

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 618 103**

51 Int. Cl.:

C12N 15/863 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.11.2009 PCT/EP2009/008275**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.05.2010 WO2010057650**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.11.2009 E 09756267 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.12.2016 EP 2352834**

54 Título: **Vector que comprende múltiples secuencias de nucleótidos homólogas**

30 Prioridad:

21.11.2008 US 116672 P

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

20.06.2017

73 Titular/es:

**BAVARIAN NORDIC A/S (100.0%)
Hejreskovvej 10 A
3490 Kvistgaard, DK**

72 Inventor/es:

STEIGERWALD, ROBIN

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 618 103 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

Vector que comprende múltiples secuencias de nucleótidos homólogas

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

5 El fenómeno de la recombinación homóloga de ácidos nucleicos implica una ruptura física y volver a unir transversalmente cadenas de ácidos nucleicos dentro de secuencias homólogas. La recombinación y la conversión de genes en células de mamíferos han sido estudiadas por muchos grupos quienes han vigilado la reconstrucción de genes seleccionables después de la infección con sustratos virales o plásmidos construidos apropiadamente. (Chakrabarti et al., Mol Cell Biol 6:2520-2526, 1986). Los resultados de estos experimentos indican que las células apoyan de manera eficiente tanto la recombinación intra- e inter-molecular como la conversión de genes. (Id.) La
10 recombinación Intermolecular se refiere a la recombinación entre secuencias homólogas presentes en dos moléculas de ácido nucleico diferentes, mientras que la recombinación intramolecular se refiere a la recombinación entre secuencias homólogas presentes en una única molécula de ácido nucleico.

La recombinación Intermolecular puede ocurrir entre genes en un plásmido o virus y secuencias homólogas dentro de una célula. (Miller et al., Mol Cell Biol 6:2895-2902, 1986). Este tipo de recombinación puede provocar la
15 generación de un virus infeccioso a partir de un virus atenuado. Fuller et al. optimizaron en codones las secuencias separadas del gen *gag* de VIH-1 y el gen *pol* de VIH-1 para aumentar su expresión en células de mamíferos. Estas optimizaciones también redujeron la identidad de los nucleótidos en una región de solapamiento de aproximadamente 200 pares de bases presentes en el gen *gag-pol* del VIH, que también dio como resultado niveles reducidos de recombinación intermolecular entre los marcos de lectura abiertos de *gag* y *pol* colocados en dos
20 plásmidos independientes y el gen *gag* truncado contenido en un vector retroviral recombinante. (Fuller et al., Hum. Gene Ther. 12:2081-2093, 2001).

La recombinación Intramolecular puede producirse con vectores en los que regiones duplicadas de un gen o un fragmento de gen están presentes como repeticiones directas separadas por secuencias intermedias. Este tipo de recombinación generalmente resulta en la delección de las secuencias intermedias y una copia de las secuencias repetidas. La frecuencia de recombinación intramolecular es generalmente mucho más alta que para la
25 recombinación intermolecular.

El nivel de recombinación intramolecular dentro de un vector de plásmido ha sido cuantificado en células de mamíferos. (Rubnitz y Subrami, Mol. Cell Biol. 4:2253-2258, 1984). Dependiendo del tamaño de las regiones homólogas, la frecuencia de recombinación intramolecular dentro de un ADN de plásmido transfectado varió entre
30 0,306% y 0,002%. (Id.) Bajas eficiencias de recombinación se observaron con tan sólo 14 bases de homología. (Id.)

La recombinación intramolecular entre secuencias homólogas también se ha documentado en un cierto número de virus animales, incluyendo picornavirus, virus de la influenza, adenovirus y virus de la viruela. (Gritz et al., J. Virol. 64:5948-5957, 1990). En los virus vacuna se ha demostrado que las secuencias duplicadas en tándem son genéticamente inestables. (Id.) En los virus, se ha visto que un nivel de recombinación intramolecular es mucho
35 mayor que el observado con los vectores de plásmidos.

Por ejemplo, en un retrovirus, se encontró que la frecuencia de recombinación entre dos secuencias idénticas en la misma molécula de ARN era de aproximadamente 62%. (Zhang et al., J. Virol. 75:6348-6358, 2001). El 99% de estas recombinaciones eran intramoleculares (entre dos secuencias en una molécula de ARN), en lugar de intermoleculares (entre dos moléculas de ARN). (Id.) Con virus adeno-asociado, se encontró también que la recombinación intramolecular era mucho más eficiente que la recombinación intermolecular. (Choi et al, J. Virol. 79:6801-6807, 2005). Virus Herpes simplex tipo 1 también ha demostrado que exhibe altos niveles de recombinación. (Dutch et al., J. Virol. 66:277-285). En los poxvirus se ha observado una alta frecuencia de recombinación homóloga. Se utilizó un sistema experimental para medir la recombinación en un virus vacuna mediante la colocación de un gen timidina quinasa (*tk*) entre dos repeticiones directas de 1,5 kb de ADN. (Ball, J. Virol. 61:1788-1795, 1987). Durante cada uno de los ocho primeros pasajes bajo condiciones no selectivas, el 40% de virus vacuna *tk+* perdieron su fenotipo *tk+*. (Id.) En condiciones no selectivas, el virus *tk-* aumentó a una abundancia de 99,73% de la población total de virus. (Id.) Aun en condiciones selectivas, la recombinación se produjo con una frecuencia tan alta que la mayoría de las partículas de virus infecciosas que podrían ser aisladas a partir de placas individuales contenían ADN que ya se había sometido a recombinación con la subsiguiente pérdida del gen *tk*. (Id.) El uso de un virus vacuna recombinante diseñado para expresar tres genes heterólogos, todos
50

expresados de promotores VV P7.5, Howley et al, Gene 172:233-237, 1996, demostró la recombinación entre las secuencias de promotor repetidas. Un virus vacuna recombinante diseñado para contener una región de repetición C (CRR) de la proteína M de *Streptococcus pyogenes* contenía una mezcla compleja de variantes que contenía de 1 a más de 20 copias de la CRR. (Hruby et al., PNAS 88:3190-3194, 1991).

5 Aunque se ha demostrado que múltiples genes con una homología de aproximadamente 60-75% insertados en diferentes sitios de inserción de MVA resultaron en un virus recombinante múltiple estable (documento WO 03/097846), No es, sin embargo, una necesidad en la técnica de composiciones y métodos que reducen el nivel de recombinación intramolecular en vectores tales como, p. ej., vectores virales para permitir la generación de vectores estables incluyendo múltiples secuencias de nucleótidos homólogas que contienen tramos más largos de identidad.

10 LA INVENCION

La presente invención se refiere a vectores recombinantes y a métodos para prepararlos y utilizarlos.

15 En particular, la presente invención abarca un vector de virus vacuna Ankara modificado (MVA) que comprende dos secuencias de nucleótidos de al menos 300 nucleótidos de tamaño que codifican cada una 100 aminoácidos, en donde los 100 aminoácidos codificados por cada una de las dos secuencias de nucleótidos tienen al menos 75% de identidad de aminoácidos y en donde una de las dos secuencias de nucleótidos tiene al menos 75 nucleótidos diferentes de la otra secuencia de nucleótidos, en donde los diferentes nucleótidos no alteran los aminoácidos idénticos codificados por dichas dos secuencias de nucleótidos y en donde las dos secuencias de nucleótidos tienen tramos de identidad de no más de 9 nucleótidos contiguos después de la sustitución y en donde las dos secuencias de nucleótidos codifican una proteína de longitud completa y una proteína RSV-F truncada.

20 Sorprendentemente, se ha demostrado de acuerdo con la presente invención que el riesgo de recombinación intramolecular no sólo puede reducirse significativamente, sino que incluso puede evitarse mediante la sustitución sistemática de los codones sinónimos en al menos dos secuencias de nucleótidos similares o idénticas dentro de una molécula de ácido nucleico tales como, por ejemplo, un vector, conduciendo así a la generación de vectores estables que contienen al menos dos o más secuencias de nucleótidos similares o idénticas. Inesperadamente, la estrategia empleada en la presente invención es también aplicable a vectores que contienen tres o más secuencias de nucleótidos similares.

30 Los resultados obtenidos en la presente invención demuestran que es posible sustituir un gran número de nucleótidos en secuencias de nucleótidos para reducir la recombinación intramolecular dentro de un vector, mientras que, sorprendentemente, al mismo tiempo se conserva todavía la expresión de la proteína codificada: al introducir un alto número de variantes de nucleótidos en largos tramos de una secuencia de nucleótidos tal como se hizo de acuerdo con la presente invención, el experto en la materia habría esperado que la expresión de dicha secuencia o gen ya no funcionaría correctamente, es decir, no era de esperar que la secuencia de nucleótidos cambiada siguiera siendo adecuada para la expresión eficiente. La estrategia empleada en esta memoria no sólo es aplicable a tramos cortos de secuencias de nucleótidos de 300 nucleótidos, sino también a tramos mucho más largos tales como, p. ej., genes de longitud completa que, por supuesto, incluyen un tramo de 300 nucleótidos según se reivindica. Los resultados son aplicables a muchos genes, vectores y virus diferentes y son muy ventajosos para el desarrollo de vacunas tales como, por ejemplo, el desarrollo de vacunas multivalentes, pero también pueden ser ventajosos para otras tecnologías tales como, por ejemplo, la expresión de proteínas o para la generación de líneas celulares recombinantes.

40 En otras realizaciones, la invención también abarca métodos para la generación de virus y vectores de MVA, y métodos para reducir la recombinación intramolecular.

45 La invención abarca un método para generar un vector de virus vacuna Ankara modificado (MVA) tal como se describió anteriormente, comprendiendo dicho método las etapas de a) proporcionar una primera secuencia de nucleótidos de al menos 300 nucleótidos de tamaño que codifica 100 aminoácidos y b) proporcionar una segunda secuencia de nucleótidos de al menos 300 nucleótidos de tamaño que codifica 100 aminoácidos, en el que los 100 aminoácidos codificados por cada una de las dos secuencias de nucleótidos tienen una identidad de aminoácidos de al menos 75% y en el que una de las dos secuencias de nucleótidos tiene al menos 75 nucleótidos diferentes de la otra secuencia de nucleótidos, en el que los diferentes nucleótidos no alteran los aminoácidos idénticos codificados por dichas dos secuencias de nucleótidos y en el que las dos secuencias de nucleótidos tienen tramos de identidad de no más de 9 nucleótidos contiguos después de la sustitución; y c) insertar las dos secuencias de nucleótidos

divergentes en un vector, en donde las dos secuencias de nucleótidos codifican una proteína de longitud completa y una proteína RSV-F truncada.

5 En una realización particularmente preferida, la invención abarca un método para reducir la recombinación intramolecular dentro de un MVA que contiene dos secuencias de nucleótidos de 300 nucleótidos de tamaño, codificando cada una 100 aminoácidos, en el que los 100 aminoácidos codificados por cada una de las dos secuencias de nucleótidos tienen al menos una identidad de aminoácidos de 75%, comprendiendo dicho método sustituir nucleótidos en una o ambas secuencia(s) de nucleótidos para generar dos secuencias divergentes que muestran diferencias en al menos 75 nucleótidos, en el que los diferentes nucleótidos no alteran los aminoácidos idénticos codificados por dichas dos secuencias de nucleótidos y en el que las dos secuencias de nucleótidos tienen tramos de identidad de no más de 9 nucleótidos contiguos después de la sustitución y en el que las dos secuencias de nucleótidos codifican una proteína de longitud completa y una proteína RSV-F truncada.

10 Cuando se utilizan vectores de MVA, el método reduce el nivel de recombinación intramolecular durante cada una de las generaciones de la propagación viral. Preferiblemente, las secuencias de nucleótidos homólogas se recombinan en menos de 20%, 15%, 10%, 5%, 3%, 2%, 1%, 0,5%, 0,1%, 0,05% o 0,01% de los virus de la progenie por generación.

15 En otra realización preferida, la invención abarca un método para generar un virus vacuna Ankara modificado (MVA) que comprende dos secuencias de nucleótidos homólogas, comprendiendo dicho método las etapas de a) proporcionar un virus que comprende una secuencia de nucleótidos de al menos 300 nucleótidos de tamaño que codifica 100 aminoácidos y b) insertar en el virus una segunda secuencia de nucleótidos de al menos 300 nucleótidos de tamaño que codifica 100 aminoácidos; en el que los 100 aminoácidos codificados por cada una de las dos secuencias de nucleótidos tienen una identidad de aminoácidos de al menos 75%, y en el que una de las dos secuencias de nucleótidos tiene al menos 75 nucleótidos diferentes de la otra secuencia de nucleótidos, en el que los diferentes nucleótidos no alteran los aminoácidos idénticos codificados por dichas dos secuencias de nucleótidos y en el que las dos secuencias de nucleótidos tienen tramos de identidad de no más de 9 nucleótidos contiguos después de la sustitución.

20 **Tal** como se utiliza en esta memoria, un "vector" puede ser cualquier agente capaz de suministrar y expresar moléculas de ácido nucleico en una célula huésped o sujeto. Por lo tanto, un vector puede ser un producto de la PCR o cualquier trozo de ácido nucleico introducido en una célula y/o integrado en el genoma celular; o un replicón tal como un plásmido, fago o cósmido, en el que se puede insertar otro segmento de ADN con el fin de llevar a cabo la replicación del segmento insertado. Generalmente, un vector puede replicarse cuando se asocia con los elementos de control apropiados. Cadenas principales de vectores adecuados para uso en la presente invención incluyen, por ejemplo, las utilizadas rutinariamente en la técnica tales como plásmidos, virus, cromosomas artificiales, BACs, YACs o PACs, o incluso células recombinantes tales como bacterias y células eucariotas. El término "vector" incluye vectores de clonación y expresión, así como vectores virales y vectores de integración. Un "vector de expresión" es un vector que incluye una región reguladora. Vectores de expresión adecuados para uso en la presente invención incluyen, sin limitación, plásmidos y vectores virales derivados de, por ejemplo, virus de plantas, bacteriófagos, baculovirus, virus del mosaico del tabaco, retrovirus y virus de la viruela. Vectores no virales adecuados incluyen plásmidos tales como pREP4, pCEP4 (Invitrogene), pCI (Promega), pCDM8 (Seed, 1987, Nature 329,840), pVAX y pgWiz (Gene Therapy System Inc; Himoudi et al., 2002, J. Virol. 76, 12735-12746). Numerosos vectores y sistemas de expresión están disponibles comercialmente de compañías tales como Novagen (Madison, Wis.), Clontech (Palo Alto, Calif.), Stratagene (La Jolla, Calif.) e Invitrogen/Life Technologies (Carlsbad, Calif.).

25 En el desarrollo de vacunas, un virus recombinante se puede utilizar como el vehículo o vector de vacuna para suministrar material genético a una célula. Una vez en la célula, la información genética se transcribe y se traduce en proteínas, incluyendo el antígeno insertado que fija como objetivo una enfermedad específica. El tratamiento es exitoso si el antígeno suministrado por el vector en la célula induce la respuesta inmune del cuerpo contra el antígeno que protege frente a la enfermedad.

30 El vector de MVA se puede basar en un virus atenuado, que no puede replicar en el huésped, pero que es capaz de introducir y expresar un gen extraño en la célula infectada. El virus o el virus recombinante es con ello capaz de hacer una proteína y mostrarla al sistema inmune del huésped. Algunas de las características clave de vectores virales son que pueden provocar una respuesta humoral (células B) y/o inmune mediada por células (células T).

35 Los vectores virales se utilizan comúnmente por los investigadores para desarrollar vacunas para la prevención y el tratamiento de enfermedades infecciosas y el cáncer. De éstos, los poxvirus (incluyendo la viruela del canario,

viruela vacuna y la viruela aviar) pertenecen al grupo de los candidatos más comunes de vacuna de vector. Los poxvirus son una opción preferida para la transferencia de material genético en nuevos huéspedes debido a la capacidad relativamente grande para la inserción de secuencias en el genoma viral y debido a su capacidad para replicar sus genomas y llevar a cabo la transcripción en el citoplasma de la célula infectada en lugar del núcleo, minimizando con ello el riesgo de mutagénesis por inserción mediante la integración de material genético en el genoma de la célula huésped tal como se observa con otros vectores, p. ej., vectores retrovirales. Los viriones de los poxvirus son grandes en comparación con la mayoría de otros virus animales (para más detalles, véase Fields et al., comps., Virology, 3ª edición, Volumen 2, Capítulo 83, páginas 2637 y siguientes).

El virus de la invención es un virus vacuna Ankara modificado (MVA), que se sabe que es excepcionalmente seguro en vacunaciones.

El virus vacuna Ankara modificado (MVA) está relacionado con el virus Vacuna, un miembro del género Orthopoxvirus de la familia Poxviridae. El MVA ha sido generada mediante 516 pases en serie en fibroblastos de embrión de pollo de la cepa de vacuna Ankara dérmica (virus vacuna del corioalantoides Ankara, CVA) (para una revisión véase Mayr, A., et al., Passage History: Abstammung, Eigenschaften und Verwendung des attenuierten Vaccinia-Stammes MVA, Infection 3, 6-14, 1975). Como consecuencia de estos pasajes de largo plazo el virus MVA resultante eliminó aproximadamente 31 kilobases de su secuencia genómica y, por lo tanto, fue descrito como altamente restringido a células huésped de células aviares (Meyer, H. et al., Mapping of deletions in the genome of the highly attenuated vaccinia virus MVA and their influence on virulence, J. Gen. Virol. 72, 1031-1038, 1991; (Meisinger-Henschel et al., Genomic sequence of chorioallantois vaccinia virus Ankara, the ancestor of modified vaccinia virus Ankara, J. Gen. Virol. 88, 3249-3259, 2007). Se demostró, en una diversidad de modelos animales que el MVA resultante era significativamente avirulento (Mayr, A. y Danner, K. Vaccination against pox diseases under immunosuppressive conditions, Dev. Biol. Stand. 41: 225-34, 1978). Adicionalmente, esta cepa de MVA ha sido testada en ensayos clínicos como vacuna para inmunizar contra la enfermedad de la viruela humana (Mayr et al., Zbl. Bakt. Hyg. I, Abt. Org. B 167, 375-390 [1987], Stickl et al., MVA vaccination against smallpox: clinical tests with an attenuated live vaccinia virus strain (MVA) (traducción del autor), Dtsch. med. Wschr. 99, 2386-2392, 1974). Estos estudios implicaron a más de 120.000 seres humanos, incluyendo pacientes de alto riesgo, y ha demostrado que, en comparación con las vacunas basadas en Vaccinia, MVA tuvo la virulencia o capacidad de infección disminuida mientras que mantenía una buena inmunogenicidad.

La invención abarca virus MVA recombinantes generados con cualquiera y todos los virus MVA. Un ejemplo de una cepa de MVA es el depósito VR-1508, depositada en la American Type Culture collection (ATCC), Manassas, VA 20108, EE.UU. En otra realización, la cepa MVA-Vero o un derivado de la misma se puede utilizar de acuerdo con la presente invención. La cepa MVA-Vero ha sido depositada en la European Collection of Animal Cell Cultures bajo el número de depósito ECACC V99101431 y ECACC 01021411. Otros ejemplos de cepas de virus MVA utilizadas de acuerdo con la presente invención son las cepas MVA 572 y 575 depositados en la European Collection of Animal Cell Cultures (ECACC), Salisbury (Reino Unido) con el número de depósito ECACC V94012707 y ECACC V00120707, respectivamente. Virus MVA particularmente preferidos son cepas variantes de MVA MVA-BN® tales como, p. ej., depositadas en ECACC bajo el número V00083008, y derivados que tienen las mismas propiedades que MVA-BN®.

MVA-BN® es un virus utilizado en la fabricación de una vacuna contra la viruela de tercera generación independiente. MVA-BN® fue desarrollado mediante pasajes adicionales de la cepa MVA 571/572. Hasta la fecha, más de 1500 sujetos, incluyendo sujetos con dermatitis atópica (AD) y la infección por el VIH han sido vacunados en ensayos clínicos con vacunas basadas en MVA-BN®.

Derivados que tienen las mismas propiedades que la cepa depositada de MVA-BN® tienen la capacidad de replicación reproductiva in vitro en fibroblastos de embrión de pollo (CEF), pero ninguna capacidad de replicación reproductiva en células humanas en las que MVA 575 o MVA 572 pueden replicarse reproductivamente. Lo más preferiblemente, el MVA no tiene capacidad de replicación reproductiva en la línea celular de queratinocitos humanos HaCaT, la línea celular de riñón de embrión humano 293, la línea celular de osteosarcoma del hueso humano 143B y la línea celular de adenocarcinoma de cuello uterino humano HeLa.

La expresión "no capaz de replicación reproductiva" se utiliza en la presente solicitud como se define en el documento WO 02/42480 y la Patente de EE.UU. 6.761.893, respectivamente. Por lo tanto, dicho término se aplica a un virus que tiene una relación de amplificación del virus a los 4 días después de la infección de menos de 1 utilizando los ensayos descritos en la Patente de EE.UU. 6.761.893. La "relación de amplificación" de un virus es la relación de virus producido a partir de una célula infectada (de salida) a la cantidad utilizada originalmente para infectar las células en primer lugar (de entrada). Una relación de "1" entre la salida y la entrada define un estado de

amplificación en el que la cantidad de virus producido a partir de las células infectadas es la misma que la cantidad utilizada inicialmente para infectar las células.

En una realización más preferida, la cepa MVA utilizada en la presente invención es MVA-BN® o un derivado tal como se describió anteriormente. Las características de MVA-BN®, la descripción de ensayos biológicos que permiten evaluar si una cepa MVA es MVA-BN® o un derivado del mismo y métodos que permiten obtener MVA-BN® o un MVA que tiene las propiedades de MVA-BN® se describen en el documento WO 02/42480. El contenido de esta solicitud se incluye en la presente solicitud como referencia. El virus MVA-BN® altamente atenuada se puede derivar, p. ej., mediante el pasaje adicional de un virus vacuna Ankara modificado (MVA) tal como MVA-572 o MVA-575 y, opcionalmente, mediante purificación en placa o clon. MVA-BN® carece de aproximadamente 13% (de 26,5 kb de seis grandes sitios de delección y múltiples de menor importancia) del genoma en comparación con el virus de CVA ancestral. Las delecciones afectan a un cierto número de genes de virulencia y de gama de huéspedes, así como a un gran fragmento del gen que codifica la proteína de inclusión de tipo A (ATI) y un gen que codifica una proteína estructural que dirige partículas de virus maduros en los cuerpos de inclusión de tipo A.

