, antígeno núcleo de Hepatitis B HbcAg polimerasa, proteína Hbx, proteína superficial media preS2, proteína superficial L, proteína larga S, proteína viral VP1, proteína viral VP2, proteína viral VP3, proteína viral VP4, si la enfermedad infecciosa es Hepatitis B, preferentemente una infección con el virus de la Hepatitis B (HBV);
- 5 • Hemaglutinina (HA), Neuraminidasa (NA), Nucleoproteína (NP), proteína M1, proteína M2, proteína NS1, proteína NS2 (proteína NEP: proteína de exportación nuclear), proteína PA, proteína PB1 (proteína de polimerasa básica 1), proteína PB1-F2 y proteína PB2 (familia Ortomixoviridae, virus de la gripe (flu));
- 10 • nucleoproteína N, proteína estructural grande L, fosfoproteína P, proteína de matriz M, glucoproteína G, si la enfermedad infecciosa es la rabia, preferentemente una infección con virus de la rabia;
- poliproteína genómica, proteína E, proteína M, proteína C de cápside, proteasa NS3, proteína NS1, proteína NS2A, proteína AS2B, proteína NS4A, proteína NS4B, proteína NS5, si la enfermedad infecciosa es fiebre amarilla, preferentemente una infección por el virus de la fiebre amarilla;
- 15 • proteína TRAP anónima relacionada con trombospondina, proteína superficial de SSP2 Sporozoite 2, antígeno de membrana apical 1 AMA1, antígeno de membrana rhoptry RMA1, antígeno de repetición básica ácida ABRA, proteína transversal celular PF, proteína Pvs25, proteína superficial de merozoito 1 MSP-1, proteína superficial de merozoito 2 MSP-2, antígeno superficial de eritrocitos anillo-infectados antígeno de etapa RESALiver 3 LSA-3, proteína Eba-175, antígeno 5 para repetición de serina SERA-5, proteína de circumsporozoitos CS, proteína 3 superficial de merozoito MSP3, proteína superficial 8 de merozoitos MSP8, enolasa PF10, proteína de hepatocitos-eritrocitos de 17 kDa HEP17, proteína con membrana 1 de eritrocitos EMP1, proteína superficial 4/5 de la proteína Kbetamerozoitos MSP 4/5, proteína de choque térmico Hsp90, proteína rica en glutamato GLURP, proteína superficial 4 de merozoitos MSP-4, proteína STARP, precursor antigénico relacionado con la proteína de circumsporozoitos CRA (Plasmodium genus, Malaria);
- 20
- 25
- 3. Secuencia de ácido nucleico según la reivindicación 1, donde el antígeno patogénico se selecciona del grupo consistente en:
 - proteína de fusión F, hemaglutinina-neuramidasa HN, glucoproteína G, proteína matriz M, fosfoproteína P, nucleoproteína N, polimerasa L, si la enfermedad infecciosa es la infección por el virus de la parainfluenza humana, de preferencia una infección con los virus de parainfluenza Humanos (HPIV);
 - 30 • proteína de fusión F, nucleoproteína N, proteína de matriz M, proteína de matriz M2-1, proteína de matriz M2-2, fosfoproteína P, proteína hidrofóbica pequeña SH, glucoproteína G de superficie mayor, polimerasa L, proteína 1 no estructural NS1, proteína 2 no estructural NS2, si la enfermedad infecciosa es una infección por el virus sincitial respiratorio, preferentemente una infección por el virus sincitial respiratorio (RSV);
 - 35 • glucoproteína L UL1, uracil-ADN glucosilasa UL2, proteína UL3, proteína UL4, proteína ADN de replicación UL5, proteína portal UL6, proteína para maduración de viriones UL7, ADN helicasa UL8, proteína de unión al origen de replicación UL9, glucoproteína M UL10, proteína UL11, exonucleasa alcalina UL12, proteína quinasa de serina-treonina UL13, proteína tegumentaria UL14, terminasa UL15, proteína tegumentaria UL16, proteína UL17, proteína con cápside VP23 UL18, proteína con cápside principal VP5 UL19, proteína con membrana UL20, proteína tegumentaria UL21, Glucoproteína H (UL22), Timidina quinasa UL23, proteína UL24, proteína UL25, proteína con cápside P40 (UL26, VP24, VP22A), glucoproteína B (UL27), proteína ICP18.5 (UL28), proteína principal de unión a ADN ICP8 (UL29), ADN polimerasa UL30, proteína de matriz nuclear UL31, glucoproteína con envoltura UL32, proteína UL33, proteína con membrana nuclear interna UL34, proteína con cápside VP26 (UL35), proteína tegumentaria larga UL36, proteína de ensamble cápside UL37, proteína VP19C (UL38), ribonucleótido reductasa (subunidad Largo) UL39, ribonucleótido reductasa (subunidad pequeña) UL40, proteína tegumentaria/proteína VHS para interrupción en el huésped de viriones (UL41), factor de procesamiento de ADN polimerasa UL42, proteína con membrana UL43, glucoproteína C (UL44), proteína con membrana UL45, proteína tegumentarias VP11/12 (UL46), proteína tegumentaria VP13/14 (UL47), proteína para maduración de viriones VP16 (UL48, Alfa-TIF), proteína con envoltura UL49, dUTP difosfatasa UL50, proteína tegumentaria UL51, proteína compleja de ADN helicasa/primasa UL52, glucoproteína K (UL53), proteína para regulación transcripcional IE63 (ICP27, UL54), proteína UL55, proteína UL56, proteína de replicación viral ICP22 (IE68, US1), proteína US2, proteína quinasa de serina/treonina US3, glucoproteína G (US4), glucoproteína J (US5), glucoproteína D (US6), glucoproteína I (US7), glucoproteína E (US8), proteína tegumentaria US9, proteína con cápside/tegumentaria US10, proteína Vmw21 (US11), proteína ICP47 (IE12, US12), activador transcriptional principal ICP4 (IE175, RS1), E3 ubiquitina ligasa ICP0 (IE110), proteína 1 latencia-relacionada LRP1, proteína 2 latencia-relacionada LRP2, factor de neurovirulencia RL1 (ICP34.5), transcripción LAT latencia-asociada (Virus de herpes simplex 1 y 2 (HSV-1 y HSV-2), Herpes simplex);
 - 40
 - 45
 - 50
 - 55
 - 60

- proteína de replicación E1, proteína reguladora E2, proteína E3, proteína E4, proteína E5, proteína E6, proteína E7, proteína E8, proteína con cápside mayor L1, proteína con cápside menor L2 (papilomavirus humano (HPV), infección por papilomavirus humano (HPV));
 - 5 • antígeno pp65, proteína de membrana pp15, proteína tegumental cápside-proximal pp150, proteína M45, ADN polimerasa UL54, helicasa UL105, glucoproteína gM, glucoproteína gN, glucoproteína H, glucoproteína B gB, proteína UL83, proteína UL94, proteína UL99 (Citomegalovirus (CMV), infección por Citomegalovirus);
 - 10 • proteína IsdB de unión hemo-hierro, colágeno adhesina Cna, factor A de aterronamiento CifA, proteína MecA, proteína de unión A fibronectina FnbA, enterotoxina tipo A EntA, enterotoxina tipo B EntB, enterotoxina tipo C EntC1, enterotoxina tipo C EntC2, enterotoxina tipo D EntD, enterotoxina tipo E EntE, toxina-1 de síndrome de choque tóxico TSST-1, Stafiloquinasa, proteína 2a de unión penicilina PBP2a (MecA), antígeno secretor SssA (Staphylococcus genus, por ejemplo aureus, infección por estafilococos);
 - 15 • poliproteína genómica, polimerasa 3D, proteína con cápside viral VP1, proteína con cápside viral VP2, proteína con cápside viral VP3, proteína con cápside viral VP4, proteasa 2A, proteasa 3C (Rhinovirus, infección por Rhinovirus);
 - 20 • proteína ESAT-6 (EsxA), antígeno filtrado EsxB de 10 kDa, antígeno secretado 85-B FBPB, proteína A de unión a fibronectina FbpA (Ag85A), serina proteasa PepA, proteína PPE18 de la familia PPE, proteína D de unión a fibronectina FbpD, proteína inmunogénica MPT64, proteína secretada MPT51, catalasa-peroxidasa-peroxinitritasa T KATG, lipoproteína PSTS3 de unión a fosfato periplásmico (PBP-3, Phos-1), hemaglutinina Hbha de unión a heparina hierro-regulada, proteína PPE14 de la familia PPE, proteína PPE68 de la familia PPE, proteína Mtb72F, proteína Apa, proteína inmunogénica MPT63, lipoproteína PSTS1 de unión a fosfato periplásmico (PBP-1), chaperón molecular DnaK, lipoproteína Mpt83 de superficie celular, lipoproteína P23, proteína permeasa pstA del sistema de transporte de fosfato, antígeno de 14 kDa, proteína C de unión a fibronectina FbpC1, alanina deshidrogenasa TB43, glutamina sintetasa 1, proteína ESX-1, proteína CFP10, proteína TB10.4, proteína MPT83, proteína MTB12, proteína MTB8, proteínas similares a Rpf, proteína MTB32, proteína MTB39, cristalina, proteína de choque térmico HSP65, proteína PST-S (usualmente tuberculosis Mycobacterium, Tuberculosis);
 - 25 • nucleoproteína N, polimerasa L, proteína de matriz Z, glucoproteína GP (Lassa virus, fiebre de Lassa);
 - 30 • proteínas spike S, proteínas con envoltura E, proteínas de membrana M, proteínas nucleocápside N (por lo general rinovirus y coronavirus);
 - 35 • glucoproteína GP, nucleoproteína NP, proteína matriz menor VP24, proteína matriz mayor VP40, activador de transcripción VP30, cofactor de polimerasa VP35, polimerasa L de ARN (Ebolavirus (EBOV), fiebre hemorrágica de Ebola);
 - 40 • proteína con envoltura Gc, proteína con envoltura Gn, proteínas nucleocápside (virus de fiebre hemorrágica Crimean-Congo, fiebre hemorrágica Crimean-Congo (CCHF));
 - glucoproteína G, proteína matriz M, nucleoproteína N, proteína de fusión F, polimerasa L, proteína W, proteína C, fosfoproteína P, proteína no estructural V (virus Henipavirus (Hendra virus Nipah), infecciones Henipavirus);
 - glucoproteína GP de envoltura, polimerasa L, nucleoproteína N, proteína NSS no estructural (virus de fiebre Rift Valley, fiebre de Rift Valley (RVF)).
4. Secuencia de ácido nucleico según la reivindicación 1, donde el antígeno patogénico se selecciona del grupo consistente en:
- 45 • proteína 6 no estructural NS6, proteína 2 no estructural NS2, proteína VP6 con cápside intermedia, proteína VP2 con cápside interna, proteína 3 no estructural NS3, polimerasa L de ARN-ARN-dirigida, proteína VP3, proteína 1 no estructural NS1, proteína 5 no estructural NS5, glucoproteína VP7 con cápside extrna, glucoproteína 4 no estructural NS4, proteína VP4 con cápside externa (Rotavirus, infección por Rotavirus);
- 50 5. Secuencia de ácido nucleico según la reivindicación 1, donde el antígeno patogénico se selecciona del grupo consistente en:
- proteína NS1, proteína hidrofóbica pequeña NS2, proteína SH, proteína de fusión F, glucoproteína G, proteína de matriz M, proteína de matriz M2-1, proteína de matriz M2-2, fosfoproteína P, nucleoproteína N, polimerasa L (metapneumovirus Humano (hMPV)).
- 55 6. Secuencia de ácido nucleico según las reivindicaciones 1 a 5, donde el al menos un tallo-bucle de histona es heterólogo a la región codificante que codifica para al menos un péptido o proteína, preferentemente donde la región codificante no codifica para una proteína de histona o un fragmento, derivado o variante de la misma que tenga una función histona o similar a histona.
- 60