En particular, se hace referencia a la definición de las propiedades del MVA de acuerdo con la invención tal como se describe en el documento WO 02/42480, tales como las propiedades de MVA-BN® o las propiedades y definiciones de los derivados de MVA-BN®. Dicha referencia también describe cómo se pueden propagar MVA y otros virus vacuna. Brevemente, células eucariotas se infectan con el virus. Las células eucariotas son células que son susceptibles a la infección con el poxvirus respectivo y permiten la replicación y producción de virus infeccioso. Para el MVA un ejemplo para este tipo de células son fibroblastos de embrión de pollo (CEF) y células BHK (Drexler et al., Highly attenuated modified vaccinia Ankara replicates in baby hamster kidney cells, a potential host for virus propagation, but not in various human transformed and primary cells, J. Gen. Virol. 79, 347-352, 1998). Células CEF pueden cultivarse en condiciones conocidas por la persona experta en la técnica. Preferiblemente, las células CEF se cultivan en medio libre de suero en matraces estacionarios o frascos rodantes. La incubación tiene lugar preferiblemente durante 48 a 96 horas a 37°C. Para la infección por MVA se utiliza preferiblemente a una multiplicidad de infección (MOI) de 0,05 a 1 TCID₅₀ y la incubación tiene lugar preferiblemente durante 48 a 72 horas a 37°C.

Los virus tal como se utilizan de acuerdo con la invención se pueden propagar en diversos cultivos celulares, en particular cultivos de células animales. Se permite que el virus infecte cultivos celulares susceptibles y se repliquen de forma reproductiva. Virus de la progenie se recogen mediante técnicas rutinarias en la técnica.

Por ejemplo, con virus MVA y otros virus vacuna, fibroblastos de embrión de pollo (CEF) en medio que contiene suero o medio libre de suero pueden ser infectados con los virus. Después de que se ha permitido que el virus replique reproductivamente, se recogen los virus de la progenie.

La presente invención también se refiere a un MVA capaz de expresar dos o más secuencias de nucleótidos homólogas, en particular secuencias de codificación. El virus puede contener dos, tres, cuatro o más secuencias codificadoras de nucleótidos homólogas.

El vector de la presente invención comprende dos secuencias de nucleótidos de al menos 300 nucleótidos de tamaño. En una realización preferida, el MVA comprende tres, cuatro, cinco, seis o más secuencias de nucleótidos, que, por supuesto, abarcan también dos secuencias de nucleótidos según se reivindica. 300 nucleótidos pueden, por supuesto, también ser parte de una secuencia de nucleótidos más larga.

Adicionalmente, en diversas realizaciones, las dos o más secuencias de nucleótidos son 300, 350, 400, 450, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1500, 2000, 2500 ó 3000 o incluso más nucleótidos de tamaño que puede ser todos parte de secuencias de nucleótidos más largas y que, por supuesto, todos incluyen 300 nucleótidos según se reivindica.

Tal como se utiliza en esta memoria, el término "polinucleótido" y las expresiones "secuencia de nucleótidos", "ácido nucleico", "molécula de ácido nucleico" "secuencia de ácido nucleico" se utilizan indistintamente y definen un polímero de moléculas de polidesoxirribonucleótidos (ADN) o polirribonucleótidos (ARN) o cualquier combinación de las mismas. La definición abarca polinucleótidos de cadena sencilla o doble, lineal o circular, que se producen de forma natural o sintéticos.

Las secuencias de nucleótidos de la presente invención pueden ser secuencias codificantes y pueden contener genes completos, respectivamente. La expresión "secuencia codificante", tal como se utiliza en esta memoria, se refiere a una secuencia de nucleótidos que codifica una secuencia de aminoácidos específica. Secuencias no codificantes de genes incluyen intrones y regiones de control tales como promotores, operadores y terminadores.

Las secuencias de nucleótidos también pueden contener fragmentos de genes. Las secuencias de nucleótidos pueden contener secuencias sintéticas tales como secuencias de nucleótidos que codifican secuencias o epítomos enlazadoras de aminoácidos. Las secuencias de nucleótidos pueden estar compuestas de una mezcla de genes, fragmentos de genes y secuencias sintéticas. La secuencia de nucleótidos también puede contener análogos tales como análogos de nucleótidos, análogo de éster fosfato y/o análogo de azúcar pentosa. También se incluyen dentro de la definición de análogos de nucleótidos nucleótidos en los que enlaces éster fosfato y/o éster azúcar-fosfato se reemplazaron con otros tipos de enlaces tales como N-(2-aminoetil)-glicina-amidas y otras amidas (véase, p. ej., Nielsen et al, 1991, Science 254:1497-1500; documento WO 92/20702; Pat. de EE.UU. N° 5.719.262; Pat. de EE.UU. N° 5.698.685); morfolinos (véase, p. ej., Pat. de EE.UU. N° 5.698.685; Pat. de EE.UU. N° 5.378.841; Pat. de EE.UU. N° 5.185.144); carbamatos (véase, por ejemplo, Stirchak y Summerton, 1987, J. Org. Chem. 52:4202); metileno (metilimino) (véase, p. ej., Vasseur et al., 1992, J. Am Chem Soc 114: 4006); 3'-tioformacetales (véase, p. ej., Jones et al, 1993, J. Org Chem 58: 2983); sulfamatos (véase, p. ej., Pat. de EE.UU. N° 5.470.967); 2-aminoetilglicina, a la que se alude comúnmente como PNA (véase, p. ej., Buchardt, documento WO 92/20702; Nielsen (1991) Science 254:1497-1500); y otros (véase, p. ej., Pat de EE.UU. N° 5.817.781; Frier y Altman, 1997, Nucl. Acids Res. 25:4429 y las referencias citadas en la misma). Análogos de éster fosfato incluyen, pero no se limitan a, (i) alquil C1-C4-fosfonato, p. ej., metilfosfonato; (ii) fosforoamidato; (iii) alquil C1-C6-fosfotriéster; (iv) fosforotioato; y (v) fosforoditioato.

Modificaciones adicionales incluyen modificaciones químicas (p. ej., véase el documento WO 92/03568; US 5.118.672) con el fin de aumentar la estabilidad in vivo del ácido nucleico, mejoran el suministro de los mismos, o reducen la velocidad de aclaramiento del sujeto huésped.

Además, en una realización, la secuencia de nucleótidos puede contener genes de fusión, genes artificiales y poliepitopos.

Un gen de fusión, tal como se designa en esta memoria, es un gen híbrido formado a partir de dos genes previamente separados, fragmentos de genes o ADN artificial o epítomos. Puede producirse como el resultado de una translocación, delección intersticial o inversión.

Un gen de fusión puede construirse enlazando al menos dos fragmentos de ADN, en donde los fragmentos de ADN codifican secuencias de aminoácidos idénticas o diferentes.

Las proteínas de fusión pueden facilitar la expresión y/o purificación de proteínas. Por ejemplo, un polipéptido de la invención puede ser generado como una proteína de fusión con glutatión-S-transferasa (GST). Tales proteínas de fusión GST se pueden utilizar para simplificar la purificación de un polipéptido de la invención tal como mediante el uso de matrices derivatizadas de glutatión (véase, por ejemplo, Current Protocols in Molecular Biology, comps. Ausubel et al, (N. Y.: John Wiley & Sons, 1991)). En otra realización, un gen de fusión que codifica una secuencia conductora de la purificación tal como una secuencia del sitio de escisión de poli-(His)/enteroquinasa en el extremo N de la parte deseada de la proteína recombinante, puede permitir la purificación de la proteína de fusión expresada por cromatografía de afinidad utilizando una resina de metal de Ni²⁺. La secuencia conductora de la purificación puede entonces ser separada posteriormente por tratamiento con enteroquinasa para proporcionar la proteína purificada (p. ej., véase Hochuli et al., (1987) J. Chromatography 411: 177; y Janknecht et al., PNAS USA. 88:8972). Secuencias heterólogas adicionales que codifican un polipéptido que permite la detección, el aislamiento, la solubilización y/o la estabilización del polipéptido al que se fusiona, incluyen etiqueta poli His, myc, HA, proteína A, proteína G, péptido de unión a calmodulina, tiorredoxina, proteína de unión a maltosa, poli-arginina, poli His-Asp, FLAG, una porción de una proteína inmunoglobulina y un péptido de transcitosis.

Las técnicas para hacer genes de fusión son bien conocidas. Esencialmente, la unión de diversos fragmentos de ADN que codifican diferentes secuencias de polipéptidos se lleva a cabo de acuerdo con técnicas convencionales, empleando finales de extremos romos o escalonados para la ligación, digestión con enzimas de restricción para proporcionar extremos apropiados, relleno de extremos cohesivos según sea apropiado, tratamiento con fosfatasa alcalina para evitar una unión indeseable y ligamiento enzimático. En otra realización, el gen de fusión puede sintetizarse por técnicas convencionales incluyendo sintetizadores de ADN automatizados. Alternativamente, la amplificación por PCR de fragmentos de genes puede llevarse a cabo utilizando cebadores de anclaje que dan lugar a colgantes complementarios entre dos fragmentos de genes consecutivos que posteriormente pueden reasociarse para generar una secuencia génica quimérica (véase, por ejemplo, Current Protocols in Molecular Biology, comps. Ausubel et al, John Wiley & Sons: 1992) y mediante la PCR por fusión, en la que dos o más polinucleótidos están compartiendo un tramo de identidad, que en una reacción de PCR puede dar lugar a secuencias de polinucleótidos condensadas.

En otra realización preferida, la secuencia de nucleótidos de la presente invención codifica un poliepítopo. Un poliepítopo es una proteína quimérica que contiene epítomos aislados a partir de al menos una proteína/antígeno, preferiblemente de más de una proteína/antígeno.

5 Dichos epítomos pueden ser "aislados" o pueden ser "biológicamente puros". El término "aislado" se refiere a material que está sustancialmente libre de componentes que normalmente lo acompañan tal como se encuentra en su entorno natural. Un epítopo "aislado" se refiere a un epítopo que no incluye los aminoácidos vecinos de toda la secuencia del antígeno o proteína de la que se derivó el epítopo.

10 Con respecto a una secuencia de aminoácidos particular, un "epítopo" es un conjunto de residuos de aminoácidos que está implicado en el reconocimiento por una inmunoglobulina particular, o en el contexto de células T, los residuos necesarios para el reconocimiento por parte de proteínas de receptor de células T y/o moléculas Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC). El término "péptido" designa una serie de aminoácidos, conectados uno a otro, típicamente mediante enlaces peptídicos entre los grupos amino y carboxilo de aminoácidos adyacentes.

15 Los epítomos son de una determinada longitud y se unen a una molécula que funciona en el sistema inmune, preferiblemente una de HLA clase I y un receptor de células T. Los epítomos en una construcción de poliepítomos pueden ser epítomos de HLA clase I y, opcionalmente, epítomos HLA de clase II. A los epítomos HLA de clase I se les alude como epítomos de CTL y a los epítomos HLA de clase II se les alude como epítomos HTL. Algunas construcciones de poliepítomos pueden tener un subconjunto de epítomos de HLA clase I y otro subconjunto de epítomos de HLA clase II. Un epítopo de CTL consiste habitualmente en 13 o menos residuos de aminoácidos de longitud, 12 o menos aminoácidos de longitud u 11 o menos aminoácidos de longitud, preferiblemente de 8 a 13 aminoácidos de longitud, lo más preferiblemente de 8 a 11 aminoácidos de longitud (es decir, 8, 9, 10 u 11). Un epítopo de HTL consiste en 50 o menos residuos aminoácidos de longitud, y habitualmente en 6 a 30 residuos, más habitualmente 12 a 25, y preferiblemente consiste en 15 a 20 (es decir, 15, 16, 17, 18, 19 ó 20) aminoácidos de longitud. La construcción de poliepítomos de la presente invención incluye preferiblemente 2 o más, 5 o más, 10 o más, 13 o más, 15 o más, 20 o más, o 25 o más epítomos de CTL. Más específicamente, la construcción de poliepítomos comprende al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 55, 60 o más epítomos de CTL.

30 Secuencias de nucleótidos homólogas de acuerdo con la presente invención se pueden derivar de cualquier organismo, microorganismo, tal como cualquier virus, cualquier bacteria, cualquier hongo o parásito. Las secuencias de nucleótidos homólogas pueden ser heterólogas a la secuencia del vector, pero también homólogas a la misma: cuando, por ejemplo, un virus se utiliza como un vector, también secuencias de nucleótidos propias del virus se pueden multiplicar de acuerdo con la presente invención, por ejemplo, con el fin de sobre-exresar una proteína del virus para conseguir la reactividad o seguridad inmunológica mejorada. Preferiblemente, las secuencias de nucleótidos homólogas se derivan de un microorganismo infeccioso o patógeno y lo más preferiblemente de diferentes cepas o clados, variantes, subtipos o serotipos de dicho microorganismo. Los términos "cepa" o "clado" son términos técnicos, bien conocidos por el profesional, en referencia a la taxonomía de los microorganismos. El sistema taxonómico clasifica hasta ahora a todos los microorganismos caracterizados en el orden jerárquico de las familias, géneros, especies, cepas (Fields Virology, comp. por Fields B.N., Lippincott-Raven Publishers, 4ª edición 2001). Mientras que los criterios para los miembros de la familia es su relación filogenética, un género comprende todos los miembros que comparten características comunes, y una especie se define como una clase política que constituye un linaje replicante y ocupa un nicho ecológico particular. El término "cepa" o "clado" describe un microorganismo, es decir, el virus, que comparte las características comunes tales como la morfología básica o la estructura y organización del genoma, pero que varía en sus propiedades biológicas tales como la gama de huéspedes, el tropismo tisular, la distribución geográfica, la atenuación o patogenicidad. El término "variantes" o "serotipos" distingue, además, entre miembros de la misma cepa, también llamados subtipos, que muestran los espectros de infección individuales o propiedades antigénicas debidas a las variaciones genómicas menores.

50 Se describen secuencias de nucleótidos homólogas seleccionados del virus. Ejemplos representativos de virus incluyen, sin limitación, el VIH (VIH-I o VIH-2), virus del herpes (p. ej., HSV1 o HSV2), citomegalovirus (CMV), virus Epstein Barr (EBV), virus de la hepatitis (p. ej., virus de hepatitis A (VHA), VHB, VHC y virus de la hepatitis E), flavivirus (p. ej., virus de la fiebre amarilla), virus de la varicela-zoster (VZV), paramixovirus, virus sincitial respiratorio (RSV), virus de parainfluenza, virus del sarampión, virus de la gripe y papilomavirus.

Se describen secuencias de nucleótidos homólogas que se seleccionan de entre los genes del virus del Dengue tales como genes homólogos derivados de diferentes serotipos del virus, en donde dichos genes se pueden derivar de uno, dos, tres o todos de los 4 serotipos del virus del Dengue.

De acuerdo con la invención, las dos secuencias de nucleótidos homólogas codifican proteínas del virus respiratorio sincitial (RSV), en donde uno de los genes del RSV es de longitud completa y el otro está truncado.

5 También se describen dos, preferiblemente tres secuencias de nucleótidos homólogas que codifican proteínas del virus de Ébola (EBOV). Tres secuencias de nucleótidos homólogas que codifican proteínas del virus del Ébola (EBOV) cubren, por supuesto, también dos secuencias de nucleótidos homólogas. En una realización preferida, las secuencias de nucleótidos homólogas codifican glicoproteínas EBOV (GP). En una realización particular preferida, las secuencias de nucleótidos codifican proteínas precursoras de las cepas de EBOV EBOV-B (Bundibugyo), EBOV-S (cepa del virus del Ébola Gulu del Sudán) y EBOV-Z (cepa del virus del Ébola Mayinga de Zaire).

10 Se describen además secuencias de nucleótidos homólogas que se seleccionan de bacterias. Ejemplos representativos de bacterias adecuadas incluyen, sin limitación, *Neisseria* (p. ej., *N. gonorrhoea* y *N. meningitidis*); *Bordetella* (p. ej., *B. pertussis*, *B. parapertussis* y *B. bronchiseptica*), micobacterias (p. ej., *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. leprae*, *M. avium*, *M. paratuberculosis*, *M. smegmatis*); *Legionella* (p. ej. *L. pneumophila*); *Escherichia* (p. ej., *E. coli* enterotóxica, *E. coli* enterohemorrágica, *E. coli* enteropatógena); *Shigella* (p. ej., *S. sonnei*, *S. dysenteriae*, *S. flexnerii*); *Salmonella* (p. ej., *S. typhi*, *S. paratyphi*, *S. choleraesuis*, *S. enteritidis*); *Listeria* (p. ej., *L. monocytogenes*);
 15 *Helicobacter* (p. ej., *H. pylori*); *Pseudomonas* (p. ej., *P. aeruginosa*); *Staphylococcus* (p. ej., *S. aureus*, *S. epidermidis*); *Enterococcus* (p. ej., *E. faecalis*, *E. faecium*); *Bacillus* (p. ej., *B. anthracis*); *Corynebacterium* (p. ej., *C. diphtheriae*), y *Chlamydia* (p. ej., *C. trachomatis*, *C. pneumoniae*, *C. psittaci*). Ejemplos representativos de parásitos incluyen, sin limitación *Plasmodium* (p. ej., *P. falciparum*); *Toxoplasma* (p. ej., *T. gondii*); *Leshmania* (p. ej., *L. major*);
 20 *Pneumocystis* (p. ej., *P. carinii*); y *Schistosoma* (p. ej., *S. mansoni*). Ejemplos representativos de hongos incluyen, sin limitación, *Candida* (p. ej., *C. albicans*) y *Aspergillus*.

Las al menos dos secuencias de nucleótidos pueden ser de diferentes tamaños. En diversas realizaciones, una de las dos secuencias de nucleótidos está truncada con respecto a la otra. El truncamiento puede ser en el extremo 5' o 3'.

25 En diversas realizaciones, los 300 nucleótidos de las dos secuencias de nucleótidos codifican 100 aminoácidos, que tienen una identidad de aminoácidos de al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% o 100%. En una realización preferida, dicha identidad de aminoácidos está dentro de un tramo de 100, 125, 150, 175, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 600, 700, 800, 900 ó 1000 o más aminoácidos contiguos.

En una realización particular preferida, los aminoácidos tienen una identidad de aminoácidos de al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% o 100% dentro de un tramo de al menos 150 ó 200 aminoácidos contiguos.

30 En otras realizaciones preferidas, las proteínas codificadas por las dos secuencias de nucleótidos tienen una identidad de aminoácidos de al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% o 100% dentro de un tramo de 300 ó 500 aminoácidos contiguos. En otras realizaciones preferidas, las proteínas codificadas por las al menos dos secuencias de nucleótidos tienen una identidad de aminoácidos de 85%-100%, en particular de 100% dentro de un tramo de 100, 200, 400, 600 u 800 aminoácidos contiguos en comparación por pares.

35 Tal como se utiliza en esta memoria, cualquier término que se refiera a "porcentaje de identidad de secuencia" tal como "identidad de aminoácidos" se refiere al grado de identidad entre cualquier secuencia consulta determinada y una secuencia sujeto.

40 Específicamente, se utilizan los siguientes términos para describir las relaciones de secuencia entre dos o más ácidos nucleicos, polinucleótidos o secuencias de aminoácidos: "secuencia de referencia", "ventana de comparación", "identidad de secuencia", "porcentaje de identidad de secuencia" e "identidad sustancial". Una "secuencia de referencia" es una secuencia definida utilizada como base para una comparación de secuencias; una secuencia de referencia puede ser un subconjunto de una secuencia mayor.

45 Los términos "idéntico" o porcentaje de "identidad", en el contexto de dos o más secuencias de ácidos nucleicos o polipéptidos, se refieren a dos o más secuencias o sub-secuencias que son iguales o tienen un porcentaje especificado de residuos aminoácidos o nucleótidos que son el mismo (p. ej., 75% de identidad, 80% de identidad, 85% de identidad, 90% de identidad, 99% o 100% de identidad en comparación por pares), cuando se comparan y alinean para una correspondencia máxima a lo largo de una ventana de comparación, o región designada tal como se mide utilizando un algoritmo de comparación de secuencias o mediante alineamiento manual e inspección visual.
 50 El porcentaje se calcula determinando el número de posiciones en las que la base de ácido nucleico o el residuo aminoácido idéntico se produce en ambas secuencias para proporcionar el número de posiciones coincidentes,

dividiendo el número de posiciones coincidentes por el número total de posiciones en la ventana de comparación y multiplicando los resultados por 100 para proporcionar el porcentaje de identidad de la secuencia.

La frase "sustancialmente idénticas", en el contexto de dos ácidos nucleicos o polipéptidos, se refiere a dos o más secuencias o sub-secuencias que tienen una identidad de al menos aproximadamente 85%, una identidad de al menos aproximadamente 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de residuos nucleótidos o aminoácidos, cuando se comparan y alinean por pares para una correspondencia máxima, tal como se mide utilizando un algoritmo de comparación de secuencias o mediante inspección visual. En una realización a modo de ejemplo, la identidad sustancial existe a lo largo de una región de las secuencias que es al menos de aproximadamente 50 residuos de longitud. En otra realización a modo de ejemplo, la identidad sustancial existe a lo largo de una región de las secuencias que es de al menos aproximadamente 100 residuos de longitud. En todavía otra realización a modo de ejemplo, la identidad sustancial existe a lo largo de una región de las secuencias que es de al menos aproximadamente 150 residuos o más de longitud. En una realización a modo de ejemplo, las secuencias son sustancialmente idénticas a lo largo de toda la longitud de la secuencia del ácido nucleico o de la proteína.

Para la comparación de secuencias, típicamente una secuencia actúa como una secuencia de referencia con la que se comparan las secuencias de ensayo. Cuando se utiliza un algoritmo de comparación de secuencias, las secuencias de ensayo y de referencia se introducen en un ordenador, se designan las coordenadas de la sub-secuencia, si es necesario, y se designan los parámetros del programa de algoritmo de secuencia. Se pueden utilizar parámetros del programa por defecto, o se pueden designar parámetros alternativos. El algoritmo de comparación de secuencias calcula entonces el porcentaje de identidad de secuencia para las secuencias de ensayo con respecto a la secuencia de referencia, basándose en los parámetros del programa.

Una "ventana de comparación", tal como se utiliza en esta memoria, incluye la referencia a un segmento de una cualquiera del número de posiciones contiguas seleccionadas del grupo que consiste de 20 a 600, habitualmente de 20 a 50, aproximadamente 50 a aproximadamente 100, aproximadamente 100 a aproximadamente 200, más habitualmente de aproximadamente 100 a aproximadamente 150, o de aproximadamente 20, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1500, 2000, 2500 ó 3000 o incluso más, en el que una secuencia puede compararse con una secuencia de referencia del mismo número de posiciones contiguas después de que las dos secuencias se alinean de manera óptima.

El porcentaje de identidad se puede determinar utilizando el método de alineación de Needleman y Wunsch (J. Mol. Biol 48:443-453 (1970)) que ha demostrado ser equivalente a Sellers (SIAM J. of Applied Math 26; 787-793 (1974)). El porcentaje de identidad se puede determinar, por ejemplo, comparando la información de secuencia utilizando el programa de ordenador GAP, versión 6.0 descrito por Devereux et al. (Nucl. Acids Res. 12:387, 1984) y disponible de la University of Wisconsin Genetics Computer Group (UWGCG), que utiliza este método de alineación. Los parámetros por defecto preferidos para el programa GAP incluyen: (1) una matriz de comparación unitaria (que contiene un valor de 1 para identidades y 0 para no identidades) para los nucleótidos, y la matriz de comparación ponderada de Gribskov y Burgess, Nucl Acids Res. 14:6745, 1986, tal como se describe por Schwartz y Dayhoff, comps, Atlas of Protein Sequence and Structure, National Biomedical Research Foundation, págs.. 353-358, 1979; (2) una penalización de 3,0 para cada hueco y una penalización adicional de 0,10 para cada símbolo en cada hueco; y (3) ninguna penalización para los huecos finales. Otra herramienta adecuada es utilizar el ContigExpress del programa VectorNTI Advance (INVITROGEN), p. ej., versión 10.3.1 de 2007.

De acuerdo con la presente invención, la degeneración del código genético se utiliza para hacer a las secuencias de nucleótidos homólogas o idénticas menos homólogas con el fin de evitar una recombinación intramolecular. Dichas diferencias pueden estar ya incluidas en las secuencias de nucleótidos por naturaleza y/o están incluidas artificialmente por sustituciones. En diversas realizaciones, el número de diferentes nucleótidos procedentes de la naturaleza, más la sustitución artificial, es por lo menos 75, 80, 85, 90, 95, 100, 125, 150, 175, 200, 250, 300, 350, 400, 450 ó 500. Preferiblemente, el número de diferentes bases es de al menos 75, 200 ó 450. Por supuesto, el número de diferencias varía y aumenta, respectivamente, con el número de nucleótidos de las secuencias de nucleótidos.

En una realización preferida, al menos 75, 80, 85, 90, 95, 100, 125, 150, 175, 200, 250, 300, 350, 400, 450 ó 500 nucleótidos están sustituidos. Dichas sustituciones se introducen artificialmente, independientemente de números ya presentes de diferentes nucleótidos incluidos, por ejemplo, por mutaciones silenciosas.

En diversas realizaciones, se prefieren dos secuencias de nucleótidos con tramos de identidad de no más de 9, 8, 7, 6, 5 ó 4 nucleótidos contiguos después de la sustitución.

En otra realización, las secuencias de nucleótidos pueden tener al menos 75, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400 ó 450 nucleótidos sustituidos de 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1500 ó 1600 o más nucleótidos.

5 En el contexto de esta invención, la sustitución de nucleótidos con diferentes nucleótidos significa el reemplazo técnico o artificial de nucleótidos por otros nucleótidos. Preferiblemente, los nucleótidos sustituidos no alteran la secuencia de aminoácidos codificada. La sustitución puede llevarse a cabo mediante la identificación de codones en las dos secuencias de nucleótidos homólogas que codifican los mismos aminoácidos y la alteración de los codones en una de las dos secuencias de nucleótidos homólogas de modo que los codones todavía codifican los mismos aminoácidos. Las alteraciones se pueden hacer en una, ambas o en todas las secuencias de nucleótidos
10 homólogas.

Por ejemplo, el aminoácido prolina es codificado por los codones CCA, CCC, CCG y CCU (en el nivel de ADN, la U se reemplaza por T). Una secuencia de nucleótidos simple, CCCCCC, que inicialmente codifica dos prolinas en dos secuencias de nucleótidos homólogas se podría cambiar a CCACCG, que también codifica dos prolinas, en una de las dos secuencias de nucleótidos homólogas. Alternativamente, una de las secuencias que codifican prolina-prolina
15 podría cambiarse a CCCCCG, y la otra a CCACCC.

Un ejemplo más complicado es el aminoácido serina, que es codificado por UCA, UCC, UCG, UCU, AGC y AGU. De manera similar, UCAUCA, que inicialmente codifica dos serinas diferentes podría ser cambiada en múltiples secuencias homólogas, a AGCAGC (no compartiendo nucleótidos en común con UCAUCA) y UCGAGU (compartiendo una sola posición con UCAUCA o dos posiciones con AGCAGC), y así sucesivamente. Esto permite
20 una mayor flexibilidad en la introducción de diferentes variantes de nucleótidos en dos o más secuencias de nucleótidos que codifican una serina-serina.

Preferiblemente la optimización de codones tal como se describe en la presente invención evita el uso de codones raros para un huésped deseado, dado que los codones raros pueden bloquear o reducir la expresión de la proteína codificada. Además, se evitan preferiblemente las sustituciones que pueden introducir señales de ácido nucleico para el huésped deseado. Tales señales incluyen, pero no se limitan a señales de corte y empalme, señales de terminación y señales de iniciación. Preferiblemente, se pueden evitar los siguientes motivos de secuencia en función del tipo de vector utilizado, p. ej., la señal de terminación de la transcripción temprana del virus vacuna no necesita ser evitada en muchos otros vectores, que no son vectores de poxvirus:

- cajas TATA internas, sitios chi y sitios de entrada ribosomales;
- 30 - tramos de secuencia ricos en AT y ricos en GC;
- elementos de secuencia ARE, INS y CRS;
- secuencias repetidas y estructuras secundarias de ARN;
- sitios donantes y aceptores de corte y empalme (crípticos), y puntos de ramificación; y
- señales de terminación de transcripción temprana de la vacuna: (TTTTNT).

35 BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La invención y descripción se entenderán más completamente con referencia a los dibujos, en los que

La **Figura 1** representa un alineamiento de la secuencia de nucleótidos que codifica la proteína RSV-F (F) de longitud completa con la secuencia de nucleótidos que codifica la proteína truncada sustituida RSV-F_trunc (F_trunc). Las secuencias idénticas están resaltadas en negro, y los nucleótidos
40 sustituidos permanecen sin resaltar. Se indican las localizaciones de los cebadores A1 y B2.

La **Figura 2** representa un alineamiento de la proteína RSV-F (F) de longitud completa con la proteína truncada RSV-F_trunc (F_trunc). La secuencia de longitud completa de RSV-F está truncada por 50 aa para resultar en la proteína truncada RSV-F_trunc. La proteína RSV-F_trunc cubre aproximadamente el 91% de la proteína de longitud completa.

45 La **Figura 3** representa la expresión de RSV-F y RSV-F_trunc de virus MVA-BN® recombinantes en una línea celular humana. Transferencia Western con extractos de células humanas infectadas tras la infección con virus basados en MVA-BN® diferentes con una MOI de 10 y lisis a las 24 h después de la infección. MVA-BN® (control de vector vacío; pista 1), MVA-mBN172B (MVA-BN® recombinante con

RSV-F de longitud completa; pista 2), MVA-mBN173B (MVA-BN® recombinante con RSV-F_trunc truncada; pista 3) y pista 4: MVA-mBN175B (MVA-BN® recombinante con RSV-F y RSV-F_trunc). El peso molecular calculado de las proteínas es: RSV-F (61,6 kDa) y RSV-F_trunc (56,1 kDa).

5 Las **Figuras 4A-C** representan el análisis por PCR de MVA-mBN175B. Se muestran RSV-F (F) y RSV-F_trunc (F_trunc). A. Resultados de la PCR con diversos pares de cebadores. M = marcadores (escalera de 1 kb, New England Biolabs). La pista 1 es MVA-mBN175B. La pista 2 es un plásmido de control positivo (pBN345). La pista 3 es MVA-mBN®. La pista 4 es un control de agua. La pista 5 es un plásmido de control positivo (pBN343). B. Esquema de MVA-mBN175B que muestra ubicaciones de los cebadores utilizados para las PCRs que se muestran en la Figura 4A. C. Esquema de MVA-mBN® de tipo salvaje que muestra ubicaciones de los cebadores.

10 Las **Figuras 5A-C** describen la recombinación hipotética F/F_{trunc} entre el gen RSV-F (F) de longitud completa y el gen F truncado (F_{trunc}) en el MVA recombinante doble y las localizaciones de los cebadores de PCR en los virus recombinantes y no recombinantes y los plásmidos de control. A. MVA-mBN175B. B. pMISC173. C. pMISC172.

15 La **Figura 6** representa el análisis por PCR de ADN aislado de células infectadas con MVA-mBN175B. Las pistas 1 y 7 son pistas de marcadores. La pista 2 es MVA-mBN175B. La pista 3 es un control de plásmido para el gen F (pBN343). La pista 4 es un control de plásmido para el gen F truncado (pBN345). La pista 5 es MVA-BN®. La pista 6 es un control de agua. El producto de la PCR esperado de una hipotética recombinación entre el gen RSV-F y el gen F de RSV-F_trunc truncado en MVA-mBN175B es de 613 pares de bases.

20 La **Figura 7** representa un alineamiento de tres secuencias de proteínas EBOV (virus del Ébola) GP (glucoproteína). Las secuencias de aminoácidos de tres proteínas GP de las cepas del virus del Ébola EBOV-B, EBOV-S y EBOV-Z están alineadas. No se permitieron huecos en el alineamiento. La identidad global en las tres secuencias de proteínas es del 48,5%. Fondo gris: idéntico en las tres secuencias de proteínas. Fondo negro: idéntico en dos proteínas.

25 Las **Figuras 8A y 8B** representan un alineamiento de tres secuencias codificantes de EBOV GP utilizadas en la construcción basada en MVA-BN® recombinante. Las secuencias codificantes para los genes GP procedentes de tres cepas de EBOV EBOV-B, -S y -Z fueron alineadas antes (no opt; véase la Figura 8A) y después (opt; véase la Figura 8B) de la optimización. No se permitieron huecos en el alineamiento. Fondo gris: posiciones de nucleótidos idénticas en tres secuencias codificantes. Fondo negro: posiciones de nucleótidos idénticas en las dos secuencias codificantes. La identidad en las posiciones de nucleótidos de tres genes antes de la optimización (no opt) es del 45,3%, mientras que después de la optimización (opt) es del 44,6%.

30 La **Figura 9** representa alineamientos por pares de secuencias codificantes de tres EBOV GP utilizadas en la construcción basada en MVA-BN® recombinante. Las secuencias codificantes para los genes GP procedentes de las tres cepas EBOV EBOV-B, -S y -Z fueron alineadas por pares antes (no opt; véase la Figura 9A) y después (opt; véase la Figura 9B) de la optimización. No se permitieron huecos en los alineamientos. Fondo gris: posiciones de nucleótidos idénticas en la secuencia codificante. La identidad en las posiciones de nucleótidos de tres genes antes (no opt) y después (opt) de la optimización se tabula en la Tabla C.

35 La **Figura 10** representa una digestión de la enzima de restricción y el mapa del plásmido pMISC210 que comprende los de la proteína de longitud completa (RSV-F) y la truncada (RSV-F_trunc). Pista 1: plásmido pMISC210 que comprende RSV-F y RSV-F_trunc; Pista 2: plásmido control pMISC209 que comprende RSV-F_trunc solamente; Pista 3: marcador del peso molecular. Se muestra el tamaño de los bandos de marcador en pares de bases (pb).

45

EJEMPLOS

Ejemplo 1

Preparación del Gen F Sustituido, Truncado

Se deseaba la creación de un MVA recombinante que expresara tanto una proteína RSV-F de longitud completa como una versión truncada de RSV-F_trunc. Sin embargo, basado en los resultados con MVA y otros virus vacuna que contienen secuencias repetidas, se esperaba que la recombinación intramolecular condujera a la recombinación entre las dos copias del gen F, resultando en la delección de una de las copias del gen F.

Para minimizar la presencia de largos tramos de nucleótidos idénticos entre los dos genes F, los codones en la secuencia de nucleótidos que codifica el gen de RSV-F_trunc fueron sustituidos, al tiempo que se mantenía la secuencia de aminoácidos de los genes F. Se evitó el uso de codones raros para los mamíferos y las aves. Además, se evitaron sustituciones que pudieran introducir señales de ácidos nucleicos. Tales señales incluían cajas TATA internas, sitios chi y sitios de entrada ribosomal; tramos de secuencia ricos en AT y ricos en GC; elementos de la secuencia ARE, INS y CRS; repetir secuencias y estructuras secundarias de ARN; sitios donantes y aceptores de corte y empalme (crípticos) y puntos de ramificación; y señales de terminación de vacuna (TTTTTNT). La secuencia de nucleótidos sustituida se muestra en la Fig. 1, en comparación con una secuencia codificante para una proteína RSV-F de longitud completa. Aunque la identidad significativa permanece a lo largo de las dos secuencias codificantes, no hay grandes tramos restantes de identidad mayores que nueve nucleótidos contiguos dentro de las dos secuencias codificantes. Las proteínas codificadas por las dos secuencias codificantes están alineadas en la Fig. 2. Las dos proteínas tienen una identidad del 100% a lo largo de los primeros 524 aminoácidos (la proteína F sustituida está truncada en el extremo carboxi). Por lo tanto, aunque estas dos secuencias de nucleótidos codificantes codifican un tramo de aminoácidos idénticos, una de las secuencias se ha sustituido con relación a la otra.

Ejemplo 2

Preparación de Virus Recombinantes que comprenden Genes RSV-F

El ADN que codifica el gen RSV-F de longitud completa fue insertado en MVA en dos sitios de integración diferentes para generar MVA-mBN170B y MVA-mBN172B (en el sitio IGR88/89). El gen RSV-F_trunc sustituido se insertó en MVA en el sitio IGR148/149 para generar MVA-mBN173B.

Se creó entonces un MVA recombinante doble que contiene el gen RSV-F de longitud completa insertado en MVA en el sitio IGR88/89 y el gen RSV-F_trunc sustituido se insertó en el mismo MVA en el sitio IGR148/149. El virus recombinante doble se denominó MVA-mBN175B. Un esquema de este virus se muestra en la Fig. 4B.

Ejemplo 3

Expresión de proteínas F de Virus Recombinantes

Para determinar si una proteína se expresó a partir de la secuencia de nucleótidos sustituida, se realizó un análisis de transferencia Western sobre extractos de proteína a partir de una línea celular humana infectada con un virus basado en MVA-BN® recombinante que codifica el gen RSV-F de longitud completa (MVA-mBN172B), el virus que codifica el gen RSV-F_trunc sustituido (MVA-mBN173B) y un virus recombinante doble que codifica tanto el gen de longitud completa como el gen RSV-F_trunc (MVA-mBN175B). Los tres virus mostraron la producción de las proteínas de RSV-F de tamaño apropiado mediante análisis de transferencia Western (Fig. 3), mientras que el MVA-BN® control (vector vacío) no mostró bandas, como se esperaba. Por lo tanto, la proteína F de longitud completa y la truncada expresada a partir de la secuencia de nucleótidos codificante sustituida se expresaron individualmente a partir de un solo MVA-BN® recombinante pero ambos también se co-expresaron a partir de un virus MVA-BN® recombinante doble (MVA-mBN175B) en una línea celular humana.

Ejemplo 4

Crecimiento de Virus Recombinantes

Células de fibroblastos de embrión de pollo se infectaron con MVA-mBN175B, una construcción que contiene tanto el gen F de longitud completa como el gen RSV-F_trunc sustituido, o una construcción que contiene sólo el gen F de

longitud completa para recibir un primer stock de virus bruto. Títulos similares del virus recombinante doble que contiene tanto los genes F de longitud completa y como los genes F truncados ($1,34 \times 10^7$ TCID₅₀) se observaron en comparación con los títulos de virus que contienen sólo el gen F de longitud completa ($1,46 \times 10^7$ TCID₅₀). Estos resultados indicaban que se estaba produciendo un MVA recombinante doble estable, y que la recombinación entre las dos copias del gen F se habían limitado mediante la sustitución de bases de nucleótidos en las secuencias.

Ejemplo 5

Análisis por PCR de Virus Recombinantes

El análisis por PCR se realizó en ADN de células infectadas con MVA-mBN175B o MVA-BN® utilizando los pares de cebadores específicos para la inserción y específicos para el flanco representados en las Figs. 4B y C. La PCR A con los cebadores A1/A2, que son específicos para el gen F de longitud completa, detectó una banda con el tamaño de 663 pares de bases (pb) en células infectadas con MVA-mBN175B y en un control positivo de plásmido específico como se esperaba. Como se esperaba, esta banda está ausente en células infectadas con MVA-BN® o en el control de agua (Fig. 4A). La PCR B con los cebadores B1/B2, que son específicos para el gen F truncado, sustituido, detectó una banda con el tamaño de 625 pb en células infectadas con MVA-mBN175B y en un control positivo de plásmido específico como se esperaba. Esta banda, como se esperaba, está ausente en células infectadas con MVA-BN® o en el control de agua (Fig. 4A). La PCR C con cebadores los C1/C2, que detectan inserciones en el sitio IGR88/89, detectó una banda con el tamaño de 2047 pb en células infectadas con MVA-mBN175B y en un control positivo de plásmido específico como se esperaba. Esta banda, como se esperaba, está ausente en células infectadas con el control de vector vacío MVA-BN®, por el contrario, una banda de 161 pb indica la situación de tipo salvaje en IGR88/89 en MVA-BN® (Fig. 4A). La PCR D con los cebadores D1/D2, que detectan inserciones en el sitio IGR148/149, detectó una banda con el tamaño de 2062 pb en células infectadas con MVA-mBN175B y en un control positivo de plásmido específico como se esperaba. Esta banda, como se esperaba, está ausente en células infectadas con el control de vector vacío MVA-BN®, por el contrario, una banda de 360 pb indica la situación de tipo salvaje en IGR88/89 en MVA-BN®. (Fig. 4A).

La recombinación entre los genes F proporcionaría un gen F híbrido que tiene partes del gen F de tipo salvaje y partes del gen F truncado. (Fig. 5A.) Para detectar la presencia de cualquiera de tales recombinantes, se realizó el análisis por PCR en el ADN de células infectadas con MVA-mBN175B o MVA-BN® utilizando los pares de cebadores A1/B2 (Fig. 5B.), que debería generar un producto de 613 pares de bases, específico para el gen F recombinante. Los resultados de esta PCR no mostraron recombinantes detectables. (Fig. 6.). Estos resultados indicaban que se estaba produciendo un MVA recombinante doble estable, y que la recombinación entre las dos copias del gen F había sido limitada.

Ejemplo 6

Preparación de genes de glucoproteína recombinante (GP) de tres cepas diferentes del virus del Ébola (EBOV)

Se deseaba la generación de un MVA recombinante que expresa tres glucoproteínas (GP) del virus del Ébola (EBOV). Las cepas EBOV utilizadas en esta memoria son EBOV-B (Bundibugyo), EBOV-S (Sudán) y EBOV-Z (Zaire), todas pertenecientes a las cepas de virus con alta letalidad en seres humanos infectados. Dichas tres GP comparten una identidad global de 48,5%, lo que indica que casi cada segundo aminoácido en las proteínas GP es idéntico en las tres cepas, mientras que el porcentaje de identidades a lo largo de las secuencias de las proteínas de longitud completa en comparación con combinaciones de dos cepas están entre 57,0 % y 64,2% (Figura 7).

Para minimizar la presencia de largos tramos de nucleótidos idénticos dentro de los tres genes EBOV GP, los codones en las tres secuencias de nucleótidos fueron sustituidos, al tiempo que se mantenían las secuencias de aminoácidos codificadas de los tres genes GP. Se evitó el uso de codones raros para mamíferos y pollos, así como sustituciones que podrían introducir señales de ácidos nucleicos. Tales señales incluían cajas TATA internas, sitios chi y sitios de entrada ribosomales; tramos de secuencia ricos en AT y ricos en GC; elementos de la secuencia ARE, INS y CRS; secuencias repetidas y estructuras secundarias de ARN; sitios donantes y aceptores de corte y empalme (crípticos), y puntos de ramificación; y señales de terminación de vacuna (TTTTTNT). La G después del codón de inicio ATG permite una alta expresión y está presente en la secuencia codificante original de los tres genes EBOV GP y se mantuvo.

5 Aunque 23,3 a 24,9% de los nucleótidos en cada una de las 3 secuencias codificantes de EBOV GP optimizados se intercambiaron (véase la Tabla A), las identidades globales no cambiaron drásticamente entre las tres secuencias codificantes de GP (Tabla B). En dos casos, las comparaciones por pares mostraron incluso identidades marginalmente más altas después de la optimización de las secuencias codificantes tal como se muestra a continuación en la Tabla B.

Tabla A: Intercambios de nucleótidos en tres genes EBOV GP optimizados. La tabla muestra el número de nucleótidos cambiados en las posiciones correspondientes en las secuencias codificantes de GP optimizadas (opt) en comparación con la secuencia no optimizada (no opt) de diferentes cepas EBOV basado en el número total de nucleótidos en [%]. El número total de nt es 1147.

| | posiciones de nt intercambiadas en secuencias codificantes de GP optimizadas en comparación con secuencias no optimizadas [%] |
|---------------------------|---|
| EBOV-B no opt: EBOV-B opt | 23,3 |
| EBOV-S no opt: EBOV-S opt | 24,9 |
| EBOV-Z no opt: EBOV-Z opt | 23,9 |

10 **Tabla B: Posiciones de nucleótidos idénticas de tres secuencias codificantes de EBOV GP.** La tabla muestra el número de nucleótidos idénticos en las posiciones correspondientes en dos secuencias codificantes de GP de diferentes cepas EBOV basado en el número total de nucleótidos en [%].

| comparación por pares de genes GP | identidad de nucleótidos en genes no optimizadas [%] | identidad de los nucleótidos en genes optimizados [%] |
|-----------------------------------|--|---|
| EBOV-B: EBOV-S | 57,0 | 57,3 |
| EBOV-B: EBOV-Z | 64,2 | 61,1 |
| EBOV-S: EBOV-Z | 57,6 | 60,4 |

15 Los alineamientos por pares de las secuencias codificantes de GP de tres cepas EBOV, EBOV-B, -S y -Z mostraron las identidades en las posiciones de nucleótidos y la distribución de las identidades (Figura 9). Por consiguiente, el método dio lugar a tramos más cortos de identidad de nucleótidos en las secuencias EBOV GP. Al considerar largos tramos de nucleótidos consecutivos idénticos, es evidente que la interrupción o el acortamiento de dichos tramos de identidades es una parte importante de la estrategia para evitar la recombinación entre secuencias que comparten un cierto grado de identidades de nucleótidos. En la Tabla C (véase más abajo) se muestra el número de tramos de nucleótidos idénticos consecutivos a partir de una comparación por pares de las secuencias codificantes de GP. Antes de la optimización, hay tramos de hasta 23 pb de longitud y en resumen, hay 41 tramos de 10 o más nucleótidos idénticos. En la versión optimizada de los genes GP, sólo se encuentra un tramo de 13 pb y se pueden encontrar 7 tramos de 10 o más nucleótidos idénticos.