7. Secuencia de ácido nucleico según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde el ácido nucleico es un ARN, preferentemente un ARNm.
- 5 8. Secuencia de ácido nucleico según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, donde la secuencia poli(A) comprende una secuencia de aproximadamente 25 a aproximadamente 400 nucleótidos de adenosina, de preferencia una secuencia de aproximadamente 50 a 400 nucleótidos de adenosina, con mayor preferencia una secuencia de aproximadamente 50 a aproximadamente 300 nucleótidos de adenosina, incluso con mayor preferencia una secuencia de aproximadamente 50 a aproximadamente 250 nucleótidos de adenosina, con la máxima preferencia una secuencia de aproximadamente 60 a aproximadamente 250 nucleótidos de adenosina.
- 10 9. Composición o kit o kit de partes que comprende una pluralidad o de más de una secuencia de ácido nucleico de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8.
10. Secuencia de ácido nucleico como se define según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 o composición como se define según la reivindicación 9 para su uso como un medicamento o vacuna.
- 15 11. Secuencia de ácido nucleico como se define según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 o composición como se define según la reivindicación 9 para su uso en el tratamiento o la profilaxis de enfermedades infecciosas, preferentemente mediante inyección intradérmica o intramuscular.
12. Secuencia de ácido nucleico como se define según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 o composición como se define según la reivindicación 9 para su uso según la reivindicación 11, donde el tratamiento comprende incrementar la expresión de dicho péptido o proteína codificados.
- 20 13. Composición farmacéutica que comprende una secuencia de ácido nucleico como se define según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 o una composición como se define según la reivindicación 9 y opcionalmente un portador farmacéuticamente aceptable.
14. Uso de una secuencia de ácido nucleico como se define según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 o de una composición o kit o kit de partes como se define según la reivindicación 9, para aumentar la expresión de dicho péptido o proteína codificados *in vitro*.
- 25 15. Método *in vitro* o *ex vivo* para aumentar la expresión de un péptido o proteína codificados comprendiendo los pasos de:
- 30 a) proporcionar la secuencia de ácido nucleico como se define según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 o la composición como se define según la reivindicación 9;
- b) aplicar o administrar la secuencia de ácido nucleico o la composición a un sistema de expresión libre de células, a una célula o a un tejido.

ppLuc(GC)-ag

gggagaaagcuugaggAUGGAGGACGCCAAGAACAUCAAGAAGGGCCCCGGCGCCCUUCUA
 CCCGUCGGAGGACGGGACCGCCGGCGAGCAGCUCCACAAGGCCAUGAAGCGGUACGCCCU
 GGUGCCGGGCACGAUCGCCUUCACCGACGCCACAUCGAGGUCGACAUCACCUACGCGGA
 GUACUUCGAGAUGAGCGUGCGCCUGGCCGAGGCCAUGAAGCGGUACGGCCUGAACACCAA
 CCACCGGAUCGUGGUGUGCUCGGAGAACAGCCUGCAGUUCUUCAUGCCGGUGCUGGGCGC
 CCUCUUCAUCGGCGUGGCCGUCGCCCCGGCGAACGACAUCUACAACGAGCGGGAGCUGCU
 GAACAGCAUGGGGAUCAGCCAGCCGACCGUGGUGUUCGUGAGCAAGAAGGGCCUGCAGAA
 GAUCCUGAACGUGCAGAAGAAGCUGCCCAUCAUCCAGAAGAUCAUCAUCAUGGACAGCAA
 GACCGACUACCAGGGCUUCCAGUCGAUGUACACGUUCGUGACCAGCCACCUCCCGCCGGG
 CUUCAACGAGUACGACUUCGUCGCCGGAGAGCUUCGACCGGGACAAGACCAUCGCCUCGAU
 CAUGAACAGCAGCGGCAGCACCGGCCUGCCGAAGGGGGUGGCCUCGCCGACCGGACCGC
 CUGCGUGCGCUUCUCGCACGCCCGGGACCCCAUCUUCGGCAACCAGAUCAUCCCGGACAC
 CGCCAUCCUGAGCGUGGUGCCGUUCCACCACGGCUUCGGCAUGUUCACGACCCUGGGCUA
 CCUCAUCUGCGGCUUCCGGGUGGUCCUGAUGUACCGGUUCGAGGAGGAGCUGUUCUGCG
 GAGCCUGCAGGACUACAAGAUCAGAGCGCGCUCGUCGUGCCGACCCUGUUCAGCUUCUU
 CGCCAAGAGCACCCUGAUCGACAAGUACGACCUUGUCGAACCUGCACGAGAUCCGACGCGG
 GGGCGCCCCGUGAGCAAGGAGGUGGGCGAGGCCGUGGCCAAGCGGUUCCACCUCCCGGG
 CAUCCGCCAGGGCUACGGCCUGACCGAGACCACGAGCGCGAUCCUGAUCACCCCGAGGG
 GGACGACAAGCCGGGCGCCGUGGGCAAGGUGGUCCCGUUCUUCGAGGCCAAGGUGGUGGA
 CCUGGACACCGGCAAGACCCUGGGCGUGAACCAGCGGGGCGAGCUGUGCGUGCGGGGGCC
 GAUGAUCAUGAGCGGCUACGUGAACAACCCGGAGGCCACCAACGCCUUAUCGACAAGGA
 CGGCUGGCUGCACAGCGGCGACAUCGCCUACUGGGACGAGGACGAGCACUUCUUCAUCGU
 CGACCGGCUGAAGUCGUGAUCAAGUACAAGGGCUACCAGGUGGCGCCGGCCGAGCUGGA
 GAGCAUCCUGCUCCAGCACCCCAACAUCUUCGACGCCGGCGUGGCCGGGCGGCCGACGA
 CGACCGCCGGCGAGCUGCCGGCCGCGGUGGUGGUGCUGGAGCACGGCAAGACCAUGACGGA
 GAAGGAGAUCGUCGACUACGUGGCCAGCCAGGUGACCACCGCCAAGAAGCUGCGGGGGCGG
 CGUGGUGUUCGUGGACGAGGUCCCGAAGGGCCUGACCGGGAAGCUCGACGCCCGGAAGAU
 CCGCGAGAUCCUGAUCAAGGCCAAGAAGGGCGGCAAGAUCGCCGUGUA^{Agacua}guuua
 agacugacua**GCCCCAUGGGCCUCCCAACGGGCCCUCUCCCCUCCUUGCACCG**agauua
 auagauc-3'

Figura 6

ppLuc(GC)-ag-A64

gggagaaagcuugaggAUGGAGGACGCCAAGAACAUCAAGAAGGGCCCGGCGCCCUUCUA
 CCCGUGGAGGACGGGACCGCCGGCGAGCAGCUCACACAAGGCCAUGAAGCGGUACGCCCU
 GGUGCCGGGCACGAUCGCCUUCACCGACGCCCACAUUCGAGGUCGACAUCACCUACGCGGA
 GUACUUCGAGAUGAGCGUGCGCCUGGCCGAGGCCAUGAAGCGGUACGGCCUGAACACCAA
 CCACCGGAUCGUGGUGUGCUCGGAGAACAGCCUGCAGUUCUUAUGCCGGUGCUGGGCGC
 CCUCUUAUCGGCGUGGCCGUCGCCCCGGCGAACGACAUCUACAACGAGCGGGAGCUGCU
 GAACAGCAUGGGGAUCAGCCAGCCGACCGUGGUGUUCGUGAGCAAGAAGGGCCUGCAGAA
 GAUCCUGAACGUGCAGAAGAAGCUGCCCAUCAUCCAGAAGAUCAUCAUCAUGGACAGCAA
 GACCGACUACCAGGGCUUCCAGUCGAUGUACACGUUCGUGACCAGCCACCUCGCCCGGG
 CUUCAACGAGUACGACUUCGUUCCGGAGAGCUUCGACCGGGACAAGACCAUCGCCUCGAU
 CAUGAACAGCAGCGGCAGCACCGGCCUGCCGAAGGGGGUGGCCUGCCGCACCGGACCGC
 CUGCGUGCGCUUCUCGCACGCCCGGGACCCCAUCUUCGGCAACCAGAUCAUCCCGGACAC
 CGCAUCCUGAGCGUGGUGCCGUUCCACCACGGCUUCGGCAUGUUCACGACCCUGGGCUA
 CCUCAUCUGCGGCUUCCGGGUGGUCCUGAUGUACCGGUUCGAGGAGGAGCUGUUCUGCG
 GAGCCUGCAGGACUACAAGAUCCAGAGCGCGCUGCUCGUGCCGACCCUGUUCAGCUUCU
 CGCCAAGAGCACCCUGAUCGACAAGUACGACCUGUCGAACCUGCAGAGAUCCAGCGG
 GGGCGCCCCGUGAGCAAGGAGGUGGGCGAGGCCGUGGCCAAGCGGUUCCACCUCGCCGG
 CAUCCGCCAGGGCUACGGCCUGACCGAGACCACGAGCGGAUCCUGAUCACCCCGAGGG
 GGACGACAAGCCGGGCGCCGUGGGCAAGGUGGUUCCGUUCUUCGAGGCCAAGGUGGUGGA
 CCUGGACACCGGCAAGACCCUGGGCGUGAACAGCGGGGCGAGCUGUGCGUGCGGGGGCC
 GAUGAUC AUGAGCGGCUACGUGAACACCCGGAGGCCACCAACGCCCUCAUCGACAAGGA
 CGGCUGGCUGCACAGCGGCGACAUCGCCUACUGGGACGAGGACGAGCACUUCUUAUCGU
 CGACCGGCUAAGUCGUGAUCAGUACAAGGGCUACCAGGUGGCGCCGGCCGAGCUGGA
 GAGCAUCCUGCUCCAGCACCCCAACAUCUUCGACCGCGGUGGCCGGGCUGCCGGACGA
 CGACGCCGGCGAGCUGCCGGCCGCGGUGGUGGUGCUGGAGCACGGCAAGACCAUGACGGA
 GAAGGAGAUUCGUCGACUACGUGGCCAGCCAGGUGACCACCGCCAAGAAGCUGCGGGGCGG
 CGUGGUGUUCGUGGACGAGGUCCCGAAGGGCCUGACCGGGAAGCUCGACGCCCGGAAGAU
 CCGCGAGAUCCUGAUC AAGGCCAAGAAGGGCGGCAAGAUCGCCGUGUAAgacuaguaua
 agacugacua**GCCC GAUGGGCCUCCCAACGGGCCCCUCCUCCCCUCCUUGCACCG**agauua
 auAAA
 AAAAAA-3'