25 **Tabla C: Tramos largos de nucleótidos idénticos consecutivos.** La tabla muestra el número de tramos de nucleótidos idénticos consecutivos de una cierta longitud en una comparación por pares de las secuencias codificantes de EBOV GP antes (no-opt) y después (opt) de la optimización. Los números de las comparaciones por pares se resumen en la columna 'números combinados'. El tramo más largo en las comparaciones no optimizadas es de 23 nucleótidos idénticos consecutivos, mientras que en los genes optimizados se reduce a un máximo de 13 nucleótidos. Sólo se enumeran tramos de 10 o más nucleótidos.

| longitud | EBOV-B: EBOV-S | | EBOV-B: EBOV-Z | | EBOV-S: EBOV-Z | | números combinados | |
|----------|----------------|-----|----------------|-----|----------------|-----|--------------------|-----|
| | no opt | opt | no opt | opt | no opt | opt | no opt | opt |
| 23 nt | | | 1 | | | | 1 | |
| 20 nt | | | 2 | | | | 2 | |
| 17 nt | | | | | 1 | | 1 | |
| 16 nt | | | 2 | | | | 2 | |
| 14 nt | | | 2 | | 2 | | 4 | |
| 13 nt | | | 1 | 1 | 1 | | 2 | 1 |
| 12 nt | 1 | | 2 | | | | 3 | |
| 11 nt | 10 | 2 | 4 | 1 | 8 | | 22 | 3 |
| 10 nt | 1 | | 2 | 1 | 1 | 2 | 4 | 3 |

Ejemplo 7**Preparación de virus MVA-BN® recombinante con genes GP de cepas EBOV.**

5 Los tres genes EBOV GP fueron sintetizados por GeneArt (Regensburg, Alemania) y se clonaron en vectores de recombinación para permitir la integración en MVA-BN®. Se generó un virus recombinante que comprendía las tres secuencias de genes homólogos GP optimizadas de tres cepas EBOV diferentes. La transcripción de las tres secuencias de GP codificantes insertadas es controlada por diferentes promotores temprano-tardíos individuales.

Las reacciones de PCR específicas para las tres secuencias EBOV-GP optimizadas mostraron la presencia de los tres genes individuales en el MVA-BN® recombinante.

Ejemplo 8**10 Preparación del Plásmido que comprende Genes RSV-F**

Las dos versiones del gen RSV-F utilizadas en los ejemplos 1-5 y mostradas en la Figura 1 fueron clonadas en un plásmido y mantenidas en *E. coli* TZ101 (Trenzyme GmbH, Konstanz, Alemania) utilizando técnicas de clonación estándares. El plásmido (véase el mapa de plásmidos en la Figura 10) fue aislado y digerido con las enzimas de restricción *Ale* I, *Dra* III y *Spe* I y fue separado en un gel de agarosa TAE al 1% (véase la Figura 10). Los patrones de bandas para pMISC210 que codifican la proteína RSV-F de longitud completa y la proteína RSV-F_trunc (pista 1), así como el plásmido control pMISC209 que codifica la proteína RSV-F_trunc solamente (pista 2) se compararon con los patrones esperados de los resultados del análisis de la secuencia electrónica de los plásmidos. El tamaño esperado de las bandas para pMISC210 era 404, 573, 809, 1923 y 4874 pb, mientras que para pMISC209 se esperaba un patrón de bandas con tamaños de 573, 661, 809 y 4874 pb. Todas las bandas esperadas y no bandas adicionales se han encontrado experimentalmente. En el caso de que se produjera una recombinación entre las variantes de RSV-F en pMISC210, se perdería uno o más de los fragmentos más pequeños, dependiendo de los sitios de recombinación. Esto claramente no se encontró en el ejemplo actual. Por lo tanto, los resultados demuestran la estabilidad del plásmido pMISC210 con los dos genes RSV-F (RSV-F y RSV-F_trunc) en *E. coli*.

REIVINDICACIONES

1. Un vector de virus vacuna Ankara modificado (MVA) que comprende dos secuencias de nucleótidos de al menos 300 nucleótidos de tamaño que codifican cada una 100 aminoácidos, en donde los 100 aminoácidos codificados por cada una de las dos secuencias de nucleótidos tienen al menos 75% de identidad de aminoácidos;
 5 en donde una de las dos secuencias de nucleótidos tiene al menos 75 nucleótidos diferentes de la otra secuencia de nucleótidos, en donde los diferentes nucleótidos no alteran los aminoácidos idénticos codificados por dichas dos secuencias de nucleótidos
 10 y en donde las dos secuencias de nucleótidos tienen tramos de identidad de no más de 9 nucleótidos contiguos después de la sustitución y en donde las dos secuencias de nucleótidos codifican una proteína de longitud completa y una proteína RSV-F truncada.
2. Un método para generar el vector de virus vacuna Ankara modificado (MVA) de acuerdo con la reivindicación 1, comprendiendo dicho método las etapas de:
 15 a) proporcionar una primera secuencia de nucleótidos de al menos 300 nucleótidos de tamaño que codifica 100 aminoácidos;
 b) proporcionar una segunda secuencia de nucleótidos de al menos 300 nucleótidos de tamaño que codifica 100 aminoácidos, en el que los 100 aminoácidos codificados por cada una de las dos secuencias de nucleótidos tienen una identidad de aminoácidos de al menos 75% y en el que una de las dos secuencias de nucleótidos tiene al menos 75 nucleótidos diferentes de la otra secuencia de nucleótidos, en el que los diferentes nucleótidos no alteran los aminoácidos idénticos codificados por dichas dos secuencias de nucleótidos y en el que las dos secuencias de nucleótidos tienen tramos de identidad de no más de 9 nucleótidos contiguos después de la sustitución; y
 20 c) insertar las dos secuencias de nucleótidos divergentes en el vector de MVA, y en donde las dos secuencias de nucleótidos codifican una proteína de longitud completa y una proteína RSV-F truncada.
 25
3. Un método para reducir la recombinación intramolecular dentro de un vector de virus vacuna Ankara modificado (MVA) que contiene dos secuencias de nucleótidos de 300 nucleótidos de tamaño, codificando cada una 100 aminoácidos, en el que los 100 aminoácidos codificados por cada una de las dos secuencias de nucleótidos tienen al menos una identidad de aminoácidos de 75%, comprendiendo dicho método sustituir nucleótidos en una o ambas secuencia(s) de nucleótidos para generar dos secuencias divergentes que muestran diferencias en al menos 75 nucleótidos, en el que los diferentes nucleótidos no alteran los aminoácidos idénticos codificados por dichas dos secuencias de nucleótidos y en el que las dos secuencias de nucleótidos tienen tramos de identidad de no más de 9 nucleótidos contiguos después de la sustitución y en el que las dos secuencias de nucleótidos codifican una proteína de longitud completa y una proteína RSV-F truncada.
 30
 35
4. Un método para generar un virus vacuna Ankara modificado (MVA) que comprende dos secuencias de nucleótidos homólogas, comprendiendo dicho método las etapas de:
 40 a) proporcionar un MVA que comprende una secuencia de nucleótidos de al menos 300 nucleótidos de tamaño que codifica 100 aminoácidos; y
 b) insertar en el MVA una segunda secuencia de nucleótidos de al menos 300 nucleótidos de tamaño que codifica 100 aminoácidos;
 en el que los 100 aminoácidos codificados por cada una de las dos secuencias de nucleótidos tienen una identidad de aminoácidos de al menos 75%;
 45 y en el que una de las dos secuencias de nucleótidos tiene al menos 75 nucleótidos diferentes de la otra secuencia de nucleótidos, en el que los diferentes nucleótidos no alteran los aminoácidos idénticos codificados por dichas dos secuencias de nucleótidos
 y en el que las dos secuencias de nucleótidos tienen tramos de identidad de no más de 9 nucleótidos contiguos después de la sustitución, y
 50 en el que las dos secuencias de nucleótidos codifican una proteína de longitud completa y una proteína RSV-F truncada.
5. El vector viral o el método de acuerdo con las reivindicaciones 1-4, en donde el MVA es un MVA-BN depositado en la ECACC bajo el número V00083008.

6. El vector viral o el método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde los al menos 75 nucleótidos diferentes están sustituidos.

| | | Inicio F | y | F _{trunc} | | 50 |
|--------------------|-------|--|---|--------------------|------------|-----|
| F | (1) | ATGGATTTGCCAATCCTCAAAACAAATGCCAATTACCAOATCTTTGCTGC | | | | |
| F _{trunc} | (1) | ATGGATCTCCCATTTCTCAAGACCAAGGCATCACCACCATCTTCGCCGC | | | | |
| | | 51 | | | | 100 |
| F | (51) | AGTCACACTCTGTTTCGGCTTCCAGTCAAACATCACTGTAGAATTTTATC | | | | |
| F _{trunc} | (51) | CGTCACCCTGTGTTTCGCCCAGCAGCCAGAACATCACCGTGGAGTTCTACC | | | | |
| | | 101 | | | | 150 |
| F | (101) | AATCAACATGCAGTGCAGTTAGCAAAGGCTATCTTAGTGCTTTAAGAAT | | | | |
| F _{trunc} | (101) | AGAGCACCTGCAGCGCCGTGACCAAGGCTACCTGAGCGCCCTCAGCACC | | | | |
| | | 151 | | | | 200 |
| F | (151) | GGTTGGTATACTAGTGTATATACTATAGAATTAAGTAATATCAAGGAAAA | | | | |
| F _{trunc} | (151) | GCCTGGTACACCAGCGCTGATCACCATCGAGCTGTCCAAACATCAAAGAAAA | | | | |
| | | 201 | | | | 250 |
| F | (201) | TAAGTCTAATGGAACAGACGCTAAGGTAATAATGATAAAACAAGAATTAG | | | | |
| F _{trunc} | (201) | CAAGTCAACGGCACCCAGGCCAAAGTGAAGCTGATCAAGCAGGAACTGG | | | | |
| | | 251 | | | | 300 |
| F | (251) | ATAAATATAAAAATGCTGTAACAGAATGTCAGTTGCTCATGCAAAGCACA | | | | |
| F _{trunc} | (251) | ACAAGTACAAGAACGCCGTGACCGAGCTGCAGCTGCTGATGCAGAGCACC | | | | |
| | | 301 | | | | 350 |
| F | (301) | CCAGCAGCCAACAATCGGGCCAGAAAGAACTACCAAGGTTTATGAATTA | | | | |
| F _{trunc} | (301) | CTTGCAGCCAACAACAGAGCCAGGCGGAGCTGCCCGGTTTATGAACTA | | | | |
| | | 351 | | | | 400 |
| F | (351) | TACACTCAACAATACCAAAAATAACAATGTAACATTAAGCAAGAAAAGGA | | | | |
| F _{trunc} | (351) | CACCTCAACAACACCAAGAACAACAACGTGACCTGAGCAAGAAGCGGA | | | | |
| | | 401 | | | | 450 |
| F | (401) | AAACAACATTTCTTGGCTTCTTGTAGGCTGTGCATCTGCAATCGCCAGT | | | | |
| F _{trunc} | (401) | AGCGCCGTTCTTGGGCTTCTGCTGGCCGTGGCCAGGCGCCATTTGCCAGC | | | | |
| | | 451 | | | cebador A1 | 500 |
| F | (451) | GGCATTGCTGTATCTAAAGTCCCTGCACCTAGAAGGCCAAGTGAACAAAAT | | | -----> | |
| F _{trunc} | (451) | GGCATTGCCGTGTCTAAAGTCCCTGCATCTGGAAGGCCAGGTCACAAGAT | | | | |
| | | 501 | | | | 550 |
| F | (501) | CAAAAGTCTTTACTATCCACAACAAGGCTGTAGTCAGCTTATCAAATG | | | | |
| F _{trunc} | (501) | TAAGAGCGCCCTGCTGTCCACCAACAAGGCGTGGTGTCCCTGAGCAACG | | | | |
| | | 551 | | | | 600 |
| F | (551) | GAGTACAGTCTTAACCAGCAAAGTGTAGACCTCAAAAACATATATAGAT | | | | |
| F _{trunc} | (551) | CCGTGACCGTGTGACCAGCAAAGGTGCTGGATCTGAAGAACTACATCGAC | | | | |
| | | 601 | | | | 650 |
| F | (601) | AAACAATTGTTACCCATGTGAAACAAGCAAAGTCGACGATATCAAACAT | | | | |
| F _{trunc} | (601) | AAGCAGCTGCTGCCCATCGTGAATAAGCAGTCTGCAGCATCAGCAACAT | | | | |

Figura 1

| | | | | |
|--------------------|--------|---|--|------|
| | | 651 | | 700 |
| F | (651) | TGAAACTGTGATAGAATTCCAACAAAAGAGCAACAGACTACTAGAGATTA | | |
| F _{trunc} | (651) | CGAGACAGTGATCGAGTTCCAGCAGAAGAGCAACCCGGCTGCTGGAAATCA | | |
| | | 701 | | 750 |
| F | (701) | CCAGGGAATTTAGTGTTAATGCAGGTGTAACACACCTGTAAGCACTTAT | | |
| F _{trunc} | (701) | CCCGGAGTTTCAGCGTGAATGCCGGCGTACCACCCCGTGTCCACCTAC | | |
| | | 751 | | 800 |
| F | (751) | ATGTTAACAAATAGTGAATATATATCATTAATCAATGATATGCCATATAAC | | |
| F _{trunc} | (751) | ATGCTCACCAACAGCGAGCTGCTGTCCCTGATCAATGACATGCCCATCAC | | |
| | | 801 | | 850 |
| F | (801) | AAATGATCAGAAAAGTTAATGTCCAACAATGTTCAAATAGTTAGACAGC | | |
| F _{trunc} | (801) | CAAGACCAAAAGAAACTGATGAGCAACAACCTGCAGATCCTGCGGCAGC | | |
| | | 851 | | 900 |
| F | (851) | AAAGTTACTCTATCATGTCATATAATAAAGGAGGAAGTCTTAGCATATGTA | | |
| F _{trunc} | (851) | AGAGCTACAGCATCATGAGCATCATCAAAGAAAGAGGTGCTGGCTACCTG | | |
| | | 901 | | 950 |
| F | (901) | GTACAATFACCACTATATGCTGTAAATAGATACACCTTGTGGAAACTACA | | |
| F _{trunc} | (901) | GTGCAGCTGCCCTGTACCGCGTATCGAACCCCTGCTGGAAAGCTGCA | | |
| | | 951 | | 1000 |
| F | (951) | CACATCCCTCTATGCAOACCAACAACAAGGAAGGTCCAACATCTGTT | | |
| F _{trunc} | (951) | CAGCAGCCCTGTGCACACCAACACCAAGAGGGCAGCAACATCTGCC | | |
| | | 1001 | | 1050 |
| F | (1001) | TAACAACAACCGACAGAGGATGGTACTGTGACAAATGCAGGATCAGTGTCT | | |
| F _{trunc} | (1001) | TGACCGCACCGATAGGGGCTGGTACTGCGACAACGCCGGCAGCGTGTCC | | |
| | | 1051 | | 1100 |
| F | (1051) | TTCTTCCCAAGCTGAAACAATGCAAAGTTCAATCGAATCGAGTATTTTG | | |
| F _{trunc} | (1051) | TTCTTTCCCAAGCCGAGACTTGCAAGGTGCAGAGCAACAGGGTGTTCGTG | | |
| | | ←----- | | |
| | | cebador B2 | | |
| | | 1101 | | 1150 |
| F | (1101) | TGACACAATGAACAGTTTAACATTAACAAGTGAAGTAAATCTCTGCAACA | | |
| F _{trunc} | (1101) | CGACACCATGAACAGCCTGACCTGCCAGCGAAGTGAACCTGTGCAACA | | |
| | | 1151 | | 1200 |
| F | (1151) | TTGACATATTAACCCATAATAATGATGCAAAATATGACTTCAAAAACA | | |
| F _{trunc} | (1151) | TCGACATCTTAACCCCAAGTACGACTGCAAGATCATGACCTCCAAACACC | | |
| | | 1201 | | 1250 |
| F | (1201) | GATGTAAGCAGCTCCGTTATCACATCTCTAGGAGCCATGTTGTCAATGCTA | | |
| F _{trunc} | (1201) | GACGTGTCAGCTCCGTTATCACAGCCTGGCGCCATCGTGTCTGCTA | | |
| | | 1251 | | 1300 |
| F | (1251) | TGCCAAAACATAATGTACAGCATCCAATAAAAATCGTGGAAATCATAAAGA | | |
| F _{trunc} | (1251) | CGGCAAGACCAAGTGCACCGCCAGCAACAAGAACCGGGCATCATCAAGA | | |

Figura 1 (continúa)

```

1301                                     1350
F (1301) CATT TTTCTAACGGGTGTCGATTATGTATCAAAACAAGGGCGTGGACACTGTA
F_trunc (1301) CCTTCAGCAACGGCTCGGACTACGTGTCCAA TAAGGGCGTGGACACCGTG

1351                                     1400
F (1351) TCTGTAGGTAATACGTTATATTATGTAAATAAGCAAGAAGCAAAAAGTCT
F_trunc (1351) TCCGTGGGCAACACACTGTACTACGTGAAACAAGCAAGAAGGCAAGAGCCT

1401                                     1450
F (1401) CTATGTAAAAGGTGAACCAATAATAAATTTCTATGACCCATTAGTGTTCC
F_trunc (1401) GTACGTGAAGGGCGAGCCCATCATCAACTTCTACGACCCCTGGTGTTCC

1451                                     1500
F (1451) CTTCTGATGAATTTGATGCATCAATATCTCAAGTCAATGAGAAGATTAAC
F_trunc (1451) CCAGCGACGAGTTCGACGCCAGCATCAGCCAAGTCAACGAGAAGATCAAT

1501                                     1550
F (1501) CAGAGCCTAGCATT TATTCGTAAATCCGATGAATTATACATAATGTAAA
F_trunc (1501) CAGTCCCTGGCCTTCATCAGCAAGAGCGACGAGCTGCTGCACAATGTGAA

1551                                     1600
F (1551) TGT TGGTAAATCCACCACAAAATATCATGATAACTACTATAATTATAGTGA
F_trunc (1551) CGTGGGCAAGTCCACCACCAACTGA-----
parada F_trunc

1601                                     1650
F (1601) TTATAGTAATATTGTTATTATTAAATTGCAGTTGGGCTGTTCCCTATACTGC
F_trunc (1576) -----

1651                                     1700
F (1651) AAGGCCAGAAGCACACCAGTCACACTAAGCAAGGATCAACTGAGTGGTAT
F_trunc (1576) -----

1701                                     1725
F (1701) AAATAATATTGCATTTAGTAACTGA parada F
F_trunc (1576) -----

```

Figura 1 (continúa)

ES 2 618 103 T3

BN_F-trunc optimizada frente a BN_F longitud completa
 Puntuación = 992 bits (2564), Esperado = 0.0, Identidades = 524/524 (100%),
 Positivos = 524/524 (100%), Huecos = 0/524 (0%)

| | | | |
|--------------------|-----|---|-----|
| F | 1 | MDLPILKTNAITTIFAAVTLCFASSQNITVEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE | 60 |
| F _{trunc} | 1 | MDLPILKTNAITTIFAAVTLCFASSQNITVEFYQSTCSAVSKGYLSALRTGWYTSVITIE | 60 |
| F | 61 | LSNIKENKCNCGTDAKVKLIKQELDKYKNAVTELLQMQSTPAANNRARELPRFMNYTLN | 120 |
| F _{trunc} | 61 | LSNIKENKCNCGTDAKVKLIKQELDKYKNAVTELLQMQSTPAANNRARELPRFMNYTLN | 120 |
| F | 121 | NTKNNNVTLSKKRRRFLGFLGVSASIASGIAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVS | 180 |
| F _{trunc} | 121 | NTKNNNVTLSKKRRRFLGFLGVSASIASGIAVSKVLHLEGEVNIKSALLSTNKAVVS | 180 |
| F | 181 | LSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVNVKQSCSISNIETVIEFQKSNRLEITREFSVN | 240 |
| F _{trunc} | 181 | LSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVNVKQSCSISNIETVIEFQKSNRLEITREFSVN | 240 |
| F | 241 | AGVTPPVSTYMLTNSSELLSLINDMPITNDQKMLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYV | 300 |
| F _{trunc} | 241 | AGVTPPVSTYMLTNSSELLSLINDMPITNDQKMLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEEVLAYV | 300 |
| F | 301 | VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKV | 360 |
| F _{trunc} | 301 | VQLPLYGVIDTPCWKLHTSPLCTTNTKEGSNICLTRTRDRGWYCDNAGSVSFFPQAETCKV | 360 |
| F | 361 | QSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNIDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKT | 420 |
| F _{trunc} | 361 | QSNRVFCDTMNSLTLPSEVNLCNIDIFNPKYDCKIMTSKTDVSSSVITSLGAIVSCYGKT | 420 |
| F | 421 | KCTASNKNRGIKTFSTNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVNVKQEGKSLYVKGEPIINFYDP | 480 |
| F _{trunc} | 421 | KCTASNKNRGIKTFSTNGCDYVSNKGVDTVSVGNTLYYVNVKQEGKSLYVKGEPIINFYDP | 480 |
| F | 481 | LVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNVGKSTTNIMITTTIIIVIVILL | 540 |
| F _{trunc} | 481 | LVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNVGKSTTN---- 524 | |
| F | 541 | LIAVGLFLYCKARSTPVTLTKDQLSGINNIAPSN | 574 |
| F _{trunc} | 541 | ----- | |