Figura 7

ppLuc(GC)-ag-histonaSL

gggagaaagcuugaggAUGGAGGACGCCAAGAACAUCAAGAAGGGCCCCGGCGCCCUUCUA
 CCCGUCUGGAGGACGGGACCGCCGGCGAGCAGCUCCACAAGGCCAUGAAGCGGUACGCCCU
 GGUGCCGGGCACGAUCGCCUUCACCGACGCCACAUCGAGGUCGACAUCACCUACGCGGA
 GUACUUCGAGAUGAGCGUGCGCCUGGCCGAGGCCAUGAAGCGGUACGGCCUGAACACCAA
 CCACCGGAUCGUGGUGUGCUCGGAGAACAGCCUGCAGUUCUUC AUGCCGGUGCUGGGCGC
 CCUCUUC AUUCGGCGUGGCCGUCGCCCCGGCGAACGACAUCUACAACGAGCGGGAGCUGCU
 GAACAGCAUGGGGAUCAGCCAGCCGACCGUGGUGUUCGUGAGCAAGAAGGGCCUGCAGAA
 GAUCCUGAACGUGCAGAAGAAGCUGCCCAUCAUCCAGAAGAUCAUCAUCAUGGACAGCAA
 GACCGACUACCAGGGCUUCCAGUCGAUGUACACGUUCGUGACCAGCCACCUCGCCGGG
 CUUCAACGAGUACGACUUCGUCCCCGGAGAGCUUCGACCGGGACAAGACCAUCGCCUGAU
 CAUGAACAGCAGCGGCAGCACCGGCCUGCCGAAGGGGGUGGCCUGCCGCACCGGACCGC
 CUGCGUGCGCUUCUCGCACGCCCGGGACCCCAUCUUCGCAACCAGAUCAUCCGGACAC
 CGCCAUCCUGAGCGUGGUGCCGUUCCACCACGGCUUCGGAUGUUCACGACCCUGGGCUA
 CCUCAUCUGCGGCUUCCGGGUGGUCCUGAUGUACCGGUUCGAGGAGGAGCUGUUCUGCG
 GAGCCUGCAGGACUACAAGAUCAGAGCGCGCUGCUCGUGCCGACCCUGUUCAGCUUCUU
 CGCCAAGAGCACCCUGAUUCGACAAGUACGACCUUGUCGAACCUGCACGAGAUCCGACGG
 GGGCGCCCCGUCGAGCAAGGAGGUGGGCGAGGCCGUGGCCAAGCGGUUCCACCUCGCCGG
 CAUCCGCCAGGGCUACGGCCUGACCGAGACCACGAGCGGAUCCUGAUACCCCCGAGGG
 GGACGACAAGCCGGGCGCCGUGGGCAAGGUGGUCCCGUUCUUCGAGGCCAAGGUGGUGGA
 CCUGGACACCGGCAAGACCCUGGGCGUGAACCAGCGGGGCGAGCUGUGCGUGCGGGGGCC
 GAUGAUCAUGAGCGGCUACGUGAACAACCCGGAGGCCACCAACGCCCUCAUCGACAAGGA
 CGGCUGGCUGCACAGCGGCGACAUCGCCUACUGGGACGAGGACGAGCACUUCUUCUUCGU
 CGACCGGCUGAAGUCGCUGAUCAAGUACAAGGGCUACCAGGUGGCGCCGGCCGAGCUGGA
 GAGCAUCCUGCUCCAGCACCCCAACAUCUUCGACGCCGGCGUGGCCGGGCGGCCGACGA
 CGACGCCGGCGAGCUGCCGGCCGCGGUGGUGGUCUGGAGCACGGCAAGACCAUGACGGA
 GAAGGAGAUUCGUCGACUACGUGGCCAGCCAGGUGACCACCGCCAAGAAGCUGCGGGGCGG
 CGUGGUGUUCGUGGACGAGGUCCCGAAGGGCCUGACCGGGAAGCUCGACGCCCGGAAGAU
 CCGCGAGAUCCUGAUCAAGGCCAAGAAGGGCGGCAAGAUCGCCGUGUA *Agacuaguuaua*
agacugacua **GCCCGAUGGGCCUCCCAACGGGCCUCCUCCCUUGCACCG** *agauua*
auagaucu CAAAGGCUCUUUCAGAGCCACCA - 3'

Figura 8

ppLuc(GC)-ag-A64-histonaSL

gggagaaagcuugaggAUGGAGGACGCCAAGAACAUCAAGAAGGGCCCGGCGCCCUUCUA
 CCCGUGGAGGACGGGACCGCCGGCGAGCAGCUCCACAAGGCCAUGAAGCGGUACGCCCU
 GGUGCCGGGCACGAUCGCCUUCACCGACGCCACAUCGAGGUCGACAUCACCUACGCGGA
 GUACUUCGAGAUGAGCGUGCGCCUGGCCGAGGCCAUGAAGCGGUACGGCCUGAACACCAA
 CCACCGGAUCGUGGUGUGCUCGGAGAACAGCCUGCAGUUCUUAUGCCGGUGCUGGGCGC
 CCUCUUAUCGGCGUGGCCGUCGCCCGGGCAACGACAUCUACAACGAGCGGGAGCUGCU
 GAACAGCAUGGGGAUCAGCCAGCCGACCGUGGUGUUCGUGAGCAAGAAGGGCCUGCAGAA
 GAUCCUGAACGUGCAGAAGAAGCUGCCCAUCAUCCAGAAGAUCAUCAUCAUGGACAGCAA
 GACCGACUACCAGGGCUUCCAGUCGAUGUACACGUUCGUGACCAGCCACCUCGCCCGGG
 CUUCAACGAGUACGACUUCGUCCCGGAGAGCUUCGACCGGGACAAGACCAUCGCCUCGAU
 CAUGAACAGCAGCGGCAGCACCGGCCUGCCGAAGGGGGUGGCCUGCCGCACCGGACCGC
 CUGCGUGCGCUUCUCGCACGCCCGGGACCCCAUCUUCGGCAACCAGAUCAUCCCGGACAC
 CGCCAUCCUGAGCGUGGUGCCGUUCCACCACGGCUUCGGCAUGUUCACGACCCUGGGCUA
 CCUCAUCUGCGGCUUCCGGGUGGUCCUGAUGUACCGGUUCGAGGAGGAGCUGUUCUGCG
 GAGCCUGCAGGACUACAAGAUCCAGAGCGCGCUGCUCGUGCCGACCCUGUUCAGCUUCU
 CGCCAAGAGCACCCUGAUCGACAAGUACGACCUGUCGAACCUGCAGAGAUCCAGCGG
 GGGCGCCCCGUGAGCAAGGAGGUGGGCGAGGCCGUGGCCAAGCGGUUCCACCUCGCCGG
 CAUCCGCCAGGGCUACGGCCUGACCGAGACCACGAGCGCAUCCUGAUCACCCCGAGGG
 GGACGACAAGCCGGCGCCGUGGGCAAGGUGGUCCCGUUCUUCGAGGCCAAGGUGGUGGA
 CCUGGACACCGGCAAGACCCUGGGCGUGAACAGCGGGGCGAGCUGUGCGUGCGGGGGCC
 GAUGAUCAUGAGCGGCUACGUGAACAACCCGGAGGCCACCAACGCCCUCAUCGACAAGGA
 CGGCUGGCUGCACAGCGGCACAUCGCCUACUGGGACGAGGACGAGCACUUCUUAUCGU
 CGACCGGCUAAGUCGUGAUCUACAAGGCUUACAGGUGGCGCCGGCCGAGCUGGA
 GAGCAUCCUGCUCAGCACCCCAACUUCGACGCCGGCGUGGCCGGGCGUGCCGGACGA
 CGACGCCGGCGAGCUGCCGGCCGCGGUGGUGGUGCUGGAGCACGGCAAGACCAUGACGGA
 GAAGGAGAUCGUCGACUACGUGGCCAGCCAGGUGACCACCGCCAAGAAGCUGCGGGCGG
 CGUGGUGUUCGUGGACGAGGUCCCGAAGGGCCUGACCGGGAAGCUCGACGCCCGGAAGAU
 CCGCGAGAUCUGAUCAAGGCCAAGAAGGGCGGCAAGAUCGCCGUGUAUAgacuaguua
 agacugacua**GCCCGAUGGGCCUCCCAACGGGCCCUCUCCCCUCCUUGCACCG**agauua
 auAA
 AAAAAAugcau**CAAAGGCUCUUUCAGAGCCACCA**-3'

Figura 9

ppLuc(GC)-ag-A120

gggagaaagcuugaggAUGGAGGACGCCAAGAACAUCAAGAAGGGCCCGGCCUUCUA
CCCGCUGGAGGACGGGACCGCCGGCGAGCAGCUCACAAAGGCCAUGAAGCGGUACGCCCU
GGUGCCGGGCACGAUCGCCUUCACCGACGCCACAUCGAGGUCGACAUCACCUACGCGGA
GUACUUCGAGAUGAGCGUGCGCCUGGCCGAGGCCAUGAAGCGGUACGGCCUGAACACCAA
CCACCGGAUCGUGGUGUCUCGGAGAACAGCCUGCAGUUCUUC AUGCCGGUGCUGGGCGC
CCUCUUC AUGCGCGUGGCCGUCGCCCCGGCGAACGACAUCUACAACGAGCGGGAGCUGCU
GAACAGCAUGGGGAUCAGCCAGCCGACCGUGGUGUUCGUGAGCAAGAAGGGCCUGCAGAA
GAUCCUGAACGUGCAGAAGAAGCUGCCCAUCAUCCAGAAGAUCAUCAUCAUGGACAGCAA
GACCGACUACCAGGGCUUCCAGUCGAUGUACACGUUCGUGACCAGCCACCUCCCGCCGGG
CUUCAACGAGUACGACUUCGUCGCCGGAGAGCUUCGACCGGGACAAGACCAUCGCCUCGAU
CAUGAACAGCAGCGGCAGCACCGGCCUGCCGAAGGGGGUGGCCUGCCGCACCGGACCGC
CUGCGUGCGCUUCUCGCACGCCCGGGACCCCAUCUUCGGCAACCAGAUCAUCCCGGACAC
CGCCAUCCUGAGCGUGGUGCCGUUCCACCACGGCUUCGGCAUGUUCACGACCCUGGGCUA
CCUCAUCUGCGGCUUCCGGGUGGUCCUGAUGUACCGGUUCGAGGAGGAGCUGUUCUGCG
GAGCCUGCAGGACUACAAGAUCAGAGCGCGCUGCUCGUGCCGACCCUGUUCAGCUUCU
CGCCAAGAGCACCCUGAUCGACAAGUACGACCUGUCGAACCUGCACGAGAUCCAGCGG
GGGCGCCCCGUCGAGCAAGGAGGUGGGCGAGGCCGUGGCCAAGCGGUUCCACCUCCGGG
CAUCCGCCAGGGCUACGGCCUGACCGAGACCACGAGCGCGAUCCUGAUCACCCCCGAGGG
GGACGACAAGCCGGGCGCCGUGGGCAAGGUGGUCCCGUUCUUCGAGGCCAAGGUGGUGGA
CCUGGACACCGGCAAGACCCUGGGCGUGAACAGCGGGGCGAGCUGUGCGUGCGGGGGCC
GAUGAUCAUGAGCGGCUACGUGAACACCCGGAGGCCACCAACGCCUUC AUCGACAAGGA
CGGCUGGCUGCACAGCGGCGACAUCGCCUACUGGGACGAGGACGAGCACUUCUUC AUCGU
CGACCGGCUGAAGUCGUGAUC AAGUACAAGGGCUACCAGGUGGCCGCCGGCCGAGCUGGA
GAGCAUCCUGCUCCAGCACCCCAACAUCUUCGACGCCGGCGUGGCCGGGCUCCGGACGA
CGACGCCGGCGAGCUGCCGGCCGCGGUGGUGCUGGAGCACGGCAAGACCAUGACGGA
GAAGGAGAUUCGUGACUACGUGGCCAGCCAGGUGACCACCGCCAAGAAGCUGCGGGGCGG
CGUGGUGUUCGUGGACGAGGUCCCGAAGGGCCUGACCGGGAAGCUCGACGCCCGGAAGAU
CCGCGAGAUCCUGAUC AAGGCCAAGAAGGGCGGCAAGAUCGCCGUGUA *Agacuaguua*
agacugacua **GCCCGAUGGGCCUCCCAACGGGCCCUCUCCCUCCUUGCACCG** *agauua*
*auagaucu*AA
AA
AAAAAAAAAA-3'

Figura 10

ppLuc(GC)-ag-A64-ag

gggagaaagcuugaggAUGGAGGACGCCAAGAACAUCAAGAAGGGCCCCGGCGCCCUUCUA
 CCCGUGGAGGACGGGACCGCCGGCGAGCAGCUCCACAAGGCCAUGAAGCGGUACGCCCCU
 GGUGCCGGGCACGAUCGCCUUCACCGACGCCACAUCGAGGUCGACAUACCCUACGCGGA
 GUACUUCGAGAUGAGCGUGCGCCUGGCCGAGGCCAUGAAGCGGUACGGCCUGAACACCAA
 CCACCGGAUCGUGGUGUGCUCGGAGAACAGCCUGCAGUUCUUCUUGCCGGUGCUGGGCGC
 CCUCUUCUUCGCGUGGCCGUCGCCCCGGCGAACGACAUCUACAACGAGCGGGAGCUGCU
 GAACAGCAUGGGGAUCAGCCAGCCGACCGUGGUGUUCGUGAGCAAGAAGGGCCUGCAGAA
 GAUCCUGAACGUGCAGAAGAAGCUGCCCAUCAUCCAGAAGAUCAUCAUUGGACAGCAA
 GACCGACUACCAGGGCUUCCAGUCGAUGUACACGUUCGUGACCAGCCACCUCGCGGGG
 CUUCAACGAGUACGACUUCGUCCCGGAGAGCUUCGACCGGGACAAGACCAUCGCCUGAU
 CAUGAACAGCAGCGGCAGCACCGGCCUGCCGAAGGGGGUGGCCUGCCGCACCGGACCGC
 CUGCGUGCGCUUCUCGCACGCCCGGGACCCCAUCUUCGGAACCAGAUCAUCCCGGACAC
 CGCCAUCUGAGCGUGGUGCCGUUCCACCACGGCUUCGGCAUGUUCACGACCCUGGGCUA
 CCUCAUCUGCGGCUUCCGGGUGGUCCUGAUGUACCGGUUCGAGGAGGAGCUGUUCUGCG
 GAGCCUGCAGGACUACAAGAUCAGAGCGCGCUGCUGCCGACCCUGUUCAGCUUCUUCU
 CGCCAAGAGCACCCUGAUCGACAAGUACGACCUGUCGAACCUGCACGAGAUCCGAGCGG
 GGGCGCCCCGUGAGCAAGGAGGUGGGCGAGGCCGUGGCCAAGCGGUUCCACCUCGCGG
 CAUCCGCCAGGGCUACGGCCUGACCGAGACCACGAGCGCGAUCCUGAUCACCCCGAGGG
 GGACGACAAGCCGGGCGCCGUGGGCAAGGUGGUCCCGUUCUUCGAGGCCAAGGUGGUGGA
 CCUGGACACCGGCAAGACCCUGGGCGUGAACCAGCGGGGCGAGCUGUGCGUGCGGGGGCC
 GAUGAUCAUGAGCGGCUACGUGAACAACCCGGAGGCCACCAACGCCUUCUACGACAAGGA
 CGGCUGGCUGCACAGCGGCGACAUCGCCUACUGGGACGAGGACGAGCACUUCUUCUUCG
 CGACCGGCGUGAAGUCGUGAUCAGUACAAGGGCUACCAGGUGGCGCCGCGGAGCUGGA
 GAGCAUCCUGCUCCAGCACCCCAACAUCUUCGACGCCGGCGUGGCCGGGCGUGCCGGACGA
 CGACCGCGGCGAGCUGCCGGCCGCGGUGGUGGUGCUGGAGCACGGCAAGACCAUGACGGA
 GAAGGAGAUUCGUGACUACGUGGCCAGCCAGGUGACCACCGCCAAGAAGCUGCGGGGCGG
 CGUGGUGUUCGUGGACGAGGUCCGAAGGGCCUGACCGGGAAGCUCGACGCCCGGAAGAU
 CCGCGAGAUCCUGAUCAAGGCCAAGAAGGGCGGCAAGAUCGCCGUGUAAgacuaguaua
 agacugacua**GCCC GAUGGGCCUCCCAACGGGCCCUCUCCCCUCCUUGCACCG**agauua
 auAA
 AAAAAAugcau**CCUGCCCGAUGGGCCUCCCAACGGGCCCUCUCCCCUCCUUGCACCG**3'