Figura 2

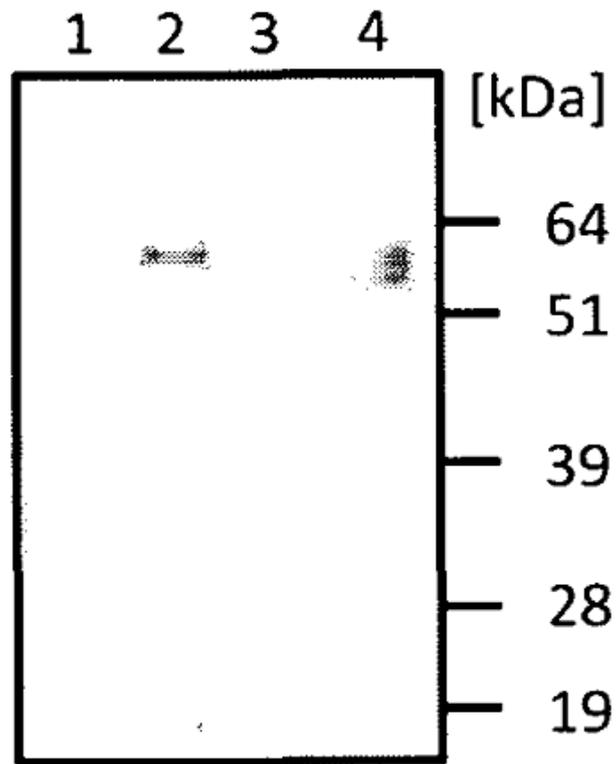


Figura 3

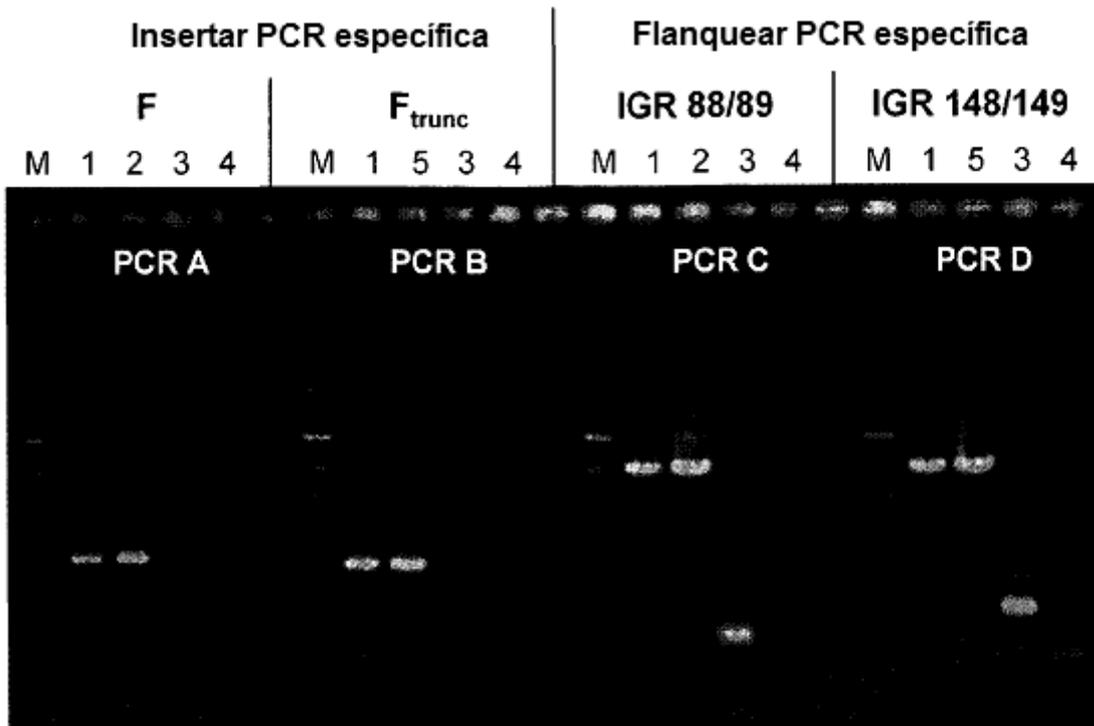


Figura 4A

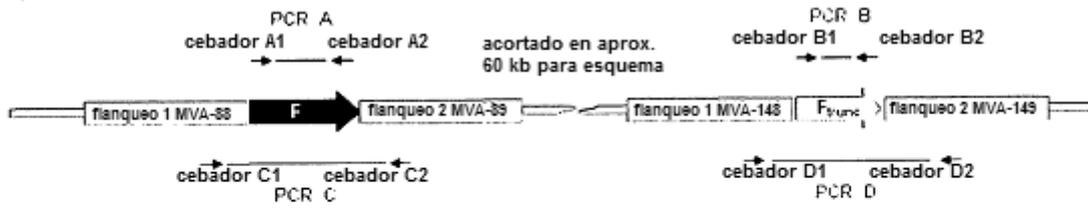


Figura 4B

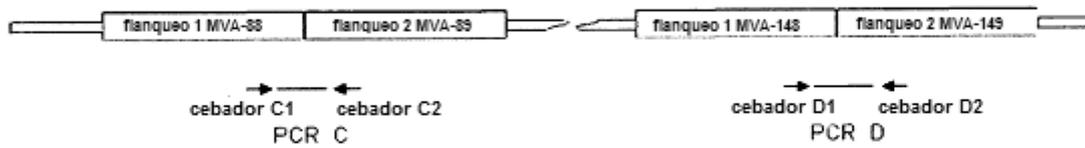


Figura 4C

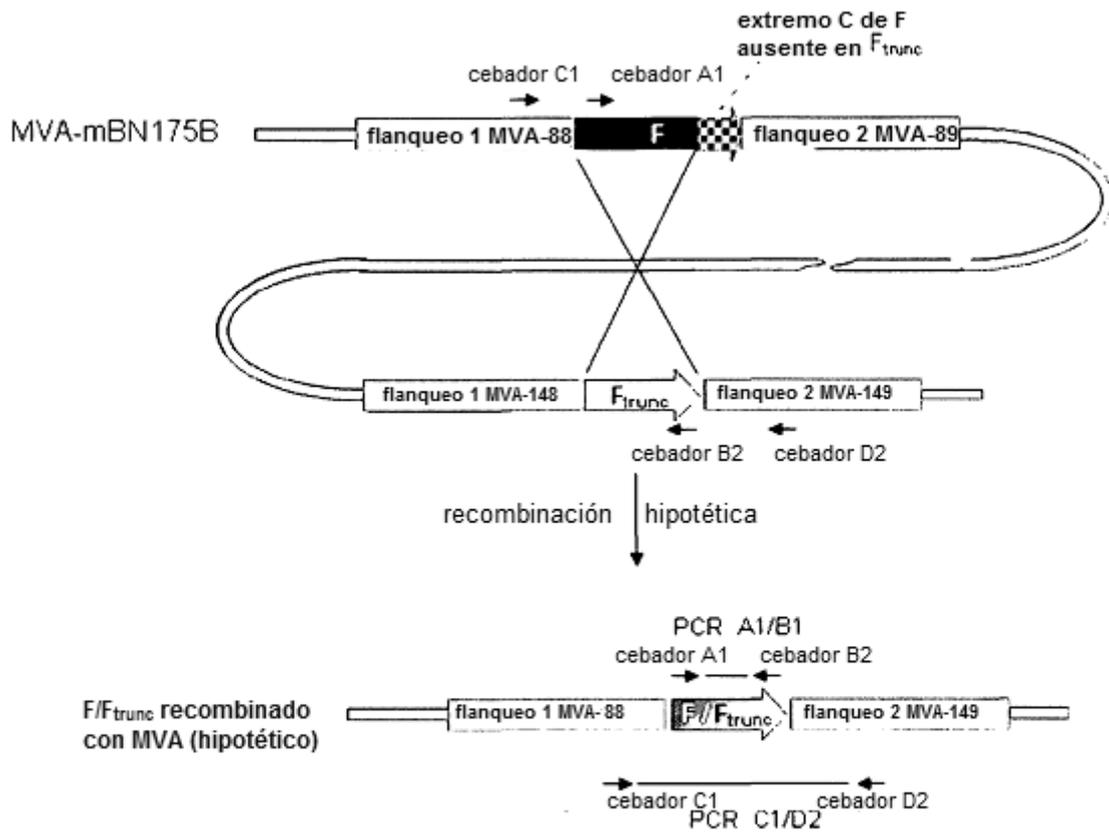


Figura 5A

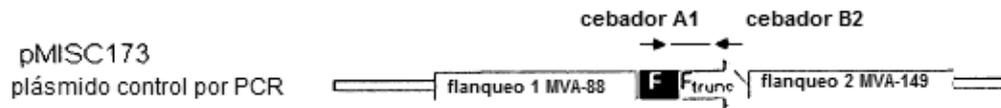


Figura 5B

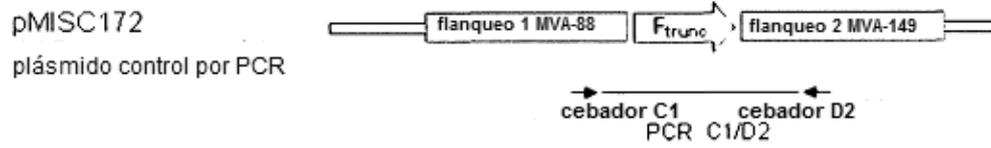


Figura 5C

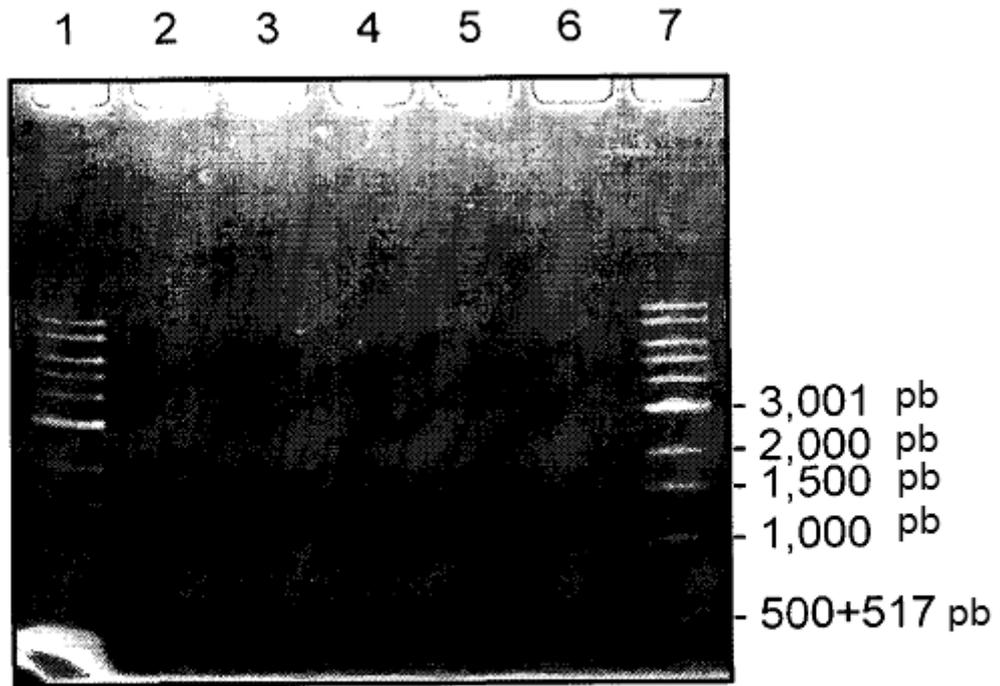


Figura 6

| | 1 | 50 |
|--------|-------|---|
| EBOV-B | (1) | MVTSGLLQLPREKFRKTSFFVWVILFHKVFPLPLGVVHNNLQVSDIDK |
| EBOV-S | (1) | MGGLSLLQLPRKFRKSSFFVWVILFQKAFSMLPLGVVTNSTLEVTEIDQ |
| EBOV-Z | (1) | MCVTGLLQLPRDRFKRTSFFLWVILFQRTESLPLGVIHNSLQVSDVDK |
| | | 51 100 |
| EBOV-B | (51) | LVCRDKLSSTSQLKSVGLNLEGNVATDVPTATKRWGFRAGVPPKVVNYE |
| EBOV-S | (51) | LVCKDHLASTDQLKSVGLNLEGSVSTDIPSATKRWGFRSGVPPKVVSYE |
| EBOV-Z | (51) | LVCRDKLSSTNQLRSVGLNLEGNVATDVPSATKRWGFRSGVPPKVVNYE |
| | | 101 150 |
| EBOV-B | (101) | AGEWAENCYNLDIKKADGSECLPEPEGVIRGFPRCRYVHKVSGTGPCPEG |
| EBOV-S | (101) | AGEWAENCYNLEIKKEDGSECLPPPVGIRGFPRCRYVHKAQGTGPCPGD |
| EBOV-Z | (101) | AGEWAENCYNLEIKKEDGSECLPAFVGIRGFPRCRYVHKVSGTGPCAGD |
| | | 151 200 |
| EBOV-B | (151) | YAFHKGAFFLYDRLASTIYRSVFSEGVAFLLIPETKQDFQSPPLH |
| EBOV-S | (151) | YAFHKDGAFFLYDRLASTVIYRCVNFVEGVIAFLILAKPKETFLQSPPIR |
| EBOV-Z | (151) | FAFHKGAFFLYDRLASTVIYRCVFVEGVAFLLIPQAKQDFSSHPFLR |
| | | 201 250 |
| EBOV-B | (201) | EPAAMTDEPSSVYHIVTINYVDNFGTINMNFELFQVDHLTYVQLERFPTP |
| EBOV-S | (201) | EAMNYTENTSSVYATSYIEYEIEFQAQHSSTLFKIDNNTFVRLDRPHTP |
| EBOV-Z | (201) | EPVNATEDPSSGYSTIIRYQVTFGFTNETEYLFEMDNLTYVQLSRFPTP |
| | | 251 300 |
| EBOV-B | (251) | QFLVQLNETIYTNERSNTTGLIWKVNEFVDTGVGEWAFWENKKNFTKT |
| EBOV-S | (251) | QFLFQLNDTIHLHQQLSNTTGRLIWTLNADINADGEWAFWENKKNLSEQ |
| EBOV-Z | (251) | QFLQLNETIYVTSKRSNTTGLIWKVNEIDTTEGEWAFWETKKNLTKR |
| | | 301 350 |
| EBOV-B | (301) | LSSEELSVIFVPRADPGSNCKTKVTPTSFANNQTSKNHEDLVPEDPASV |
| EBOV-S | (301) | LRGEELSFEALSNETEDDDAASSRITKGRISDRATRKYSDLVPEKNSPGM |
| EBOV-Z | (301) | IRSEELSFVVSNGAKNISGCSPARTSSDPGTNTTEDHKIMASENSSAM |
| | | 351 400 |
| EBOV-B | (351) | VOVRDLQRENTVPTPPDPTVPTLIPDTMEEQTSHYEPNISRNHQERN |
| EBOV-S | (351) | VPLHIPEGETLPSQNSTEGRRVGVNTQETITETAATIIGTNGNHMOIST |
| EBOV-Z | (351) | VOVHSQGEAAVSHLTTLATISISPOSLTKKPGPDNSTHNTVPYKLDISE |
| | | 401 450 |
| EBOV-B | (401) | NIAHPELANNPPDNTTPSPPPQDGERISSHTTPSPRPVPTSTIHEITRE |
| EBOV-S | (401) | IGIRESSSQIPSSSPTTAPSPACPTHTSGPSVMATEEPTPPGSSPG |
| EBOV-Z | (401) | ATQVEQHRRRTDNSTASDTPSATTAAGPPKAENTNTSKSTDFLDPATTT |
| | | 451 500 |
| EBOV-B | (451) | THIPTMTTSHDTSNRPNPIDISESTEPGLTNTTRGAANLLTGSRRTR |
| EBOV-S | (451) | PTTEAPTLTTPENITTAVKTVLPCSTSNGLITSTVTGILGSLGLRKRSR |
| EBOV-Z | (451) | SPQNHSETAGNNTHHQDTGEESASSGKGLITNTIAGVAGLITGGRTR |
| | | 501 550 |
| EBOV-B | (501) | REITLRTQAKCNPNLHYWTQDEGAAIGLAWIPYFGPAEGIYIEGIMHN |
| EBOV-S | (501) | RQTNKRTGKCNPNLHYWTAQEQHNAAGIAWIPYFGPAEGIYIEGIMHN |
| EBOV-Z | (501) | REAIVNAQPKCNPNLHYWTQDEGAAIGLAWIPYFGPAEGIYIEGIMHN |
| | | 551 600 |
| EBOV-B | (551) | QNLICGLRQLANETTQALQLFLRATTELRTFSILNRKAIDFLLRWGGT |
| EBOV-S | (551) | QNALVCGLRQLANETTQALQLFLRATTELRTYTIILNRKAIDFLLRRWGGT |
| EBOV-Z | (551) | QDGLICGLRQLANETTQALQLFLRATTELRTFSILNRKAIDFLLRWGGT |
| | | 601 650 |
| EBOV-B | (601) | CHILGPDCCEPHDWTKNITDKIQI IHDFIDKELPQTDNDNWWTGWRQ |
| EBOV-S | (601) | CRILGPDCCEPHDWTKNITDKINQI IHDFIDNPLNQDNDNWWTGWRQ |
| EBOV-Z | (601) | CHILGPDCCEPHDWTKNITDKIQI IHDFVDKTLFQGDNDNWWTGWRQ |
| | | 651 676 |
| EBOV-B | (651) | WVPAGIGTGVIIAVALICTCKEFL |
| EBOV-S | (651) | WIPAGIGTGVIIAIALICVCKLIC |
| EBOV-Z | (651) | WIPAGIGVTGVIIAVALFCICKEVF |

Figura 7

ES 2 618 103 T3

| | 1 | 50 |
|---------------|-------|--|
| EBOV-B no-opt | (1) | ATGGTTACATCAGGAATTCACAAATTGCCCCGCGAAACCTTCAGAAAAC |
| EBOV-S no-opt | (1) | ATGGGGGGTCTTAGCCTACTCCAAATTGCCAGGGACAAATTTCCGAAAG |
| EBOV-Z no-opt | (1) | ATGGCCGTTCAGGAATTTGTCAGTTACCTCGTGATCGATTCAACAGGAC |
| | 51 | 100 |
| EBOV-B no-opt | (51) | ATCATTFTTTTCTTTGGGTATAATCTATTTTCACAAAGTTTTCCTATCC |
| EBOV-S no-opt | (51) | CTCTTTCTTTCTTTGGGTCATCATCTTTTCCAAAGGGCTTTTCATGC |
| EBOV-Z no-opt | (51) | ATCATTCTTTCTTTGGGTATTATCTTTTCCAAAGAGATTTTCATCC |
| | 101 | 150 |
| EBOV-B no-opt | (101) | CATTGGCGTATTTCACAAACACCTCTCAGGTAACTGATATAGATGAA |
| EBOV-S no-opt | (101) | CTTTGGTGTCTGACTAACACCACTTTTGAAGTACACAGAGATTGACCAG |
| EBOV-Z no-opt | (101) | CACTGGAGTCATCCACAAACACCTTACAGGTTAGTATGTCGACAA |
| | 151 | 200 |
| EBOV-B no-opt | (151) | TTGGTGTGCCCGATAACTTTCTCCACAACTCAGCTGAAATCGGTCGG |
| EBOV-S no-opt | (151) | CTAGTCTGCAAGGATCATCTTGCATCTACTGCCAGCTGAAATCGTGGG |
| EBOV-Z no-opt | (151) | CTAGTTGTCTGACAACTGTCTCTCCAAACTCAATGAGATCGTGGG |
| | 201 | 250 |
| EBOV-B no-opt | (201) | GCTTAACTAGAAAGGTAATGGAGTTCACACAGATGTACCAACAGCAACGA |
| EBOV-S no-opt | (201) | TCTCAACCTGAGGGGAGCGGAGTATCTACTGATATCCCATCTGCAACAA |
| EBOV-Z no-opt | (201) | ACTGAACTCGAAAGGGAATGGAGTGCACAACTGACCTGCCATCTGCAACTA |
| | 251 | 300 |
| EBOV-B no-opt | (251) | AGAGTGGGGATTCCGAGCTGGTGTCCGCCAAAGTGGTGAATACGAA |
| EBOV-S no-opt | (251) | AGCGTTGGGGTTCCGATCTGGTGTCTCTCCAAAGTGGTCAAGTATGAA |
| EBOV-Z no-opt | (251) | AAAGTGGGGTTCCGAGCTGGTGTCCCGTGTCCCAAAAGTGGTCAATTAAGAA |
| | 301 | 350 |
| EBOV-B no-opt | (301) | GCTGGGAGTGGGCTGAAAATGCTACAACCTGGACATAAACAAAGCAGA |
| EBOV-S no-opt | (301) | GCGGGAGAAATGGGCTGAAAATGCTACAACCTGAAATAAAGCAAGCCGGA |
| EBOV-Z no-opt | (301) | GCTGGTGAATGGGCTGAAAATGCTACAACCTGAAATAAAGCAAGCTGA |
| | 351 | 400 |
| EBOV-B no-opt | (351) | TGGTAGGATGCTTACCTCAAGCCCTGAGGGTGTAAAGGGCTTCCCTC |
| EBOV-S no-opt | (351) | CGGAGCGAATGCTTACCCCAACCCTCGATGGTCTCCAGGGCTTTCCAA |
| EBOV-Z no-opt | (351) | CGGAGTGAATGCTTACCAACAGCCCTCGACGGGATTCGGGGCTTCCCTC |
| | 401 | 450 |
| EBOV-B no-opt | (401) | GCTGCCGTATGTGCACAAGGTTCTGGAACAGGCCCTGCCCTGAAGGT |
| EBOV-S no-opt | (401) | GCTGCCGTATGTGCACAAGGTTCTGGAACAGGCCCTGCCCTGAAGGT |
| EBOV-Z no-opt | (401) | GCTGCCGTATGTGCACAAGGTTCTGGAACAGGCCCTGCCCTGAAGGT |
| | 451 | 500 |
| EBOV-B no-opt | (451) | TACGCTTTCCAAAGGAGCGCTTTCTTCTCTATGATCGCTGCATC |
| EBOV-S no-opt | (451) | TACGCTTTCCAAAGGATGGAGCTTTCTTCTCTATGACAGGCTGCTTC |
| EBOV-Z no-opt | (451) | TTTGCCTTCCAAAGGAGCGCTTTCTTCTCTATGATCGCTGCATC |
| | 501 | 550 |
| EBOV-B no-opt | (501) | AACTATCATCTATGAAGCCCAAGTTTTCAGAAAGGTGTTTGGCTTTCT |
| EBOV-S no-opt | (501) | AACTATTAATTAAGAGGAGTCAATTTTCCAGAGGGGTAATTCATTTCT |
| EBOV-Z no-opt | (501) | CACAGTTATCTACAGGAGGAGGACTTCCCTGAAGGTGTCCTTGCATTC |
| | 551 | 600 |
| EBOV-B no-opt | (551) | TGATCTCCCGAAACTAAAGGGAGTTTTCATCGCAACCACTAGAT |
| EBOV-S no-opt | (551) | TGATCTCCCGTAAACCAAAAGAAACGTTCTTCAAGTCCCGCCATTCGA |
| EBOV-Z no-opt | (551) | TGATCTCCCGCAAGCTAAGGGAGTTCTTCAAGTCCCGCCATTCGAG |
| | 601 | 650 |
| EBOV-B no-opt | (601) | GAAACCGCAATATGACAACAGCCCTTCCAGCTACTACCCACAGTCC |
| EBOV-S no-opt | (601) | GAGGCAGTAACTTACTGAAATACTCAAGTTATTATGCCACATCTTA |
| EBOV-Z no-opt | (601) | GAGCCGTTCAATGCAACGGAGCCCGCTAGTGGCTACTTTTCTACCC |
| | 651 | 700 |
| EBOV-B no-opt | (651) | ACTTAAATATGCTGGCTGACAAATTTTGGGCCCAATATGACTAACTTTCT |
| EBOV-S no-opt | (651) | CTTGGAGTATCAATCGAAATTTTGGTGTCAACCTCCCGACCTTT |
| EBOV-Z no-opt | (651) | AACTAGATATCAGGCTACCGGTTTGGAGCCAAATGAGACAGATTAAT |
| | 701 | 750 |
| EBOV-B no-opt | (701) | TTCAGTGGATCATCTAACCTTGTGCTCTGAAACCAAGATTCAACCC |
| EBOV-S no-opt | (701) | TCAAAATGACAAATAATACCTTTGTTGCTGGACAGGCCCCACACGCT |
| EBOV-Z no-opt | (701) | TGAGCTGACAAATGACCTTCGTCCACTGAACTCAAGATTCAACCC |