Figura 11

ppLuc(GC)-ag-A64-aCPSL

gggagaaagcuugaggAUGGAGGACGCCAAGAACAUCAAGAAGGGCCCCGGCGCCCUUCUA
 CCCGUGGAGGACGGGACCGCCGGCGAGCAGCUCCACAAGGCCAUGAAGCGGUACGCCCU
 GGUGCCGGGCACGAUCGCCUUCACCGACGCCACAUCGAGGUCGACAUCACCUACGCGGA
 GUACUUCGAGAUAGAGCGUGCGCCUGGCCGAGGCCAUGAAGCGGUACGGCCUGAACACCAA
 CCACCGGAUCGUGGUGUGCUCGGAGAACAGCCUGCAGUUCUUCUUCGCGGUGCUGGGCGC
 CCUCUUAUCGGCGUGGCCGUCGCCCCGGCGAACGACAUCUACAACGAGCGGGAGCUGCU
 GAACAGCAUGGGGAUCAGCCAGCCGACCGUGGUGUUCGUGAGCAAGAAGGGCCUGCAGAA
 GAUCCUGAACGUGCAGAAGAAGCUGCCCAUCAUCCAGAAGAUCAUCAUCAUGGACAGCAA
 GACCGACUACCAGGGCUUCCAGUCGAUGUACACGUUCGUGACCAGCCACCUCGCCGGG
 CUUCAACGAGUACGACUUCGUCGCCGAGAGCUUCGACCGGGACAAGACCAUCGCCUGAU
 CAUGAACAGCAGCGGCAGCACCGGCCUGCCGAAGGGGGUGGCCUGCCGCACCGGACCGC
 CUGCGUGCGCUUCUCGCACGCCCGGGACCCCAUCUUCGGCAACCAGAUCAUCCCGGACAC
 CGCCAUCCUGAGCGUGGUGCCGUUCCACCACGGCUUCGGCAUGUUCACGACCCUGGGCUA
 CCUCAUCUGCGGCUUCCGGGUGGUCCUGAUGUACCGGUUCGAGGAGGAGCUGUUCUGCG
 GAGCCUGCAGGACUACAAGAUCAGAGCGCGCUGCUCGUGCCGACCCUGUUCAGCUUCUU
 CGCCAAGAGCACCCUGAUCGACAAGUACGACCUGUCGAACCUGCAGAGAUCCGACGCGG
 GGGCGCCCCGUGAGCAAGGAGGUGGGCGAGGCCGUGGCCAAGCGGUUCCACCUCGCCGG
 CAUCCGCCAGGGCUACGGCCUGACCGAGACCACGAGCGCGAUCCUGAUCACCCCCGAGGG
 GGACGACAAGCCGGGCGCCGUGGGCAAGGUGGUCCCGUUCUUCGAGGCCAAGGUGGUGGA
 CCUGGACACCGGCAAGACCCUGGGCGUGAACCAGCGGGGCGAGCUGUGCGUGCGGGGGCC
 GAUGAUC AUGAGCGGCUACGUGAACAAACCCGGAGGCCACCAACGCCCUCAUCGACAAGGA
 CGGCUGGCUGCACAGCGGCGACAUCGCCUACUGGGACGAGGACGAGCACUUCUUAUCGU
 CGACCGGCUGAAGUCGUGAUCAGUACAAGGGCUACCAGGUGGGCGCCGGCCGAGCUGGA
 GAGCAUCCUGCUCAGCACCCCAACAUCUUCGACGCCGGCGUGGCCGGGCGGCCGACGA
 CGACCGCGGCGAGCUGCCGGCCGCGGUGGUGGUGCUGGAGCACGGCAAGACCAUGACGGA
 GAAGGAGAUUCGACUACGUGGCCAGCCAGGUGACCACCGCCAAGAAGCUGCGGGGGCGG
 CGUGGUGUUCGUGGACGAGGUCCCGAAGGGCCUGACCGGGAAGCUCGACGCCCGGAAGAU
 CCGCGAGAUCUGAUC AAGGCCAAGAAGGGCGGCAAGAUCGCCGUGUA *Agacuaguaua*
agacugacua **GCCCGAUGGGCCUCCCAACGGGCCUCCUCCCCUCCUUGCACCG** *agauua*
 auAA
 AAAAAAUGCauCAAUCCUACACGUGAGGCGCUGUGAUUCCUAUCCCCCUUCAUUCUU
 AUACAUUAGCACAGCGCCAUUGCAUGUAGGAAUU-3'

Figura 12

ppLuc(GC)-ag-A64-polioCL

gggagaaagcuugaggAUGGAGGACGCCAAGAACAUCAAGAAGGGCCCGGCGCCCUUCUA
 CCCGUGGAGGACGGGACCGCCGGCGAGCAGCUCCACAAGGCCAUGAAGCGGUACGCCU
 GGUGCCGGGCACGAUCGCCUUCACCGACGCCACAUCGAGGUCGACAUCACCUACGCGGA
 GUACUUCGAGAUGAGCGUGCGCCUGGCCGAGGCCAUGAAGCGGUACGGCCUGAACACCAA
 CCACCGGAUCGUGGUGUGCUCGGAGAACAGCCUGCAGUUCUUCUUGCCGGUGCUGGGCGC
 CCUCUUCUUCGCGUGGCCGUCGCCCGGCGAACGACAUCUACAACGAGCGGGAGCUGCU
 GAACAGCAUGGGGAUCAGCCAGCCGACCUGGGUGUUCGUGAGCAAGAAGGGCCUGCAGAA
 GAUCCUGAACGUGCAGAAGAAGCUGCCCAUCAUCCAGAAGAUCAUCAUCAUGGACAGCAA
 GACCGACUACCAGGGCUUCCAGUCGAUGUACACGUUCGUGACCAGCCACCUCGCCGGG
 CUUCAACGAGUACGACUUCGUCCCGGAGAGCUUCGACCGGGACAAGACCAUCGCCUGAU
 CAUGAACAGCAGCGGCAGCACCGGCCUGCCGAAGGGGGUGGCCUGCCGCACCGGACCGC
 CUGCGUGCGCUUCUCGCACGCCCGGGACCCCAUCUUCGGCAACCAGAUCAUCCGGACAC
 CGCAUCCUGAGCGUGGUGCCGUUCCACCACGGCUUCGGCAUGUUCACGACCCUGGGCUA
 CCUCAUCUGCGGCUUCCGGGUGGUCCUGAUGUACCGGUUCGAGGAGGAGCUGUUCUGCG
 GAGCCUGCAGGACUACAAGAUCAGAGCGCGCUGCUCGUGCCGACCUGUUCAGCUUCU
 CGCCAAGAGCACCCUGAUCGACAAGUACGACCUGUCGAACCUGCACGAGAUCGCCAGCGG
 GGGCGCCCCGUGAGCAAGGAGGUGGGCGAGGCCGUGGCCAAGCGGUUCCACCUCGGG
 CAUCCGCCAGGGCUACGGCCUGACCGAGACCACGAGCGCGAUCCUGAUCACCCCCGAGGG
 GGACGACAAGCCGGGCGCCGUGGGCAAGGUGGUCCCGUUCUUCGAGGCCAAGGUGGUGGA
 CCUGGACACCGGCAAGACCCUGGGCGUGAACCAGCGGGGCGAGCUGUGCGUGCGGGGGCC
 GAUGAUCAUGAGCGGCUACGUGAACAACCCGGAGGCCACCAACGCCCUCAUCGACAAGGA
 CGGCUGGCUGCACAGCGGCGACAUCGCCUACUGGGACGAGGACGAGCACUUCUUCUUCU
 CGACCGGCUGAAGUCGUGAUCAGUACAAGGGCUACCAGGUGGCGCCGGCCGAGCUGGA
 GAGCAUCCUGCUCCAGCACCCCAACAUCUUCGACCGCGGUGGCCGGGCGUGCCGGACGA
 CGACCGCGGCGAGCUGCCGGCCGCGGUGGUGGUGCUGGAGCACGGCAAGACCAUGACGGA
 GAAGGAGAUUCGUGACUACGUGGCCAGCCAGGUGACCACCGCCAAGAAGCUGCGGGGCGG
 CGUGGUGUUCGUGGACGAGGUCCGAAGGGCCUGACCGGGAAGCUCGACGCCCGGAAGAU
 CCGCGAGAUCCUGAUCAAGGCCAAGAAGGGCGGCAAGAUCGCCGUGUAAgacuaguua
 agacugacua**GCCCGAUGGGCCUCCCAACGGGCCCCUCCUCCCUUGCACCG**agauua
 auAA
 AAAAAAugcauCAAUUCUAAAACAGCUCUGGGGUUGUACCCACCCAGAGGCCACGUGG
 CGGCUAGUACUCCGGUAUUGCGGUACCCUUGUACGCCUGUUUAGAAUU-3'

Figura 13

ppLuc(GC)-ag-A64-U30

gggagaaagcuugaggAUGGAGGACGCCAAGAACAUCAAGAAGGGCCCGGCGCCCUUCUA
 CCCGUGGAGGACGGGACCGCCGGCGAGCAGCUCCACAAGGCCAUGAAGCGGUACGCCCU
 GGUGCCGGGCACGAUCGCCUUCACCGACGCCACAUCGAGGUCGACAUCACCUACGCGGA
 GUACUUCGAGAUGAGCGUGCGCCUGGCCGAGGCCAUGAAGCGGUACGGCCUGAACACCAA
 CCACCGGAUCGUGGUGUGCUCGGAGAACAGCCUGCAGUUCUUAUGCCGGUGCUGGGCGC
 CCUCUUAUCGGCGUGGCCGUCGCCCGGCCAAGCACAUCUACAACGAGCGGGAGCUGCU
 GAACAGCAUGGGGAUCAGCCAGCCGACCGUGGUGUUCGUGAGCAAGAAGGGCCUGCAGAA
 GAUCCUGAACGUGCAGAAGAAGCUGCCCAUCAUCCAGAAGAUCAUCAUUAUGGACAGCAA
 GACCGACUACCAGGGCUUCCAGUCGAUGUACACGUUCGUGACCAGCCACCUCGCCCGGG
 CUUCAACGAGUACGACUUCGUCCCGGAGAGCUUCGACCGGGACAAGACCAUCGCCUCGAU
 CAUGAACAGCAGCGGCAGCACCGGCCUGCCGAAGGGGGUGGCCUGCCGCACCGGACCGC
 CUGCGUGCGCUUCUCGCACGCCCGGGACCCCAUCUUCGGCAACCAGAUCAUCCCGGACAC
 CGCAUCCUGAGCGUGGUGCCGUUCCACCACGGCUUCGGCAUGUUCACGACCCUGGGCUA
 CCUCAUCUGCGGCUUCCGGGUGGUCCUGAUGUACCGGUUCGAGGAGGAGCUGUUCUGCG
 GAGCCUGCAGGACUACAAGAUCCAGAGCGCGCUGCUCGUGCCGACCCUGUUCAGCUUCU
 CGCCAAGAGCACCCUGAUCGACAAGUACGACCUGUCGAACCUGCACGAGAUCCGACGG
 GGGCGCCCCGUGAGCAAGGAGGUGGGCGAGGCCGUGGCCAAGCGGUUCCACCUCGCCGG
 CAUCCGCCAGGGCUACGGCCUGACCGAGACCACGAGCGCGAUCCUGAUCACCCCGAGGG
 GGACGACAAGCCGGGCGCCGUGGGCAAGGUGGUCCCGUUCUUCGAGGCCAAGGUGGUGGA
 CCUGGACACCGGCAAGACCCUGGGCGUGAACCAGCGGGCGAGCUGUGCGUGCGGGGGCC
 GAUGAUC AUGAGCGGCUACGUGAACAACCCGGAGGCCACCAACGCCUCAUCGACAAGGA
 CGGCUGGCUGCACAGCGGCGACAUCGCCUACUGGGACGAGGACGAGCACUUCUUAUCGU
 CGACCGGCUGAAGUCGUGAUC AAGUACAAGGGCUACCAGGUGGCGCCGGCCGAGCUGGA
 GAGCAUCCUGCUC CAGCACCCCAACAUCUUCGACGCCGGCGUGGCCGGGCUGCCGGACGA
 CGACGCCGGCGAGCUGCCGGCCGCGGUGGUGGUGCUGGAGCACGGCAAGACCAUGACGGA
 GAAGGAGAUCGUCGACUACGUGGCCAGCCAGGUGACCACCGCCAAGAAGCUGCGGGGCGG
 CGUGGUGUUCGUGGACGAGGUCCCGAAGGGCCUGACCGGGAAGCUCGACGCCCGGAAGAU
 CCGCGAGAUCCUGAUC AAGGCCAAGAAGGGCGCAAGAUCGCCGUGUA *Agacuaguua*
agacugacua **GCCCGAUGGGCCUCCCAACGGGCCCUCUCCCCUCCUUGCACCG** *agauua*
*au*AA
 AAAAAA *ugca* UUU-3'

Figura 15

ppLuc(GC)-ag-A64-SL

gggagaaagcuugaggAUGGAGGACGCCAAGAACAUCAAGAAGGGCCCGCGCCCUUCUA
 CCCGUGGAGGACGGGACCGCCGGCGAGCAGCUCCACAAGGCCAUGAAGCGGUACGCCCU
 GGUGCCGGGCACGAUCGCCUUCACCGACGCCACAUCGAGGUCGACAUCACCUACGCGGA
 GUACUUCGAGAUGAGCGUGCGCCUGGCCGAGGCCAUGAAGCGGUACGGCCUGAACACCAA
 CCACCGGAUCGUGGUGUGCUCGGAGAACAGCCUGCAGUUCUUAUGCCGGUGCUGGGCGC
 CCUCUUAUCGGCGUGGCCGUCGCCCGGCGAACGACAUCUACAACGAGCGGGAGCUGCU
 GAACAGCAUGGGGAUCAGCCAGCCGACCGUGGUGUUCGUGAGCAAGAAGGGCCUGCAGAA
 GAUCCUGAACGUGCAGAAGAAGCUGCCCAUCAUCCAGAAGAUCAUCAUCAUGGACAGCAA
 GACCGACUACCAGGGCUUCCAGUCGAUGUACACGUUCGUGACCAGCCACCUCGCCGGG
 CUUCAACGAGUACGACUUCGUCCCGGAGAGCUUCGACCGGGACAAGACCAUCGCCUGAU
 CAUGAACAGCAGCGGCAGCACCGGCCUGCCGAAGGGGGUGGCCUGCCGCACCGGACCGC
 CUGCGUGCGCUUCUCGCACGCCCGGGACCCCAUCUUCGGCAACCAGAUCAUCCGGACAC
 CGCCAUCCUGAGCGUGGUGCCGUUCCACCACGGCUUCGGCAUGUUCACGACCCUGGGCUA
 CCUCAUCUGCGGCUUCCGGGUGGUCCUGAUGUACCGGUUCGAGGAGGAGCUGUUCUGCG
 GAGCCUGCAGGACUACAAGAUCCAGAGCGCGCUGCUCGUGCCGACCCUGUUCAGCUUCUU
 CGCCAAGAGCACCCUGAUCGACAAGUACGACCUGUCGAACCUGCACGAGAUCCGACGCGG
 GGGCGCCCCGUGAGCAAGGAGGUGGGCGAGGCCGUGGCCAAGCGGUUCCACCUCGCCGG
 CAUCCGCCAGGGCUACGGCCUGACCGAGACCACGAGCGCGAUCCUGAUCACCCCCGAGGG
 GGACGACAAGCCGGGCGCCGUGGGCAAGGUGGUCCCGUUCUUCGAGGCCAAGGUGGUGGA
 CCUGGACACCGGCAAGACCCUGGGCGUGAACACGCGGGGCGAGCUGUGCGUGCGGGGGCC
 GAUGAUCAUGAGCGGCUACGUGAACAAACCCGGAGGCCACCAACGCCCUCAUCGACAAGGA
 CGGCUGGCUGCACAGCGGCGACAUCGCCUACUGGGACGAGGACGAGCACUUCUUAUCGU
 CGACCGGCUGAAGUCGUGAUCAGUACAAGGGCUACCAGGUGGCGCCGGCCGAGCUGGA
 GAGCAUCCUGCUCCAGCACCCCAACAUCUUCGACGCCGGCGUGGCCGGGCGGCCGGACGA
 CGACCGCGGCGAGCUGCCGGCCGCGGUGGUGGUCUGGAGCACGGCAAGACCAUGACGGA
 GAAGGAGAUCGUCGACUACGUGGCCAGCCAGGUGACCACCGCCAAGAAGCUGCGGGGCGG
 CGUGGUGUUCGUGGACGAGGUCCCAGGGGCCUGACCGGGAAGCUCGACGCCCGGAAGAU
 CCGCGAGAUCCUGAUAAGGCCAAGAAGGGCGGCAAGAUCGCCGUGUAaagacuaguaua
 agacugacua**GCCCGAUGGGCCUCCCAACGGGCCUCCUCCCUCCUUGCACCG**agauua
 auAA
 AAAAAAugcauUAUGGCGGCCGUGUCCACCACGGAUUAUACCGUGGUGGACGCGGCC-3'

Figura 16

ppLuc(GC)-ag-A64-N32

gggagaaaagcuugaggAUGGAGGACGCCAAGAACAUCAAGAAGGGCCCGGCGCCCUUCUA
 CCCGUCUGGAGGACGGGACCGCCGGCGAGCAGCUCCACAAGGCCAUGAAGCGGUACGCCCU
 GGUGCCGGGCACGAUCGCCUUCACCGACGCCACAUCGAGGUCGACAUCACCUACGCGGA
 GUACUUCGAGAUGAGCGUGCGCCUGGCCGAGGCCAUGAAGCGGUACGGCCUGAACACCAA
 CCACCGGAUCGUGGUGUGCUCGGAGAACAGCCUGCAGUUCUUC AUGCCGGUGCUGGGCGC
 CCUCUUC AU CGGCGUGGCCGUCGCCCGGCGAACGACAUCUACAACGAGCGGGAGCUGCU
 GAACAGCAUGGGGAUCAGCCAGCCGACCGUGGUGUUCGUGAGCAAGAAGGGCCUGCAGAA
 GAUCCUGAACGUGCAGAAGAAGCUGCCCAUCAUCCAGAAGAUCAUCAUCAUGGACAGCAA
 GACCGACUACCAGGGCUUCCAGUCGAUGUACACGUUCGUGACCAGCCACCUCGCCGGG
 CUUCAACGAGUACGACUUCGUCCCGGAGAGCUUCGACCGGGACAAGACCAUCGCCUGAU
 CAUGAACAGCAGCGGCAGCACCGGCCUGCCGAAGGGGGUGGCCUGCCGCACCGGACCGC
 CUGCGUGCGCUUCUCGCACGCCCGGGACCCCAUCUUCGGCAACCAGAUCAUCCGGACAC
 CGCCAUCCUGAGCGUGGUGCCGUUCCACCACGGCUUCGGCAUGUUCACGACCCUGGGCUA
 CCUCAUCUGCGGCUUCCGGGUGGUCCUGAUGUACCGGUUCGAGGAGGAGCUGUUCUGCG
 GAGCCUGCAGGACUACAAGAUCAGAGCGCGCUGCUCGUGCCGACCCUGUUCAGCUUCUU
 CGCCAAGAGCACCCUGAUCGACAAGUACGACCUGUCGAACCUGCACGAGAUCCGAGCGG
 GGGCGCCCCGUGAGCAAGGAGGUGGGCGAGGCCGUGGCCAAGCGGUUCCACCUCGCCGG
 CAUCCGCCAGGGCUACGGCCUGACCGAGACCACGAGCGCGAUCCUGAUCACCCCGAGGG
 GGACGACAAGCCGGGCGCCGUGGGCAAGGUGGUCCCGUUCUUCGAGGCCAAGGUGGUGGA
 CCUGGACACCGGCAAGACCCUGGGCGUGAACAGCGGGGCGAGCUGUGCGUGCGGGGGCC
 GAUGAUC AUGAGCGGCUACGUGAACAAACCCGGAGGCCACCAACGCCCUCAUCGACAAGGA
 CGGCUGGCUGCACAGCGGCGACAUCGCCUACUGGGACGAGGACGAGCACUUCUUCUUCGU
 CGACCGGCUGAAGUCGUGAUCAGUACAAGGGCUACCAGGUGGCGCCGGCCGAGCUGGA
 GAGCAUCCUGCUCCAGCACCCCAACAUCUUCGACGCCGGCGUGGCCGGGCGUGCCGGACGA
 CGACCGCGGCGAGCUGCCGGCCGCGGUGGUGGUGCUGGAGCACGGCAAGACCAUGACGGA
 GAAGGAGAUCGUCGACUACGUGGCCAGCCAGGUGACCACCGCCAAGAAGCUGCGGGGCGG
 CGUGGUGUUCGUGGACGAGGUCCC GAAGGGCCUGACCGGGAAGCUCGACGCCCGGAAGAU
 CCGCGAGAUCUGAUC AAGGCCAAGAAGGGCGGCAAGAUCGCCGUGUA *Agacuaguua*
agacugacua **GCCCGAUGGGCCUCCCAACGGGCCUCCUCCCCUCCUUGCACCG** *agauua*
*au*AA
 AAAAAA *Augcau* **CCCCUCUAGACAAUUGGAAUCCAUA** -3'