Figura 8A

ES 2 618 103 T3

| | | 751 | 800 |
|---------------|--------|---|------|
| EBOV-B no-opt | (751) | CAATTCTGTCCAACCTCAATGACACCATTTAATACTAATGGGGCTCCAG | |
| EBOV-S no-opt | (751) | CAGTTCCCTTTCCAGCTGAATGATACCATTACCTTCGCCAACAGTTGAG | |
| EBOV-Z no-opt | (751) | CAGTTTCTGCTCCAGCTGAATGACACAATAATACAGTGGGAAAAGGAG | |
| | | 801 | 850 |
| EBOV-B no-opt | (801) | CAACACCACAGGACACTAATTTGGAAAGTAAATCCTACTGTGACCCG | |
| EBOV-S no-opt | (801) | TAAACAACCTGGGAGACTAATTTGGACCTAGATGCTAATATCAATGCTG | |
| EBOV-Z no-opt | (801) | CAATACCACGGGAAAACCTAATTTGGAAAGTCTACCCCGAATTTGATACAA | |
| | | 851 | 900 |
| EBOV-B no-opt | (851) | GCGTAGGTGATGGGCTTCTGGGAAAATAAGAAGAACTTCCACAAACCC | |
| EBOV-S no-opt | (851) | ATATTGGTGGATGGGCTTTTGGGAAAMTAAATAAATCTCTCCGACAA | |
| EBOV-Z no-opt | (851) | CAATCGGGGAGTGGGCTTCTGGGAAACTAAATAAACCCTCCTGGAAA | |
| | | 901 | 950 |
| EBOV-B no-opt | (901) | CTTTCAGTGAAGAGCTGTCTGTCTATTTGTACCAAGACCCAGGATCC | |
| EBOV-S no-opt | (901) | CTACCTGGAGAAGAGCTGTCTTTCGAAGCTTTATCGCTCAACGAGACGGA | |
| EBOV-Z no-opt | (901) | ATTCGAGTGAAGAGTTGTCTTTCCAGTTTATCAAAACGAGCCAAATA | |
| | | 951 | 1000 |
| EBOV-B no-opt | (951) | AGGCAGCAACCPGAGAGCGAAGGTCACTCCCACAGCTTCGCCAACACC | |
| EBOV-S no-opt | (951) | AGACGATGATCGGCATCGTGGAAATTACADAGGGAAGATCTCCGACC | |
| EBOV-Z no-opt | (951) | CATCAGTGGTCAGAGTCCGGCGGCACTTCTTCGAGCCAGGGACCACAA | |
| | | 1001 | 1050 |
| EBOV-B no-opt | (1001) | AAACCTCCAGAACCPGAGACTTGGTTCCAGAGGATCCCGCTTCGTG | |
| EBOV-S no-opt | (1001) | GGGCCACCGAGAGTATTCGGACCTGGTTCCAAAGGATCCCCTGGGTG | |
| EBOV-Z no-opt | (1001) | CAACACTGAGACCCAAATCATGGCTTCAAAATCTCTCTCAATG | |
| | | 1051 | 1100 |
| EBOV-B no-opt | (1051) | GTTCAAGTGCAGACCTCCGAGGGAAACACAGTCCGACCCCAACCCC | |
| EBOV-S no-opt | (1051) | GTTCCATTGCAATACCAGAGGGGAAACACATTCGCGTCTCAGATTC | |
| EBOV-Z no-opt | (1051) | GTTCAAGTGCAGACTCAGGAGGGGAAAGCTGCAGTGTGCGCATCTAACAC | |
| | | 1101 | 1150 |
| EBOV-B no-opt | (1101) | AGACACAGTCCACCAACTCTGATCCCGACACAMTGGAGGACAAACCA | |
| EBOV-S no-opt | (1101) | GACAGAGGTGCAGAGTAGGTGTGACACTCAGGAGACCATTAACAGAGA | |
| EBOV-Z no-opt | (1101) | CCTTCCACAATCTCCAGACTCCCAATCCCCTCCCAACCAACCCAGTC | |
| | | 1151 | 1200 |
| EBOV-B no-opt | (1151) | CCAGCCACTAGAACCCCAAACTTTCCAGAACCATCAAGAGAGGGAG | |
| EBOV-S no-opt | (1151) | CACTGCAACAAATTATGGCACTAACCGCAACCATATGCAGTCTCCGCC | |
| EBOV-Z no-opt | (1151) | CGAACACAGCACCATAATAACCCGCTGTATAACTTGAATCTCTGTAG | |
| | | 1201 | 1250 |
| EBOV-B no-opt | (1201) | AAACACGCACACCCGAAACTCTCGCCACCAATCCCCAGACAAACACAC | |
| EBOV-S no-opt | (1201) | ATGGGATAAGACCGAGCTCCAGCCAAATCCCGAGTTCTTACCCGACCAC | |
| EBOV-Z no-opt | (1201) | GCAGCTCAAGTTGAACACATCACCCAGAACAGAACAGACAGCACACCC | |
| | | 1251 | 1300 |
| EBOV-B no-opt | (1251) | CCCGTGCACACCCTCAAGCCGTTAGCGGACAGTTCCCACCAACAC | |
| EBOV-S no-opt | (1251) | GGCACCAAGCCCTGAGGCTCAGACCCCAACAGCCACACATCAGGTCCAT | |
| EBOV-Z no-opt | (1251) | CTCCGACACTCCCTCTGCACACACCCGAGCCGGACCCCAABAGCAGAGA | |
| | | 1301 | 1350 |
| EBOV-B no-opt | (1301) | CCTCCCCCGCCAGTCCCAACAGCACATCCATCCAGCCACAGGAG | |
| EBOV-S no-opt | (1301) | CAGTGTGGCCACCGAGGACCAACACACCAACCGGAAAGCTCCCCCGC | |
| EBOV-Z no-opt | (1301) | ACACCAACACCGCAAGAGCCTGAACTTCCCTGGACCCCGCCACACACA | |
| | | 1351 | 1400 |
| EBOV-B no-opt | (1351) | ACTCACATTCCACCCCAATGACAAACAGCCATGACACCGACAGCAATCG | |
| EBOV-S no-opt | (1351) | CCAAACACAGGAGACCCACTCTCACCCCCCAAAATTTAACAACAGC | |
| EBOV-Z no-opt | (1351) | AGTCCGCAAAACACAGGAGACCCGCTGGCAACCAACACATCATCACCA | |
| | | 1401 | 1450 |
| EBOV-B no-opt | (1401) | BCCPAGCCCAATGACATCAGCGAGTCTACAGAGCCGGACACTCACCA | |
| EBOV-S no-opt | (1401) | CGTAAAACTCTCCTCCACAGGAGTCCACAAAGCAACGGTCTAATAACTT | |
| EBOV-Z no-opt | (1401) | AGATACCGGACAGAGAGTGCAGCAGCGGGAGGTTGGCTAATTACCA | |
| | | 1451 | 1500 |
| EBOV-B no-opt | (1451) | ACACCCCAAGGGGCTGCAAATCTGCTGACAGGCTCAGAAAGAACCCGA | |
| EBOV-S no-opt | (1451) | CAACAGTAACGGGATCTTGGGAGTCTGGGCTTCGAAACCGCAGCAGA | |
| EBOV-Z no-opt | (1451) | ATACTATTGCTGGAGTCCAGGACTGATCACAGGCGGGAGAGGACTCGA | |

Figura 8A (continúa)

```

1501 1550
EBOV-B no-opt (1501) AGGGAATCACCCTGAGACACAAGCCAAATGCAACCCAAACCTACACTA
EBOV-S no-opt (1501) AGACAAACTAAACACCAAGCCACCGGTAAGTGCAATCCCAACTTACACTA
EBOV-Z no-opt (1501) AGAGAAGCAATTGTCATGCTCAACCCAAATGCAACCCCTAATTTACATTA
1551 1600
EBOV-B no-opt (1551) TTGGACATCCCAATGATGAAAGGGCTGCCATTTGGTTTAGCCTGGATACCTT
EBOV-S no-opt (1551) CTGGACTGCACATGAACAACATAATGCTGCCTGGATTGCCTGGATCCCGT
EBOV-Z no-opt (1551) CTGGACTACTCAGGATCAAGGGTGTGCAATCGGACTGGCCTGGATACCAT
1601 1650
EBOV-B no-opt (1601) AATTCGGGCCCCGACGACAGGGGATTTATACGGAAAGGATATGCACAAA
EBOV-S no-opt (1601) AATTTGGACCGGGTCCGGAAGGCATATACACTGAAAGGCCTGATGCATAAC
EBOV-Z no-opt (1601) AATTCGGGCCAGCCGAGGGATTTATACATAGAGGGCTATGCACAAA
1651 1700
EBOV-B no-opt (1651) CAATATGGCTAATTTGCCGGTTGACCCAGCTAGCAAAAGACACTCA
EBOV-S no-opt (1651) CAATATGCCCTAGTCTGTGGACTTAGCCAAGTGCATAATGAACAACCA
EBOV-Z no-opt (1651) CAAGATGGTTAATCTGCTGGTTGAGACAGCTGGCCAACGACACTCA
1701 1750
EBOV-B no-opt (1701) AGCCCTACAGTTATTCCTTCGTCGTACCACCGAATTCGGCACTTTCTCTA
EBOV-S no-opt (1701) AGCTCTGCACGTTTTCTTTAGACAGCACACAGGCTCCGGGACATACCA
EBOV-Z no-opt (1701) AGCTCTTCAAATGTTCCCTGAGAGCACACTGAGCTACGCACTTTTCAA
1751 1800
EBOV-B no-opt (1751) TATTGAATCGAAAAGCATCGACTTTTACTCCATAGATGGGGAGGAACG
EBOV-S no-opt (1751) TACTCAATAGGAAGGCATAGATTTCTTCTCCACGATGGGGGGGACAA
EBOV-Z no-opt (1751) TCCTCAACGTAAGGCAATTGATTTCTTGCTCCGGGATGGGGGGCACAA
1801 1850
EBOV-B no-opt (1801) TGCCACATCTTAGGCCCGATGCTGATATGAACCCCATGATTGGACTAA
EBOV-S no-opt (1801) TGCAGGATCTCGGCCCGGATGTTGTCATGACCCCATGATTGGACAAA
EBOV-Z no-opt (1801) TGCCACATTCTGGGCCCGGACTGCTATCGAACCCCATGATTGGACCAA
1851 1900
EBOV-B no-opt (1851) CAACATTACAGCAAAATAGATCAATCATTCATGATTTCTTGATAAAC
EBOV-S no-opt (1851) AAACATCACAGATAAAATCAACCAATCATCCATGATTTCTCGACAAC
EBOV-Z no-opt (1851) CAACATAACAGCAAAATTAGCAGATTATTCATGATTTTGTGATAAABA
1901 1950
EBOV-B no-opt (1901) CTCTACCAGATCAACAATATGACAAATGGTGGACAGGGTGGAGGCAT
EBOV-S no-opt (1901) CCTTCCTAAACAGGATAATGATGATAATTGGTGGACGGGCTGGAGACAG
EBOV-Z no-opt (1901) CCTTCCGACCAAGGGGACAAATGACAAATGGTGGACAGGATGGAGACA
1951 2000
EBOV-B no-opt (1951) TGGTTCCTGCGGGGATCGGGATCACGGGGTAATATCGCACTTATAGC
EBOV-S no-opt (1951) TGGATCCCTGCGGGAATAGGCATTAAGTGAATATATATGCAATTATTGC
EBOV-Z no-opt (1951) TGGATACCGGCGGGTATTGGAGTTACAGGCCTATATATGCACTTATCGC
2001 2031
EBOV-B no-opt (2001) ACTGCTGTGTAATGCAAAATCTACTCTAA
EBOV-S no-opt (2001) TCTTCTTTGCGTTGCAAGCTGCTTGGCTGA
EBOV-Z no-opt (2001) TTTATTCTGTTATGCAAAATGTCCTTTAG

```

Figura 8A (continúa)

ES 2 618 103 T3

| | | 1 | 50 |
|------------|-------|---|---------------|
| EBOV-B opt | (1) | ATGGTCACATCTCGAATTTCTCCAGCTCCTTAGCGAAO | GGTTCCGGGAAAC |
| EBOV-S opt | (1) | ATGGCCGGCCTGAGCTGCTGCAGCTGCCCGCGACAGTTCCGGGAACTC | |
| EBOV-Z opt | (1) | ATGGCCGTGACAGGGCTTTCTGCAGCTCCCGAGACAGATTCAAGCGGAC | |
| | | 51 | 100 |
| EBOV-B opt | (51) | CAGTTTCTTTGTCTGGGTGATCATCTCTTCCATAAGGTGTTCCCTATCTC | |
| EBOV-S opt | (51) | CAGCTTCTTCGTGTGGGTGATCATCTCTTCCAGAAAGCCCTTCAGCATGC | |
| EBOV-Z opt | (51) | CTCCTTTTCTCTGGGTGATCATCTCTTTTTCAGCGAACCTTCTCCATCTC | |
| | | 101 | 150 |
| EBOV-B opt | (101) | CCCTGGGGTCTCCATAACAATACATTCCAAAGTGTCAGATATCGATAG | |
| EBOV-S opt | (101) | CCCTGGGGTGGTGACCAACAGCACCTCGAAAGTGACGAGATCGACAG | |
| EBOV-Z opt | (101) | CTCTGGGGTGTATCCACAATAGCACCTCCAGGTGTCGACGTGGAACAAG | |
| | | 151 | 200 |
| EBOV-B opt | (151) | TTGGTGTGTCCCGATAAAGTGTCACTACCTCTCAGCTGAAAGCGTCCGG | |
| EBOV-S opt | (151) | CTGGTGTGAAAGGACACCTGGCCAGCACCGATCAGCTGAGTCCGCTGG | |
| EBOV-Z opt | (151) | CTCGTGTGCCGGGACAGCTGTCTCCACCAACCAGCTGAGAAGCGTGGG | |
| | | 201 | 250 |
| EBOV-B opt | (201) | CCTCAACTCTCGAAGGGAAATGGTGTCCACTGATGTCCCTACTGCCACA | |
| EBOV-S opt | (201) | CCTCAACTCTGGAAGGGACGCGGGGTGAGCACCGACATCCCGAGGCCACCA | |
| EBOV-Z opt | (201) | GCTCAATCTCGAGGGCAATGGCGTGGCCACAGACGTGCCCTCCGCCACA | |
| | | 251 | 300 |
| EBOV-B opt | (251) | AACGATGGGGTTTCCGGCTGGTGTCCCCAAAMGTGTCTACTATGAA | |
| EBOV-S opt | (251) | ACAGATGGGGTTTCCAGATCCGGCTGGCCCCCAAGGTGTCTCTATGAG | |
| EBOV-Z opt | (251) | AGCGCTGGGGTTTCCGAGGGGGTCCCTCCTAAMGTCTGAACTACGAG | |
| | | 301 | 350 |
| EBOV-B opt | (301) | GCTGGCGAATGGGCAGAAATGTCTATAAATCTGACATTAAMAAAGCCGA | |
| EBOV-S opt | (301) | GCCGGGAGTGGGCCGAACTGTACAACTCGAAATCAAGAAGCCCGA | |
| EBOV-Z opt | (301) | GCAGGGGAATGGGCTGAAAAATGTTACAACTCGAGATCAAMAAACAGAA | |
| | | 351 | 400 |
| EBOV-B opt | (351) | TGGCTCCGAGTGTCTCCCTGAAGCTCCTGAGGGCGTCCGGGATTCCCA | |
| EBOV-S opt | (351) | CGGCAGCGAGTGTCTCCCTCCCTCCCGATGGCGTGGAGGGCTTCCCCC | |
| EBOV-Z opt | (351) | TGGCTCTGAGTGCCTCCCTCCCGCACCAGACGGCATCAGGGCTTCCCTA | |
| | | 401 | 450 |
| EBOV-B opt | (401) | GATGTCCGTACGTCCATAAAGTCTCTGGCACCGGCCCTTCCCTGAAGGA | |
| EBOV-S opt | (401) | GGTGCAGATAGTGCACAAAGCACAAGGACCGGTCCATGCCAGGGGAC | |
| EBOV-Z opt | (401) | GATGCCGTATGTGCACAAAGTGTAGTGGTACAGGCCCTTGTCCCGGGAT | |
| | | 451 | 500 |
| EBOV-B opt | (451) | TACGCCCTTCATAAAGAAGGGCCCTTTTCTCTATGATGCCCTGGCTTC | |
| EBOV-S opt | (451) | TACGCCCTTCCAAAGGACGGCGCTTTTCTCTAGGACCGCTGGCCTC | |
| EBOV-Z opt | (451) | TTTGCCTTCCAAAGAAGGGGCTTTCTTCTGTACGACAGCTCGCCAG | |
| | | 501 | 550 |
| EBOV-B opt | (501) | CACAATTATCTATCGCTCTACTACCTTTCCGAGGGGGTGTGTGCTTTTC | |
| EBOV-S opt | (501) | CACCGTCTATCTACCGGGCGTGAATTTCCCGAGGGCGTGATGCCCTTCC | |
| EBOV-Z opt | (501) | TACAGTATATAACGAGGTACTACTTCCCGAAGGGGTGTGGCTTTTC | |
| | | 551 | 600 |
| EBOV-B opt | (551) | TCATCCTCCCGAGACAAGAAAGATTTCTTCAGAGTCCCCCTTCAT | |
| EBOV-S opt | (551) | TGATCCTGCCAAGCCAAAGAGACATTCTCGAGAGCCCCCATCCGG | |
| EBOV-Z opt | (551) | TGATTCTGCCCAGGCCAAGAGGACTTCTCAGCAGCCACCCCTGAGA | |
| | | 601 | 650 |
| EBOV-B opt | (601) | GAGCCTGCCAATATGACTACCGATCCTTCTCTACTATCATACCGTGAC | |
| EBOV-S opt | (601) | GAGCGGTCAAGTACACCAGAAACACAGCAGCTACTAGCCACTCCTA | |
| EBOV-Z opt | (601) | GAACCCGTCAAGCCACAGAGGACCCAGCAGGGGCTACTACAGCACCCAG | |
| | | 651 | 700 |
| EBOV-B opt | (651) | AGTCAATTATCTCGGTGATTACTTCGGCACTACATGACCAACTTCTGT | |
| EBOV-S opt | (651) | CGTGGAAATCGAGATCGAGAACTTCGGCGCCAGCCAGCCACCTGT | |
| EBOV-Z opt | (651) | NATCAGATACCGGGCCACAGGCTTCGGCACTATGAGACAGACTACTGT | |

Figura 8B

| | 701 | 750 |
|------------|--------|--|
| EBOV-B opt | (701) | TCCAGGTCGACCACCTGACATATGTCCAGCTCGAGCCTCGCTTTACCCCA |
| EBOV-S opt | (701) | TCAAGATCGACACAAACACCTTGGTCCGGCTCGACAGACCACACACCCC |
| EBOV-Z opt | (701) | TCGAGCTGGACACCTGACCTACGTCCAGCTCGAAGCCGGTTTACCCT |
| | | 751 800 |
| EBOV-B opt | (751) | CAGTTCTCTGTCAGCTCAATGAAACTATCTAFACTAACGGACGGCCCTC |
| EBOV-S opt | (751) | CAGTTTCTGTTCCAGCTGAACGACACCATCCACTGCTCAGCAGCTGTC |
| EBOV-Z opt | (751) | CAGTTCTCCTGCAGCTCAACGAGACAATCTACACTCCCGCAAGCCGAG |
| | | 801 850 |
| EBOV-B opt | (801) | TAATACGACGGGACCCTCATTGGAAAGTCATCCCTGTGCGATACCG |
| EBOV-S opt | (801) | CAACACCACGGCAGACTGATCTGGACCCTGGAGCCCTACMTCAACGCC |
| EBOV-Z opt | (801) | CAACACAACAGGCAAGCTCATCTGGAAAGTGAACCCCGAGATCGATACCA |
| | | 851 900 |
| EBOV-B opt | (851) | CGGTCCGAGAGTGGGCCTTTGGGAAACAAGAAGAACTTTACCAACGACC |
| EBOV-S opt | (851) | ACATCGGTGAATGGGCCTTTGGGAGAACAGAAGAACTGAGCGCGCG |
| EBOV-Z opt | (851) | CTATAGGGGAGTGGGCCTTCTGGGAACATAAGAAGAACTCAACCCGAG |
| | | 901 950 |
| EBOV-B opt | (901) | CTGAGTAGCGAGAACTCTCTGTGATCTTTCTGCTCCGGCTCAGGATCC |
| EBOV-S opt | (901) | CTCCGGGCGCAAGAACTCAGCTTGAGGCCCTGAGCTGAACGAGACAGA |
| EBOV-Z opt | (901) | ATCTGATCCGACGAAGCTGTCCTTCAACCGTGGTCCAACCGCGCCAGAG |
| | | 951 1000 |
| EBOV-B opt | (951) | TGATTCGAACCAGAAAGCFAAGTGAACCTACATCTTTTCCAACAGCC |
| EBOV-S opt | (951) | GGACGACCGACGCCGCCGCGAGCCGATCACCAAGCGCCGGATCAGCGACC |
| EBOV-Z opt | (951) | CATTTGAGGACAGAGCCCGCCGCAACCAAGCAGCBAACCCCGCACCACA |
| | | 1001 1050 |
| EBOV-B opt | (1001) | AGTCCAGCAAGAACCATGAGGAACCTCGTCCCCCAAGATCTGCCTGTGTG |
| EBOV-S opt | (1001) | GGCCACCAGAAAGTACAGCGACCTGGTGGCCCAAGAACAGCCCGCGATG |
| EBOV-Z opt | (1001) | CCACAAACCGAGACCAAGAATCATGGCCAGCCAGAACTCCAGCCCATG |
| | | 1051 1100 |
| EBOV-B opt | (1051) | GTCCAGGTCCGGGACCTCCAGCGGGAATATCCCGTCCCTACTCCCGCC |
| EBOV-S opt | (1051) | GTCCCTCTGCACATCCCGGAGGGGAGAGAACTCTCCTAGTCAGAAATAG |
| EBOV-Z opt | (1051) | GTCCAGGTCCACAGCCAGGGAAGAGAAACCGCCGTGAGCCACCTGACCAC |
| | | 1101 1150 |
| EBOV-B opt | (1101) | TGATACCGTCCCTACTACCTCATTTCCGATACATGGAAGAAGAGACCA |
| EBOV-S opt | (1101) | CACCGAGGGCAGACCGGTGGCCGTGAAACGCCAGGAACCCATCACCCAG |
| EBOV-Z opt | (1101) | ACTGCCACCATTCAGCACCAGCCCCAGAGCCCTGACCACCAAGCCCTGGC |
| | | 1151 1200 |
| EBOV-B opt | (1151) | CTTCTATTACGAGCACCATAACTCTCCGAAATCACCAAGGAACGAAT |
| EBOV-S opt | (1151) | CAGCCGCCACCATCATTTGGTACTAACCGCAACCACATGCAGATCAGCAC |
| EBOV-Z opt | (1151) | CCGACAGAGCACACACAACGCCCTGTACAGCTGACATCAGGGAG |
| | | 1201 1250 |
| EBOV-B opt | (1201) | AACACCGCTCATCCCGAGACTCTGGCTAATTAACCCCCCGACAATACTAC |
| EBOV-S opt | (1201) | ATCGGCATCCGCCCCAGCGGAGCCAGATCCCAAGTAGTAGTCTAACAC |
| EBOV-Z opt | (1201) | GCCAGCCAGGTGGAGCAGCACACAGACGGACCGACAAACGACAGCAACGC |
| | | 1251 1300 |
| EBOV-B opt | (1251) | CCCTAGTACCCCCCTCAGGAGGGGAGAGAACAGTTCCTTAGTACAC |
| EBOV-S opt | (1251) | AGCCCTAGCCCTGAGGCCAGACCCCTACCACACACACAGCGGCCCTTA |
| EBOV-Z opt | (1251) | CAGCGATACCCCTTCTGCCACCACAGCCCGGACCCCTTAGGGCCGAGA |
| | | 1301 1350 |
| EBOV-B opt | (1301) | CTTCCCAAGACCCCTCCCTACATCTACGATTCATCCCACAGCCGGCAG |
| EBOV-S opt | (1301) | GGGTGATGGCCACCAGGAACTACCCACCCCTCCTGGCAGCAGCCCAAGT |
| EBOV-Z opt | (1301) | ATAACCAACCCAGCAAGAGCACCGACTTTCTGGATCCAGCACCAACACC |
| | | 1351 1400 |
| EBOV-B opt | (1351) | ACACACTTCCCTACCCTATGACCACATCCCATGACACGATTCCAMTCCG |
| EBOV-S opt | (1351) | CCACTTCCGAGGCACCAACCCCTGACACCCCGGAGAACTACCAACCGC |
| EBOV-Z opt | (1351) | AGTCCACAGAACCAAGCGAAACCGCCGGCAACAACTACCCACCACCA |