Figura 17

H1N1(PR8)-ag-A64-C30

GGGAGAAAGCUUACCAUGAAGGCCAACCGUCUCGUGCUGCUGUGCGCCUCGCGGCCGCC
 GACGCCGACACCAUCUGCAUCGGCUACCACGCCAACACAGCACCGACACGGUCGACACC
 GUGCUGGAGAAGAACGUGACCGUCACCCACUCCGUGAACCGUCUCGAGGACAGCCACAAC
 GGGAAAGCUGUGCCGGCUGAAGGGCAUCGCGCCCCUCCAGCUGGGGAAGUGCAACAUCCG
 GGCUGGCUGCUCGGGAACCCGGAGUGCGACCCCGUCUGCCCGUGCGCUCCUGGAGCUAC
 AUCGUCGAGACGCCAACUCCGAGAACGGCAUCUGCUACCCGGGCGACUUAUCGACUAC
 GAGGAGCUCGCGGAGCAGCUGAGCUCGUGAGCUCUUCGAGCGCUUCGAGAUCUCCCC
 AAGGAGAGCUCUCCUGGCCAACACAAACACCAACGGGGUGACCGCCGCCUGCAGCCACGAG
 GGCAAGUCCAGCUUCUACCGGAACCGUCUCUGGCUGACCGAGAAGGAGGGGUCCUACCC
 AAGCUGAAGAACAGCUACGUCAACAAGAAGGGCAAGGAGGUGCUCGUGCUGUGGGGGAUC
 CACCACCCGCCAACUCCAAGGAGCAGCAGAACCUGUACCAGAACGAGAACGCGUACGUC
 AGCGUGGUGACGUCCAACUACAACCGCCGGUUCACCCCGAGAUCCGCCGAGCGCCCAAG
 GUCCGGGACCAGGCCGGCCGAUGAACUACUACUGGACCCUCCUGAAGCCGGGCGACACC
 AUCAUCUUCGAGGCCAACGGGAACCGAUCGCCCCGAUGUACGCGUUCGCCUCAGCCGG
 GGCUUCGGGAGCGGCAUCAUCACGUCCAACGCCAGCAUGCACGAGUGCAACACCAAGUGC
 CAGACCCCCUGGGCGCAUCAACUCCAGCCUGCCUACCAGAACAUCCACCCGGUGACC
 AUCGGGGAGUGCCCCAAGUACGUGCGCUCGCCAAGCUCGGGAUGGUCACGGGCCUGCGC
 AACACCCAGCAUCCAGUCCGGGGGCGUUCGCGCGGAUCGCCGGGUUCAUCGAGGGC
 GGCUGGACCGGGAUGAUCGACGGCUGGUACGGUACCACCACCAGAACGAGCAGGGCAGC
 GGGUACGCCCGACCAGAAGUCCACCCAGAACGCCAUCAACGGCAUCACCAACAAGGUG
 AACACGGUGAUCGAGAAGAUGAACAUCCAGUUCACCGCGGUCGGCAAGGAGUUAACAAG
 CUCGAGAAGCGCAUGGAGAACCUGAACAAAGAAGGUGGACGACGGGUUCCUGGACAUCCG
 ACCUACAACGCCGAGCUCUCCUGGUGCUGCUCGAGAACGAGCGGACCCUGGACUUCACGAC
 AGCAACGUCAAGAACCUGUACGAGAAGGUGAAGUCCAGCUCAGAACAACGCCAAGGAG
 AUCGGCAACGGGUGCUUCGAGUUCUACCACAAGUGCGACAACGAGUGCAUGGAGAGCGUC
 CGCAACGGCACGUACGACUACCCCAAGUACUCCGAGGAGAGCAAGCUGAACCGGGAGAAG
 GUGGACGGGGUGAAGCUGGAGUCCAUGGGCAUCUACCAGAUCUCCGCCAUCUACAGCACC
 GUCGCCUCCAGCCUGGUGCUGCUGGUGUCCUCGGCGCGAUCAGCUUCUGGAUGUGCAGC
 AACGGGUCCUGCAGUGCCGCAUCUGCAUCUGAccacuaguuaaagacugacua**GCCCG**
AUGGGCCUCCCAACGGGGCCUCCUCCCUCCUUGCACCGagauuaauAAAAAAAAAAAAA
 AAUUCCCC
 CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCUAGACAAUUGGAAUU-3'

Figura 18

H1N1(PR8)-ag-A64-C30-histonaSL

GGGAGAAAGCUUACCAUGAAGGCCAACCCUGCUCGUGCUGCUGUGCGCCUCGCGGCCGCC
 GACGCCGACACCAUCUGCAUCGGCUACCACGCCAACAACAGCACCGACACGGUCGACACC
 GUGCUGGAGAAGAACGUGACCGUCACCCACUCCGUGAACCUGCUCGAGGACAGCCACAAC
 GGGAAAGCUGUGCCGGCUGAAGGGCAUCGCGCCCUCCAGCUGGGGAAGUGCAACAUCGCC
 GGCUGGCUGCUCGGGAACCCGGAGUGCGACCCCUCCUGCUGCCCGUGCGCUCUCCUGGAGCUAC
 AUCGUCGAGACGCCAACUCCGAGAACGGCAUCUGCUACCCGGGCGACUUCAUCGACUAC
 GAGGAGCUCGGGAGCAGCUGAGCUCGUGAGCUCCUUCGAGCGCUUCGAGAUUUCCCC
 AAGGAGAGCUCUCCUGGCCAACCAACAACACCAACGGGGUGACCGCCGCCUCGACCCACGAG
 GGCAAGUCCAGCUUCUACCGGAACCCUGCUCUGGCUGACCGAGAAGGAGGGGUCCUACCCC
 AAGCUGAAGAACAGCUACGUAACAAGAAGGGCAAGGAGGUGCUCGUGCUGUGGGGGAUC
 CACCACCCGCCAACUCCAAGGAGCAGCAGAACCUGUACCAGAACGAGAACGCGUACGUC
 AGCGUGGUGACGUCCAACUACAACCGCCGUUACCCCCGAGAUCGCCGAGCGCCCAAG
 GUCCGGGACCAGGCCGGCCGAUGAACUACUACUGGACCCUCCUGAAGCCGGGCGACACC
 AUCAUCUUCGAGGCCAACGGGAACCCUGAUCGCCCCGAUGUACGCGUUCGCCUCAGCCGG
 GGUUCGGGAGCGGCAUCAUCACGUCCAACGCCAGCAUGCACGAGUGCAACACCAAGUGC
 CAGACCCCCUGGGCGCCAUCAACUCCAGCCUGCCUACCAGAACAUCACCCGGUGACC
 AUCGGGAGUGCCCCAAGUACGUGCGUCCGCCAAGCUCGGAUGGUCACGGGCCUGCGC
 AACAAACCCAGCAUCCAGUCCCGGGGGCUGUUCGGCGCGAUCGCCGGGUUCAUCGAGGGC
 GGCUGGACCGGGAUGAUCGACGGCUGGUACGGGUACCACCACCAGAACGAGCAGGGCAGC
 GGGUACGCCCGACCAGAAGUCCACCAGAACGCCAUCAACGGCAUCACCAACAAGGUG
 AACACGGUGAUCGAGAAGAUGAACAUCCAGUUCACCGCGGUCGGCAAGGAGUUAACAAG
 CUCGAGAAGCGCAUGGAGAACCUGAACAGAAGGUGGACGACGGGUUCCUGGACAUCUGG
 ACCUACAACGCCGAGCUCUCCUGGUGCUGCUCGAGAACGAGCGGACCCUGGACUCCACGAC
 AGCAACGUACAAGAACCUGUACGAGAAGGUGAAGUCCAGCUACAAGAACAACGCCAAGGAG
 AUCGGCAACGGGUGCUUCGAGUUCUACCACAAGUGCGACAACGAGUGCAUGGAGAGCGUC
 CGCAACGGCAGCUACGACUACCCCAAGUACUCCGAGGAGAGCAAGCUGAACCGGGAGAAG
 GUGGACGGGGUGAAGCUGGAGUCCAUGGGCAUCUACCAGAUCUCCGCAUCUACAGCACC
 GUCGCCUCCAGCCUGGUGCUGCUGGUGUCCUCGGCGCGAUCAGCUUCUGGAUGUGCAGC
 AACGGGUCCUGCAGUGCCGCAUCUGCAUCUGAccacuaguuaaagacugacua**GCCCG**
AUGGGCCUCCCAACGGGCCUCCUCCCUCCUUGCACCgagauuaauAAAAAAAAAAAAAA
 AAUGCAUCCCC
 CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCAAGGCUCUUUCAGAGCCACCAGaauu

Figura 19

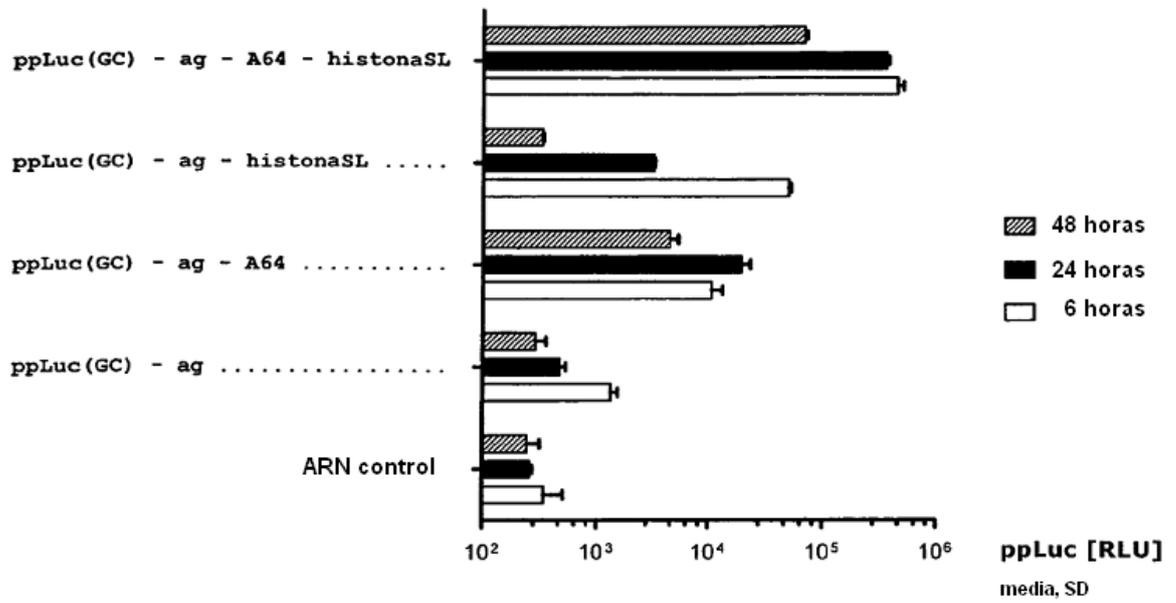


Figura 20

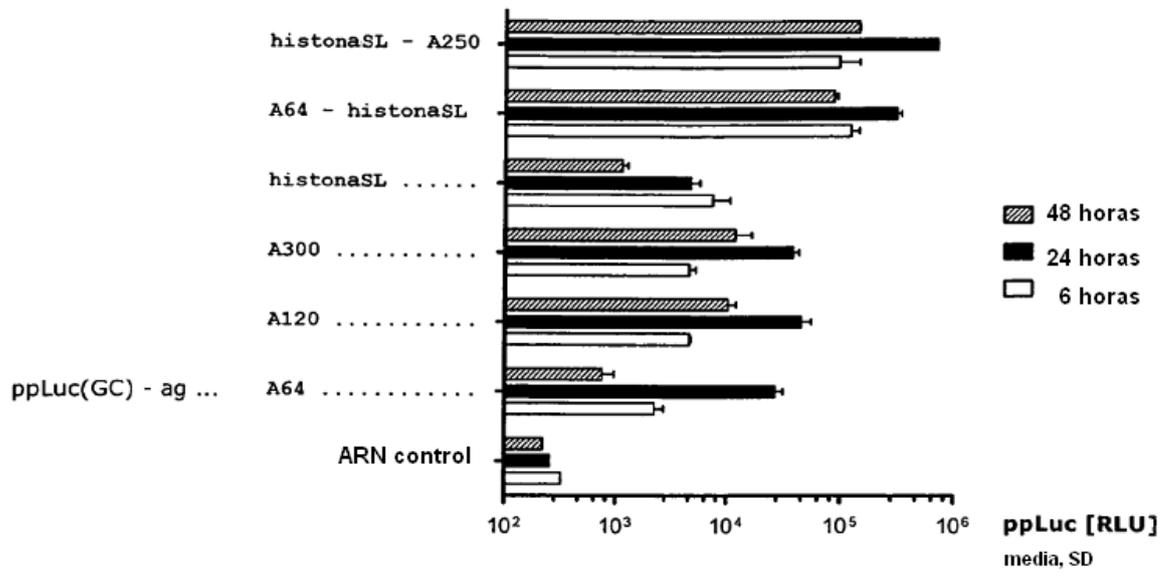


Figura 21

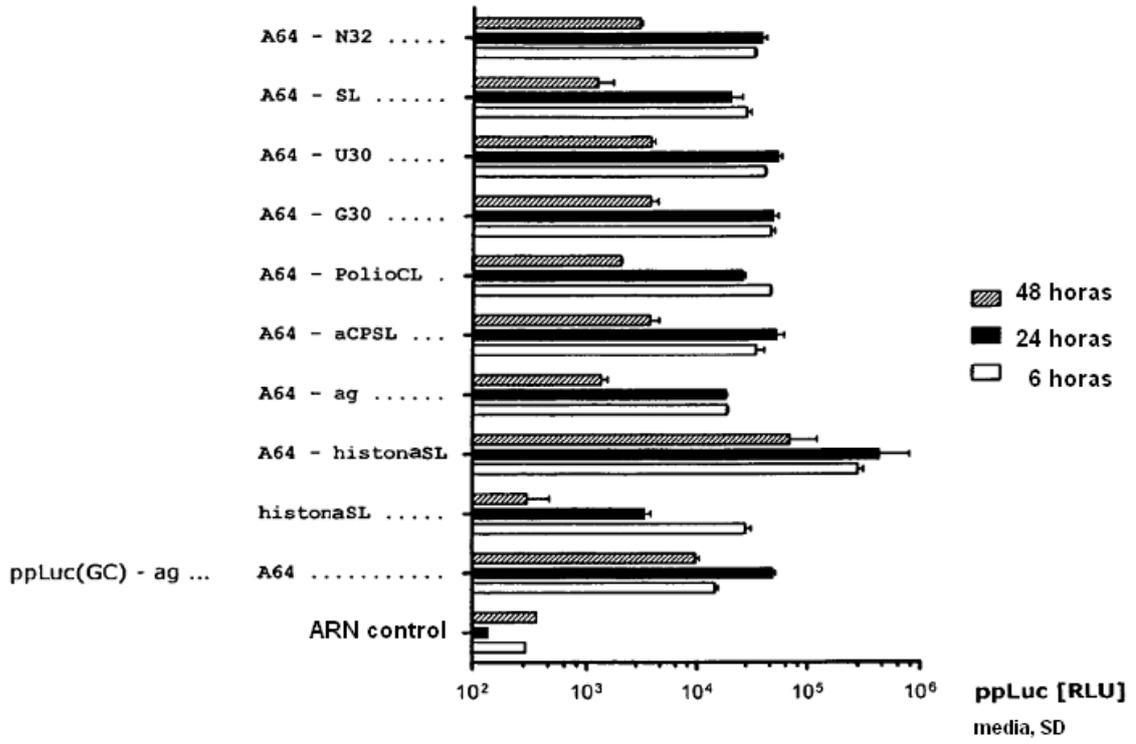


Figura 22

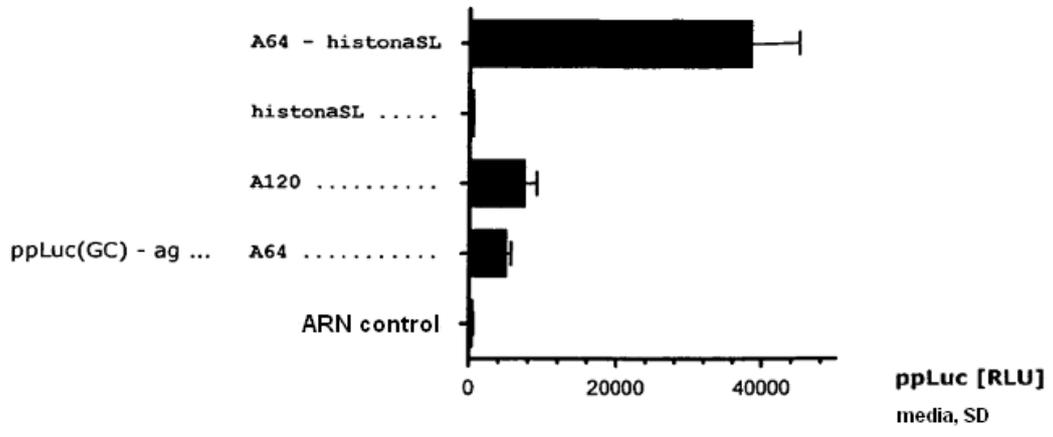


Figura 23

Inducción de anticuerpos IgG1 contra HA del virus PR8 de la Influenza
4 semanas después de la inmunización

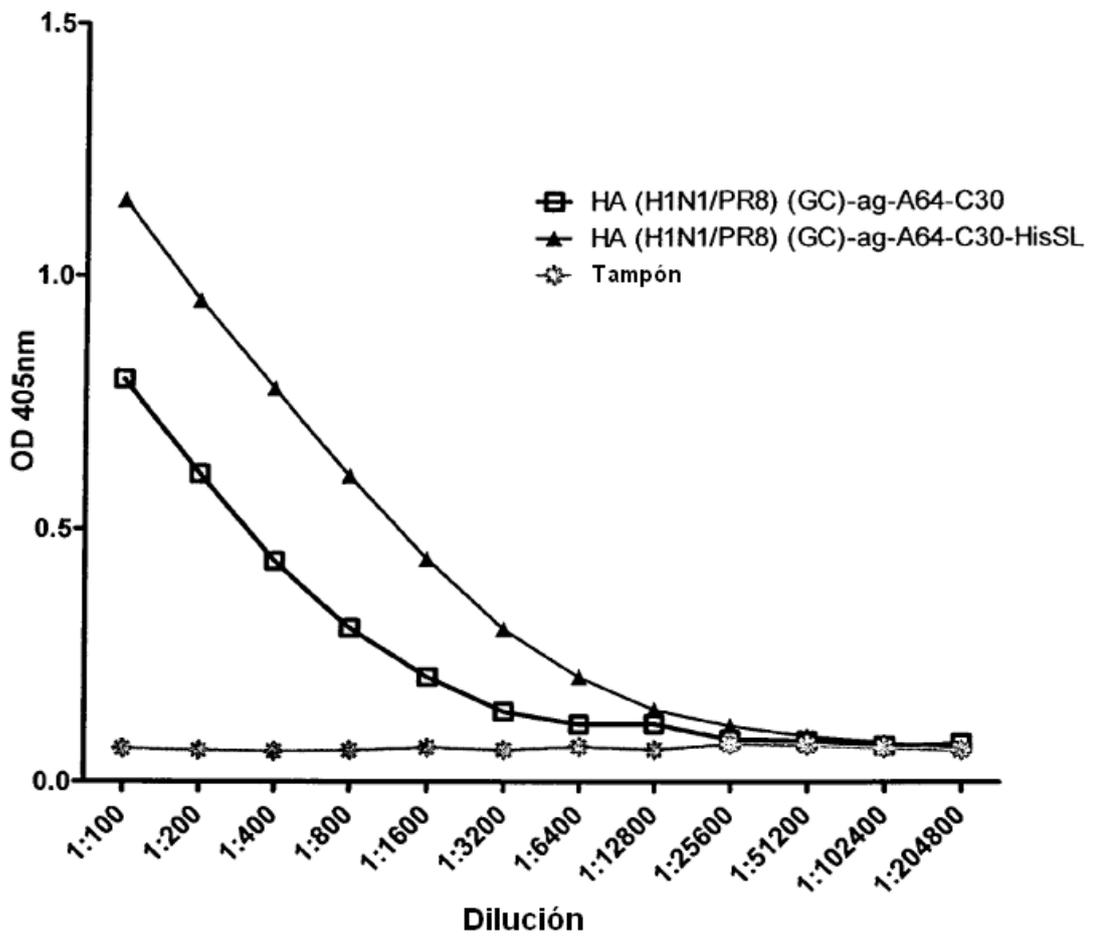


Figura 24