Figura 8B (continúa)

| | | | | |
|------------|--------|--|--|------|
| | | 1401 | | 1450 |
| EBOV-B opt | (1401) | CCCTAAGCCCATCGATATCAGCGAATCTACCGAGCCCGGACCCCTCACAA | | |
| EBOV-S opt | (1401) | CGTGAAACCGTGCTGCCCCAGGAAAGCACCCAGCAAAGGCCTGATCACCA | | |
| EBOV-Z opt | (1401) | GGACACCGGCAGGAAAGCGCCAGCTCTGGCAAGCTGGCCCTGATTACCA | | |
| | | 1451 | | 1500 |
| EBOV-B opt | (1451) | ATACAAACCGCGGAGCCCGCTAATCTGCTGACTGGCTCCCGCGCACTCGA | | |
| EBOV-S opt | (1451) | GCACCGTGACCGGCATCCTGGCAGCCTGGCCTGCGGAGCGGAGCAGA | | |
| EBOV-Z opt | (1451) | ACACAAATCGCCGGCGTGGCCGGACTGATCACCGGGCGCAGACGGACCCAGA | | |
| | | 1501 | | 1550 |
| EBOV-B opt | (1501) | AGAGAAATCACCCCTCGAACAACAGCCCAAGTGTAACCCAAACTCCATTA | | |
| EBOV-S opt | (1501) | CGGCAGACCAACACCAAGCCACCCGCAAGTGCAACCCCAACTGCACTA | | |
| EBOV-Z opt | (1501) | CGGGAGGCCATCGTGAACCGCCAGCCCAAATGTAATCCTAATCTCCACTA | | |
| | | 1551 | | 1600 |
| EBOV-B opt | (1551) | TTGGACAACCAGGATGAAGGGGCCGCTATTGGCCTGGCTGGATCCCTT | | |
| EBOV-S opt | (1551) | CTGGACCGCCAGGAACAGCAAAAGCGCTGGGATGCCTGGATCCCTT | | |
| EBOV-Z opt | (1551) | TTGGACACACAGGACGAGGGGCCGTCCATCGGACTGGCATGGATTCCCTT | | |
| | | 1601 | | 1650 |
| EBOV-B opt | (1601) | ATTTGGGCCCTGCAGCCGAGGGGATCTATAACCGAAGGTATAATGCATAAT | | |
| EBOV-S opt | (1601) | ACTTTGGTCCGGTGCTGAGGGAAATATACACCGAGGGCTGATGCACAAC | | |
| EBOV-Z opt | (1601) | ACTTGGACCAGCCGCTGAAGGATCTATATCGAGGGGCTCATGCATAAC | | |
| | | 1651 | | 1700 |
| EBOV-B opt | (1651) | CAGAACGGGCTGATTTGGGGCTCGCCAGCTCGCCAAAGAACTACCCA | | |
| EBOV-S opt | (1651) | CAGAACGGCCCTGGTGTGGGGCTCAGACAGCTCGCCAAAGAAACCACTCA | | |
| EBOV-Z opt | (1651) | CAGGATGCTCTGATTTGTGGTCTCCGGCAGCTCGCTAATGAACAACACA | | |
| | | 1701 | | 1750 |
| EBOV-B opt | (1701) | GGCCCTCAGCTCTTCTCCGGGCTACTACGAACTGGGACCTTTTCCA | | |
| EBOV-S opt | (1701) | GGCACTGCAGCTTTCTCCGGGCTACCACCGACTGGGACCTACCA | | |
| EBOV-Z opt | (1701) | GGCTCTCAGCTCTTCTGAGAGCCACAACAGACTGAGAACCTTCAGCA | | |
| | | 1751 | | 1800 |
| EBOV-B opt | (1751) | TTCTCAATAGAAAGCTATCGATTTCTGCTCCAGCGCTGGGGGGGAACC | | |
| EBOV-S opt | (1751) | TCCTGAACAGGAAAGCCATCGACTTTCTGCTGCGGAGATGGGGCGGCACC | | |
| EBOV-Z opt | (1751) | TTCTCAAACCGCAAGGCTATTGACTTCTGCTCCAGGATGGGGAGGCACA | | |
| | | 1801 | | 1850 |
| EBOV-B opt | (1801) | TGTCATATCCTCGGACCCGATTGCTGATTGAGCCACATGATTGGACTAA | | |
| EBOV-S opt | (1801) | TGTAGAATCCTGGCCCGACTGTGCATGAGCCCCAGACTGGACCAA | | |
| EBOV-Z opt | (1801) | TGCCACATCCTGGGGCTGATTGTTGATGAACCTCACGATTGGACAAA | | |
| | | 1851 | | 1900 |
| EBOV-B opt | (1851) | AAACATCACTGACAAAATTGATCAGATATTCAATGATTTCAATTGATAAAC | | |
| EBOV-S opt | (1851) | GAATATCACCGACAAAGATCAACCAGATCATCACGACTTATCGACAAC | | |
| EBOV-Z opt | (1851) | GAACATTACAGATAACATCGATCAGATTATCATGACTTTGTGGACAAGA | | |
| | | 1901 | | 1950 |
| EBOV-B opt | (1901) | CCCTCCCCGATCAGACTCATATGACAAATGGTGGACGGGATGGGCCAG | | |
| EBOV-S opt | (1901) | CCCTCCCCAACCGACAAACGACGAAACTGGTGGACTGGTTGGGACAG | | |
| EBOV-Z opt | (1901) | CCCTCCCCGATCAGCCGACAAAGATAAATGGTGGACAGGGTGGACACAG | | |
| | | 1951 | | 2000 |
| EBOV-B opt | (1951) | TGGGTGCCCGCTGGCATGGCATTACAGGTCTCATATATGGCCCTCAATTGC | | |
| EBOV-S opt | (1951) | TGGATCCCTGCGGCATCGGCATCACGGCATCATATGCCATTATCGC | | |
| EBOV-Z opt | (1951) | TGGATTCCAGCGGCATGGCGTGACGGCGTGATATCGCCCTCATCGC | | |
| | | 2001 | | 2031 |
| EBOV-B opt | (2001) | ACTCCTGTGTATCTGTAAATTTCTCCCTGTGA | | |
| EBOV-S opt | (2001) | TCTCCTCTGGGTGTGAACTCCTCTCTGTGA | | |
| EBOV-Z opt | (2001) | CCTGTTCTGATCTGAAAGTTCTGTCTCTGA | | |

Figura 8B (continúa)

ES 2 618 103 T3

| | | 1 | 50 |
|---------------|-------|---|------|
| EBOV-B no-opt | (1) | ATGGTTACATCAGGAATTCTACAATTGCCCCGTGAACGCTTCAGAAAAAC | |
| EBOV-S no-opt | (1) | ATGGGGGTCTTAGCCTACTCCAATTGCCCAGGGACAAATTCGGAAAAG | |
| | | 51 | 100 |
| EBOV-B no-opt | (51) | ATCATTFTTTGTTTGGGTAAATAATCCTATTTACAAAAGTTTTCCCTATCC | |
| EBOV-S no-opt | (51) | CTCTTTCTTTGTTTGGGTCAATCATCTTATTCCAAAAGGCCTTTCCATGC | |
| | | 101 | 150 |
| EBOV-B no-opt | (101) | CATTGGGCGTAGTTCACAACAACACTCTCCAGGTAAGTGATATAGATAAA | |
| EBOV-S no-opt | (101) | CTTTGGGTGTTGTGACTAACAGCACTTTAGAAGTAACAGAGATTGACCAG | |
| | | 151 | 200 |
| EBOV-B no-opt | (151) | TTGGTGTGCCGGGATAAACTTTCCCTCCACAAGTCAGCTGAAATCGGTCGG | |
| EBOV-S no-opt | (151) | CTAGTCTGCAAGGATCATCTTGCATCTACTGACCAGCTGAAATCAGTTGG | |
| | | 201 | 250 |
| EBOV-B no-opt | (201) | GCTTAATCTAGAAGGTAATGGAGTTGCCACAGATGTACCAACAGCAACGA | |
| EBOV-S no-opt | (201) | TCTCAACCTCGAGGGGAGCGGAGTACTACTGATATCCCATCTGCAACAA | |
| | | 251 | 300 |
| EBOV-B no-opt | (251) | AGAGATGGGGATTCCGAGCTGGTGTCCACCCAAAGTGGTGAACACGAA | |
| EBOV-S no-opt | (251) | AGCGTTGGGGCTTCAGATCTGGTGTCTCCCAAGGTGGTCACTATGAA | |
| | | 301 | 350 |
| EBOV-B no-opt | (301) | GCTGGGGAGTGGGCTGAAAAGTGTACAACCTGGACATCAAGAAAGCAGA | |
| EBOV-S no-opt | (301) | GCGGGAGAATGGGCTGAAAATTTGCTACAATCTGAAATAAAGAACCCGA | |
| | | 351 | 400 |
| EBOV-B no-opt | (351) | TGGTAGCGAATGCCTACCTGAAGCCCTGAGGGTGTAGAGGCTTCCCTC | |
| EBOV-S no-opt | (351) | CGGGAGCGAATGCTTACCCCCACCGCCAGATGGTGTGAGAGGCTTCCAA | |
| | | 401 | 450 |
| EBOV-B no-opt | (401) | GCTGCCGTTATGTGCACAAGGTTTCTGGAACAGGGCCGTGCCCTGAAGGT | |
| EBOV-S no-opt | (401) | GGTGCCGCTATGTTCAAAAAGCCCAAGGAACCGGGCCCTGCCAGGTGAC | |
| | | 451 | 500 |
| EBOV-B no-opt | (451) | TACGCTTTCCACAAAGAAGGCGCTTTCTTCCCTGTATGATCGACTGGCATC | |
| EBOV-S no-opt | (451) | TACGCCTTTCAAAAGGATGGAGCTTTCTTCCCTATGACAGGCTGGCTTC | |
| | | 501 | 550 |
| EBOV-B no-opt | (501) | AACAATCATCTATCGAAGCACCCAGTTTTTCAGAAGGTGTTGTGGCTTTCT | |
| EBOV-S no-opt | (501) | AACTGTAATTTACAGAGGAGTCAATTTTGCTGAGGGGTAATTCATTTCT | |
| | | 551 | 600 |
| EBOV-B no-opt | (551) | TGATCCTCCCGAAACTAAAAGGACTTTTTCCAATCGCCACCCTACAT | |
| EBOV-S no-opt | (551) | TGATATTGGCTAAACCAAAGAAACGTTCTTCAGTCACCCCCCATTCGA | |
| | | 601 | 650 |
| EBOV-B no-opt | (601) | GAACCGCCAATATGACAACAGACCCTCCAGCTACTACCACACAGTCAC | |
| EBOV-S no-opt | (601) | GAGGCAGTAAACTACACTGAAAATACATCAAGTTATTATGCCACATCCTA | |
| | | 651 | 700 |
| EBOV-B no-opt | (651) | ACTTAATTATGTGGCTGACAATTTTGGGACCAATATGACTAACTTTCTGT | |
| EBOV-S no-opt | (651) | CTTGGAGTATGAAATCGAAAATTTTGGTGCTCAACACTCCACGACCCTTT | |
| | | 701 | 750 |
| EBOV-B no-opt | (701) | TTCRAGTGGATCATCTAACTTATGTGCAACTGAACCAAGATTACACCA | |
| EBOV-S no-opt | (701) | TCAAAATTGACAATAATACTTTTGTTCGTCTGGACAGGCCCCACAGCCT | |
| | | 751 | 800 |
| EBOV-B no-opt | (751) | CAATTTCTTGCCAACCTCAATGAGACCATTTATACTAATGGGCGTCGCAG | |
| EBOV-S no-opt | (751) | CAGTTCCTTTCCAGCTGAATGATACCATTACCTTCACCAACAGTTGAG | |
| | | 801 | 850 |
| EBOV-B no-opt | (801) | CAACACCACAGGAACACTAATTTGGAAAGTAAATCCTACTGTTGACACCG | |
| EBOV-S no-opt | (801) | TAATACAACCTGGGAGACTAATTTGGACTAGATGCTAATATCAATGCTG | |
| | | 851 | 900 |
| EBOV-B no-opt | (851) | GCGTAGGTGAATGGGCTTCTGGGAAAATAAGAAGAACTTCACAAAAACC | |
| EBOV-S no-opt | (851) | ATATTGGTGAATGGGCTTTTGGGAAAATAAAAAAATCTCTCCGAACAA | |
| | | 901 | 950 |
| EBOV-B no-opt | (901) | CTTCAAGTGAAGAGCTGTCTGTATATTTGTACCAAGAGCCCAGGATCC | |
| EBOV-S no-opt | (901) | CTACGTGGAGAAGAGCTGTCTTTCGAAGCTTTATCGCTCAACGAGACAGA | |
| | | 951 | 1000 |
| EBOV-B no-opt | (951) | AGGCAGCAACCAGAAGCAAGGTCCTCCACCAGCTTCGCCAACCAACC | |
| EBOV-S no-opt | (951) | AGACGATGATCGGGCATCGTCGAGAATTACAAAGGGAAGATCTCCGACC | |

Figura 9A

| | | | |
|---------------|--------|--|------|
| | | 1001 | 1050 |
| EBOV-B no-opt | (1001) | AAACCTCCAAGAACCACGAAGACTTGGTTCCAGAGGATCCCGTTTCAGTG | |
| EBOV-S no-opt | (1001) | GGGCCACCAGGAAGTATTCCGGACTGGTTCCAAAGAATTCCCTCGGGATG | |
| | | 1051 | 1100 |
| EBOV-B no-opt | (1051) | GTTCAAGTGCAGACCTCCAGAGGGAAAAACACAGTCCCGACCCCAACCC | |
| EBOV-S no-opt | (1051) | GTTCCATTGCACATACCAGAAGGGGAAACACATTTGCCGTCTCAGAATTC | |
| | | 1101 | 1150 |
| EBOV-B no-opt | (1101) | AGACACAGTCCCCACAACCTCTGATCCCCGACACAATGGAGGAACAAACCA | |
| EBOV-S no-opt | (1101) | GACAGAAGGTCGAAGAGTAGGTGTGAACACTCAGGAGACCATTACAGAGA | |
| | | 1151 | 1200 |
| EBOV-B no-opt | (1151) | CCAGCCACTACGAACCACCAACATTTCCAGAAACCATCAAGAGAGGAAC | |
| EBOV-S no-opt | (1151) | CAGCTGCAACAATTATAGGCACCTAACGGCAACCATATGCAGATCTCCACC | |
| | | 1201 | 1250 |
| EBOV-B no-opt | (1201) | AACACCGCACACCCCGAAACTCTCGCAACAATCCCCAGACAACAAC | |
| EBOV-S no-opt | (1201) | ATCGGGATAAGACCGAGCTCCAGCCAAATCCCGAGTTCCTCACCGACCAC | |
| | | 1251 | 1300 |
| EBOV-B no-opt | (1251) | CCCGTTCGACACCACCTCAAGACGGTGAGCGGACAAGTTCCACACAACAC | |
| EBOV-S no-opt | (1251) | GGCACCAGCCCTGAGGCTCAGACCCCAACCCACACATCAGGTCCAT | |
| | | 1301 | 1350 |
| EBOV-B no-opt | (1301) | CCTCCCCCGCCAGTCCCAACCAGCACAATCCATCCCACCACACGAGAG | |
| EBOV-S no-opt | (1301) | CAGTGATGGCCACCGAGGAACCAACACCACCGGGAAGCTCCCCGGC | |
| | | 1351 | 1400 |
| EBOV-B no-opt | (1351) | ACTCACATTTCCACCACAATGACAACAAGCCATGACACCGACAGCAATCG | |
| EBOV-S no-opt | (1351) | CCAACAACAGAAAGCACCACCTCTCACCACCCAGAAAATATAACACAGC | |
| | | 1401 | 1450 |
| EBOV-B no-opt | (1401) | ACCCAACCCAATTGACATCAGCGAGTCTACAGAGCCAGGACCCTCACCA | |
| EBOV-S no-opt | (1401) | GGTTAAAACGTCTCTGCCACAGGAGTCCACAAGCAACGGTCTAATAACTT | |
| | | 1451 | 1500 |
| EBOV-B no-opt | (1451) | ACACCACAAGAGGGGCTGCAAATCTGCTGACAGGCTCAAGAAGAACCCGA | |
| EBOV-S no-opt | (1451) | CAACAGTAACAGGGATTCTTGGGAGTCTTGGGCTTCGAAAACGCAGCAGA | |
| | | 1501 | 1550 |
| EBOV-B no-opt | (1501) | AGGGAAATCACCTGAGAACACAAGCCAAATGCAACCCAAACCTTACACTA | |
| EBOV-S no-opt | (1501) | AGACAACTAACACCAAGCCACGGGTAAGTGCBAATCCCAACTTACACTA | |
| | | 1551 | 1600 |
| EBOV-B no-opt | (1551) | TTGGACAACCAAGATGAAGGGGCTGCCATTGGTTTTAGCCTGGATACCTT | |
| EBOV-S no-opt | (1551) | CTGGACTGCACAAGAACAACATAATGCTGCTGGGATTGCTGGATCCCGT | |
| | | 1601 | 1650 |
| EBOV-B no-opt | (1601) | ACTTCGGGCCCGCAGCAGAGGGAAATTTATACGGAAGGGATAATGCACAAT | |
| EBOV-S no-opt | (1601) | ACTTTGGACCGGTTGCGGAAGGCATATACACTGAAGGCTGATGCATAAC | |
| | | 1651 | 1700 |
| EBOV-B no-opt | (1651) | CAAAATGGGCTAATTTGCGGGTTGAGGCAGCTAGCAAATGAGACGACTCA | |
| EBOV-S no-opt | (1651) | CAAAATGCCTTAGTCTGTGGACTTAGGCAACTTGCAAATGAAACAACCTCA | |
| | | 1701 | 1750 |
| EBOV-B no-opt | (1701) | AGCCCTACAGTTATTTCTGCGTGCTACCACGGAATGCGCACTTTCTCTA | |
| EBOV-S no-opt | (1701) | AGCTCTGCAGCTTTTCTTAAGAGCCACAACGGAGCTGCGGACATATACCA | |
| | | 1751 | 1800 |
| EBOV-B no-opt | (1751) | TATTGAATCGAAAAGCCATCGACTTTTACTCCAAAGATGGGGAGGAACG | |
| EBOV-S no-opt | (1751) | TACTCAATAGGAAGGCCATAGATTTCTTCTGCGACGATGGGGCGGGACA | |
| | | 1801 | 1850 |
| EBOV-B no-opt | (1801) | TGCCACATCTTAGGCCAGATTGCTGTATTGAGCCCCATGATTGGACTAA | |
| EBOV-S no-opt | (1801) | TGCAGGATCCTGGGACCAGATTGTTGCATTGAGCCACATGATTGGACAAA | |
| | | 1851 | 1900 |
| EBOV-B no-opt | (1851) | GAACATTACTGACAAAATAGATCAAATCATTTCATGATTTTCATTGATAAAC | |
| EBOV-S no-opt | (1851) | AAACATCACTGATAAAATCAACCAAAATCATCCATGATTTTCATCGACAACC | |
| | | 1901 | 1950 |
| EBOV-B no-opt | (1901) | CTCTACCAGATCAAACAGATAATGACAATTTGGTGGACAGGGTGGAGGCAA | |
| EBOV-S no-opt | (1901) | CCTTACCTAATCAGGATAATGATGATAATTTGGTGGACGGGCTGGAGACAG | |
| | | 1951 | 2000 |
| EBOV-B no-opt | (1951) | TGGGTTCTGCGGGATCGGGATCACGGGGTAATAATCGCAGTTATAGC | |
| EBOV-S no-opt | (1951) | TGGATCCCTGCAGGAATAGGCATTACTGGAATTATTATTGCAATTATTGC | |

Figura 9A (continúa)

ES 2 618 103 T3

| | | 2001 | 2031 |
|---------------|-------|---|------|
| EBOV-B | | (2001) ACTGCTGTGTATTTGCAAATTTCTACTCTAA | |
| EBOV-S | | (2001) TCTTCTTTGCGTTTGCAAGCTGCTTTGCTGA | |
| | | 1 | 50 |
| EBOV-B no-opt | (1) | ATGGTTACATCAGGAATTCACAATTGCCCGTGAACGCTTCAGAAAAAC | |
| EBOV-Z no-opt | (1) | ATGGGCGTTACAGGAATATTGCAGTTACCTCGTGATCGATTCAAGAGGAC | |
| | | 51 | 100 |
| EBOV-B no-opt | (51) | ATCATTTTTGTGTTGGGTAATAATCCTATTTACAAAAGTTTTCCCTATCC | |
| EBOV-Z no-opt | (51) | ATCATTCTTTCTTTGGGTAATTATCCTTTTCCAAAGAACATTTTCCATCC | |
| | | 101 | 150 |
| EBOV-B no-opt | (101) | CATTGGGCGTAGTTACAAACAACACTCTCCAGGTAAGTGATATAGATAAA | |
| EBOV-Z no-opt | (101) | CACTTGGAGTCATCCACAATAGCACATTACAGGTTAGTGATGTCGACAAA | |
| | | 151 | 200 |
| EBOV-B no-opt | (151) | TTGGTGTGCCGGGATAAACTTTCTCCACAAGTCAGCTGAAATCGGTCGG | |
| EBOV-Z no-opt | (151) | CTAGTTTGTCTGTGACAACTGTCAATCCACAATCAATTGAGATCAGTTGG | |
| | | 201 | 250 |
| EBOV-B no-opt | (201) | GCTTAATCTAGAAGGTAATGGAGTTGCCACAGATGTACCAACAGCAACGA | |
| EBOV-Z no-opt | (201) | ACTGAATCTCGAAGGGAATGGAGTGGCAACTGACGTGCCATCTGCAACTA | |
| | | 251 | 300 |
| EBOV-B no-opt | (251) | AGAGATGGGGATTCCGAGCTGGTGTCCACCCAAAGTGGTGAACACGAA | |
| EBOV-Z no-opt | (251) | AAAGATGGGGCTTCAGGTCGGTGTCCACCCAAAGTGGTCAATTATGAA | |
| | | 301 | 350 |
| EBOV-B no-opt | (301) | GCTGGGAGTGGGCTGAAAACCTGCTACAACCTGGACATCAAGAAAGCAGA | |
| EBOV-Z no-opt | (301) | GCTGGTGAATGGGCTGAAAACCTGCTACAATCTTGAAATCAAAAAACCTGA | |
| | | 351 | 400 |
| EBOV-B no-opt | (351) | TGGTAGCGAATGCCTACCTGAAGCCCTGAGGGTGTAAAGAGGCTTCCCTC | |
| EBOV-Z no-opt | (351) | CGGGAGTGAGTGTCTACCAGCAGCGCCAGACGGGATTGCGGGCTTCCCCC | |
| | | 401 | 450 |
| EBOV-B no-opt | (401) | GCTGCCGTTATGTGCACAAGGTTTCTGGAACAGGGCCGTGCCCTGAAGGT | |
| EBOV-Z no-opt | (401) | GGTCCCGTATGTGCACAAGTATCAGGAACGGGACCGTGTGCCGGAGAC | |
| | | 451 | 500 |
| EBOV-B no-opt | (451) | TACGCTTCCACAAGAAGGCGCTTCTTCTGTATGATCGACTGGCATC | |
| EBOV-Z no-opt | (451) | TTTGCTTCCATAAAGAGGGTGTCTTCTTCCFGTATGATCGACTTGCTTC | |
| | | 501 | 550 |
| EBOV-B no-opt | (501) | AACAATCATCTATCGAAGCACCAGTTTTTCAGAAGGTGTGTGGCTTCT | |
| EBOV-Z no-opt | (501) | CACAGTTATCTACCAGGGAACGACTTTCGCTGAAGGTGTCGTTGCATTC | |
| | | 551 | 600 |
| EBOV-B no-opt | (551) | TGATCCTCCCCGAACTAAAAAGGACTTTTTCCAATCGCCACCACTACAT | |
| EBOV-Z no-opt | (551) | TGATACTGCCCAAGCTAAGAAGGACTTCTTCAGCTCACACCCCTTGAGA | |
| | | 601 | 650 |
| EBOV-B no-opt | (601) | GAACCGCCAATATGACAACAGACCCATCCAGCTACTACCACACAGTCAC | |
| EBOV-Z no-opt | (601) | GAGCCGGTCAATGCAACGGAGGACCCGTCTAGTGGCTACTATTCTACCAC | |
| | | 651 | 700 |
| EBOV-B no-opt | (651) | ACTTAATTATGTGGCTGACAATTTGGGACCAATATGACTAACTTTCTGT | |
| EBOV-Z no-opt | (651) | AATTAGATATCAGGCTACCGGTTTTGGAACCAATGAGACAGAGTACTTGT | |
| | | 701 | 750 |
| EBOV-B no-opt | (701) | TTCAAGTGGATCATCTAACTTATGTGCAACTGAACCAAGATTACACCA | |
| EBOV-Z no-opt | (701) | TCGAGGTTGACAAATTTGACCTACGTCCAACCTGAATCAAGATTACACCA | |
| | | 751 | 800 |
| EBOV-B no-opt | (751) | CAATTTCTGTCCAACCTCAATGAGACCATTTATACTAATGGGCGTCGCAG | |
| EBOV-Z no-opt | (751) | CAGTTTCTGCTCCAGCTGAATGAGACAAATATATACAAGTGGGAAAAGGAG | |
| | | 801 | 850 |
| EBOV-B no-opt | (801) | CAACACCACAGGAACACTAATTTGGAAAGTAAATCCTACTGTTGACACCG | |
| EBOV-Z no-opt | (801) | CAATACCACGGGAAAACCTAATTTGGAAGGTCAACCCGAAATTGATACAA | |
| | | 851 | 900 |
| EBOV-B no-opt | (851) | GCGTAGGTGAATGGGCCTTCTGGGAAAATAAGAAGAACTTCACAAAAACC | |
| EBOV-Z no-opt | (851) | CAATCGGGAGTGGGCCTTCTGGGAAACTAAAAAAACCTCACTAGAAAA | |

Figura 9A (continúa)

ES 2 618 103 T3

| | | | | |
|--------|--------|--------|---|------|
| | | 901 | | 950 |
| EBOV-B | no-opt | (901) | CTTTC AAGTGAAGAGCTGTCTGTCATATTTGTACCAAGAGCCCAGGATCC | |
| EBOV-Z | no-opt | (901) | ATTCGCAGTGAAGAGTTGTCTTTCACAGTTGTATCAAACGGAGCCAAAAA | |
| | | | 951 | 1000 |
| EBOV-B | no-opt | (951) | AGGCAGCAACCAGAAGACGAAGGTCACTCCCACCAGCTTCGCCAACCAACC | |
| EBOV-Z | no-opt | (951) | CATCAGTGGTCAGAGTCCGGCGCAACTTCTCCGACCCAGGGACCAACA | |
| | | | 1001 | 1050 |
| EBOV-B | no-opt | (1001) | AAACCTCCAAGAACCACGAAGACTTGGTTCCAGAGGATCCCCTTCAGTG | |
| EBOV-Z | no-opt | (1001) | CAACAACCTGAAGACCACAAAATCATGGCTTCAGAAAATTCCTCTGCAATG | |
| | | | 1051 | 1100 |
| EBOV-B | no-opt | (1051) | GTTCAAGTGCAGAGCTCCAGAGGGAAAACACAGTCCCGACCCCAACCC | |
| EBOV-Z | no-opt | (1051) | GTTCAAGTGCACAGTCAAGGAAGGGAAAGCTGCAGTGTGCGATCTAACAA | |
| | | | 1101 | 1150 |
| EBOV-B | no-opt | (1101) | AGACACAGTCCCCACAACCTCTGATCCCCGACACAATGGAGGAACAAACCA | |
| EBOV-Z | no-opt | (1101) | CCTTGCCACAATCTCCAGAGTCCCCAATCCCTCACAAACCAACCAGGTC | |
| | | | 1151 | 1200 |
| EBOV-B | no-opt | (1151) | CCAGCCACTACGAACCACCAACATTTCCAGAAACCATCAAGAGAGGAAC | |
| EBOV-Z | no-opt | (1151) | CGGACAACAGCACCCATAATACACCCGTGTATAAACTTGACATCTCTGAG | |
| | | | 1201 | 1250 |
| EBOV-B | no-opt | (1201) | AACACCGCACACCCCGAACTCTCGCCAACAATCCCCAGACAACACAAAC | |
| EBOV-Z | no-opt | (1201) | GCAACTCAAGTTGAACAACATCACCGCAGAACAGACAACGACAGCACAGC | |
| | | | 1251 | 1300 |
| EBOV-B | no-opt | (1251) | CCCGTCGACACCACCTCAAGACGGTGAGCGGACAAGTCCCACACAAACAC | |
| EBOV-Z | no-opt | (1251) | CTCCGACACTCCCTCTGCCACGACCGCAGCCGGACCCCAAAAGCAGAGA | |
| | | | 1301 | 1350 |
| EBOV-B | no-opt | (1301) | CCTCCCCCGCCAGTCCCAACCAGCACAAATCCATCCCACCACACGAGAG | |
| EBOV-Z | no-opt | (1301) | ACACCAACACGAGCAAGAGCACTGACTTCTGGACCCCGCCACCACACA | |
| | | | 1351 | 1400 |
| EBOV-B | no-opt | (1351) | ACTCACATTTCCACCACAATGACAACAAGCCATGACACCGACAGCAATCG | |
| EBOV-Z | no-opt | (1351) | AGTCCCCAAAACCACAGCGAGACCGCTGGCAACAACAACACTCATCACA | |
| | | | 1401 | 1450 |
| EBOV-B | no-opt | (1401) | ACCCAACCCAATTGACATCAGCGAGTCTACAGAGCCAGGACCACTACCA | |
| EBOV-Z | no-opt | (1401) | AGATACCGGAGAAGAGAGTCCAGCAGCGGGAAGCTAGGCTTAATTACCA | |
| | | | 1451 | 1500 |
| EBOV-B | no-opt | (1451) | ACACCACAAGAGGGGCTGCAATCTGCTGACAGGCTCAAGAAGAACCCGA | |
| EBOV-Z | no-opt | (1451) | ATACTATTGCTGGAGTCCGAGGACTGATCACAGCGGGGAGAAGAACTCGA | |
| | | | 1501 | 1550 |
| EBOV-B | no-opt | (1501) | AGGGAAATCACCTGAGAACAAGCCAAATGCAACCCAAACCTTACACTA | |
| EBOV-Z | no-opt | (1501) | AGAGAAGCAATTGTCAATGCTCAACCCAAATGCAACCCTAATTTACATTA | |
| | | | 1551 | 1600 |
| EBOV-B | no-opt | (1551) | TTGGACAACCCAAGATGAAGGGGCTGCCATTGGTTTAGCCTGGATACCTT | |
| EBOV-Z | no-opt | (1551) | CTGGACTACTCAGGATGAAGGTGCTGCAATCGGACTGGCCTGGATACCAT | |
| | | | 1601 | 1650 |
| EBOV-B | no-opt | (1601) | ACTTCGGGCCCGCAGCAGAGGGAATTTATACGGAAGGGATAATGCACAAT | |
| EBOV-Z | no-opt | (1601) | ATTTCCGGCCAGCAGCCGAGGGAATTTACATAGAGGGGCTAATGCACAAT | |
| | | | 1651 | 1700 |
| EBOV-B | no-opt | (1651) | CAAAATGGGCTAATTTGCGGGTTGAGGCAGCTAGCAAAATGAGACGACTCA | |
| EBOV-Z | no-opt | (1651) | CAAGATGGTTTAACTGTGGGTTGAGACAGCTGGCCAACGAGACGACTCA | |
| | | | 1701 | 1750 |
| EBOV-B | no-opt | (1701) | AGCCCTACAGTTATTCTTGCGTGCTACCACGGAATTGCGCACTTTCTCTA | |
| EBOV-Z | no-opt | (1701) | AGCTCTTCAACTGTTCTTGAGAGCCACAACCTGAGCTACGCACCTTTTCAA | |
| | | | 1751 | 1800 |
| EBOV-B | no-opt | (1751) | TATTGAATCGAAAAGCCATCGACTTTTTACTCCAAAGATGGGGAGGAACG | |
| EBOV-Z | no-opt | (1751) | TCCTCAACCGTAAGGCAATTGATTTCTTGCTGCAGCGATGGGGCGGCACA | |
| | | | 1801 | 1850 |
| EBOV-B | no-opt | (1801) | TGCCACATCTTAGGCCAGATTGCTGTATTGAGCCCCATGATTGGACTAA | |
| EBOV-Z | no-opt | (1801) | TGCCACATCTGGGACCGACTGCTGTATCGAACCACATGATTGGACCAA | |

Figura 9A (continúa)

ES 2 618 103 T3

| | | | |
|---------------|--------|--|------|
| | | 1851 | 1900 |
| EBOV-B no-opt | (1851) | GAACATTACTGACAAAATAGATCAAATCATTTCATGATTTTCATTGATAAAC | |
| EBOV-Z no-opt | (1851) | GAACATAACAGACAAAATTGATCAGATTATTTCATGATTTTGTGATAAAA | |
| | | 1901 | 1950 |
| EBOV-B no-opt | (1901) | CTCTACCAGATCAAACAGATAATGACAATTGGTGGACAGGGTGGAGGCAA | |
| EBOV-Z no-opt | (1901) | CCCTCCCGACCAGGGGACAAATGACAATTGGTGGACAGGATGGAGACAA | |
| | | 1951 | 2000 |
| EBOV-B no-opt | (1951) | TGGGTTCTGCGGGATCGGGATCACGGGGTAATAATCGCAGTTATAGC | |
| EBOV-Z no-opt | (1951) | TGGATACCGGCAGGTATTGGAGTTACAGGCGTTATAATTGCAGTTATCGC | |
| | | 2001 | 2031 |
| EBOV-B no-opt | (2001) | ACTGCTGTGATTTGCAAATTTCTACTCTAA | |
| EBOV-Z no-opt | (2001) | TTTATTCTGTATATGCAAATTTGTCTTTTAG | |
| | | 1 | 50 |
| EBOV-S no-opt | (1) | ATGGGGGGTCTTAGCCTACTCCAATTGCCAGGGACAAATTTCCGAAAAG | |
| EBOV-Z no-opt | (1) | ATGGGCGTTACAGGAATATTGCAGTTACCTCGTGATCGATTCAAGAGGAC | |
| | | 51 | 100 |
| EBOV-S no-opt | (51) | CTCTTTCTTTGTTGGGTGCATCTCTTATTCCAAAAGGCCTTTTCCATGC | |
| EBOV-Z no-opt | (51) | ATCATTCTTTCTTTGGGTAATTATCCTTTTCCAAAGAACATTTTCCATCC | |
| | | 101 | 150 |
| EBOV-S no-opt | (101) | CTTTGGGTGTTGTGACTAACAGCACTTTAGAAGTAACAGAGATTGACCAG | |
| EBOV-Z no-opt | (101) | CACCTGGAGTCATCCCAATAGCACATTACAGGTTAGTGATGTCGACAAA | |
| | | 151 | 200 |
| EBOV-S no-opt | (151) | CTAGTCTGCAAGGATCATCTTGATCTACTGACCAGCTGAAATCAGTTGG | |
| EBOV-Z no-opt | (151) | CTAGTTTGTGCGTACAACTGTCATCCACAAATCAATTGAGATCAGTTGG | |
| | | 201 | 250 |
| EBOV-S no-opt | (201) | TCTCAACCTCGAGGGGAGCGGAGTATCTACTGATATCCCATCTGCAACAA | |
| EBOV-Z no-opt | (201) | ACTGAATCTCGAAGGAATGGAGTGGCAACTGACGTGCCATCTGCAACTA | |
| | | 251 | 300 |
| EBOV-S no-opt | (251) | AGCGTTGGGGCTTCAGATCTGGTGTTCCTCCCAAGGTGGTCAGCTATGAA | |
| EBOV-Z no-opt | (251) | AAAGATGGGGCTTCAGGTCCGGTGTCCACCAAAGGTGGTCAATTATGAA | |
| | | 301 | 350 |
| EBOV-S no-opt | (301) | GCGGGAGAATGGGCTGAAAATTGCTACAATCTTGAAATAAAGAAGCCGGA | |
| EBOV-Z no-opt | (301) | GCTGGTGAATGGGCTGAAAATGCTACAATCTTGAAATCAAAAACCTGA | |
| | | 351 | 400 |
| EBOV-S no-opt | (351) | CGGGAGCGAATGCTTACCCCCACC GCCAGATGGTGTGAGGGCTTTCCAA | |
| EBOV-Z no-opt | (351) | CGGGAGTGAGTGTCTACCAGCAGCGCCAGACGGGATTCGGGGCTTCCCC | |
| | | 401 | 450 |
| EBOV-S no-opt | (401) | GGTGCCGCTATGTTCCAAAAGCCCAAGGAACCGGGCCCTGCCAGGTGAC | |
| EBOV-Z no-opt | (401) | GGTGCCGCTATGTTCCAAAAGTATCAGGAACGGGACCGTGTCCCGGAGAC | |
| | | 451 | 500 |
| EBOV-S no-opt | (451) | TACGCCTTTCACAAGGATGGAGCTTCTTCTCTATGACAGGCTGGCTTC | |
| EBOV-Z no-opt | (451) | TTTGCCTTCCATAAAGAGGGTGTCTTCTTCTGTATGATCGACTTGCTTC | |
| | | 501 | 550 |
| EBOV-S no-opt | (501) | AACTGTAATTTACAGAGGAGTCAATTTTCTGAGGGGTAATTGCATTCT | |
| EBOV-Z no-opt | (501) | CACAGTTATCTACCGAGGAACGACTTTCGCTGAAGGTGTCGTTGCATTTC | |
| | | 551 | 600 |
| EBOV-S no-opt | (551) | TGATATTGGCTAAACCAAAAGAAACGTTCTTTCAGTACCCCCATTGGA | |
| EBOV-Z no-opt | (551) | TGATACTGCCCAAGCTAAGAAGGACTTCTTTCAGCTCACACCCCTTGAGA | |
| | | 601 | 650 |
| EBOV-S no-opt | (601) | GAGGCAGTAAACTACACTGAAAATACATCAAGTTATTATGCCACATCCTA | |
| EBOV-Z no-opt | (601) | GAGCCGGTCAATGCAACGGAGGACCCGCTAGTGGCTACTATTCTACCAC | |
| | | 651 | 700 |
| EBOV-S no-opt | (651) | CTTGGAGTATGAAATCGAAAATTTGGTGTCTCAACTCCACGACCCTTT | |
| EBOV-Z no-opt | (651) | AATTAGATATCAGGCTACCGTTTTTGAACCAATGAGACAGAGTACTTGT | |
| | | 701 | 750 |
| EBOV-S no-opt | (701) | TCAAAATTGACAATAATACTTTTGTTCGTCTGGACAGGCCCCACACGCCT | |
| EBOV-Z no-opt | (701) | TCGAGGTTGACAATTTGACCTACGTCCAACCTGAATCAAGATTACACCA | |

Figura 9A (continúa)

ES 2 618 103 T3

| | | | |
|--------|--------|--------|--|
| | | 751 | 800 |
| EBOV-S | no-opt | (751) | CAGTTCCTTTTCCAGCTGAATGATACCATTACCTTCACCAACAGTTGAG |
| EBOV-Z | no-opt | (751) | CAGTTTCTGCTCCAGCTGAATGAGACAATATATACAAGTGGGAAAAGGAG |
| | | 801 | 850 |
| EBOV-S | no-opt | (801) | TAATACAACGGGAGACTAATTTGGACACTAGATGCTAATATCAATGCTG |
| EBOV-Z | no-opt | (801) | CAATACCACGGGAAAACATAATTTGGAAAGTCAACCCCGAAATGATACAA |
| | | 851 | 900 |
| EBOV-S | no-opt | (851) | ATATTGGTGAATGGGCTTTTGGGAAAATAAAAAAATCTCTCCGAACAA |
| EBOV-Z | no-opt | (851) | CAATCGGGGAGTGGGCCTTCTGGGAAACTAAAAAAACCTCACTAGAAAA |
| | | 901 | 950 |
| EBOV-S | no-opt | (901) | CTACGTGGAGAGAGCTGTCTTTTCGAAGCTTTATCGCTCAACGAGACAGA |
| EBOV-Z | no-opt | (901) | ATTCGCAGTGAAGAGTTGTCTTTCACAGTTGTATCAAACGGAGCCAAAAA |
| | | 951 | 1000 |
| EBOV-S | no-opt | (951) | AGACGATGATCGGCATCGTCGAGAATTACAAAGGGAAGAATCTCCGACC |
| EBOV-Z | no-opt | (951) | CATCAGTGGTCAGAGTCCGGCGCGAACTTCTTCCGACCCAGGGACCAACA |
| | | 1001 | 1050 |
| EBOV-S | no-opt | (1001) | GGGCCACCAGGAAGTATTCGACCTGGTTCCAAAGAATCCCCCTGGGATG |
| EBOV-Z | no-opt | (1001) | CAACAACCTGAAGACCACAAAATCATGGCTTCAGAAAATTCCTCTGCAATG |
| | | 1051 | 1100 |
| EBOV-S | no-opt | (1051) | GTTCCATTGCACATACCAGAAGGGGAAACAACATTGCCGTCTCAGAATTC |
| EBOV-Z | no-opt | (1051) | GTTCAAGTGCCACAGTCAAGGAAGGGAAGCTGCAGTGTCCGATCTAACAA |
| | | 1101 | 1150 |
| EBOV-S | no-opt | (1101) | GACAGAAGGTCGAAGAGTAGGTGTGAACACTCAGGAGACCATTACAGAGA |
| EBOV-Z | no-opt | (1101) | CCTTGCCACAATCTCCACGAGTCCCAATCCCTCACAAACCAACAGGTC |
| | | 1151 | 1200 |
| EBOV-S | no-opt | (1151) | CAGCTGCAACAATTATAGGCACTAACGGCAACCATATGCAGATCTCCACC |
| EBOV-Z | no-opt | (1151) | CGGACAACAGCACCCATAATACCCCGTGTATAAAGTTGACATCTCTGAG |
| | | 1201 | 1250 |
| EBOV-S | no-opt | (1201) | ATCGGGATAAGACCGAGCTCCAGCCAAATCCCGAGTTCTCACCAGACCAC |
| EBOV-Z | no-opt | (1201) | GCAACTCAAGTTGAACAACATCACCGCAGAACAGACAACGACAGCACAGC |
| | | 1251 | 1300 |
| EBOV-S | no-opt | (1251) | GGCACCAGCCCTGAGGCTCAGACCCCAACCCACACATCAGGTCCAT |
| EBOV-Z | no-opt | (1251) | CTCCGACACTCCCTCTGCCACGACCCGAGCCCGACCCCAAAAGCAGAGA |
| | | 1301 | 1350 |
| EBOV-S | no-opt | (1301) | CAGTGATGGCCACCGAGGAACCAACAACACCACCGGGAAGCTCCCCGGC |
| EBOV-Z | no-opt | (1301) | ACACCAACACGAGCAAGAGCACTGACTTCTGGACCCCGCCACCACAACA |
| | | 1351 | 1400 |
| EBOV-S | no-opt | (1351) | CCAACAACAGAGCACCCTCTCACCACCCAGAAAATATAACAACAGC |
| EBOV-Z | no-opt | (1351) | AGTCCCAAAACCACAGCGAGACCGCTGGCAACAACAACACTCATACCA |
| | | 1401 | 1450 |
| EBOV-S | no-opt | (1401) | GGTTAAAAGTGTCTCTGCCACAGGAGTCCACAAGCAACGGTCTAATAACTT |
| EBOV-Z | no-opt | (1401) | AGATACCGGAGAGAGAGTGCCAGCAGCGGGAAGCTAGGCTTAATTACCA |
| | | 1451 | 1500 |
| EBOV-S | no-opt | (1451) | CAACAGTAACAGGGATTCTTGGGAGTCTTGGGCTTCGAAAACGCAGCAGA |
| EBOV-Z | no-opt | (1451) | ATACTATTGCTGGAGTCGCAGGACTGATCACAGGCGGGAGAAGAACTCGA |
| | | 1501 | 1550 |
| EBOV-S | no-opt | (1501) | AGACAACTAACCCAAAGCCACGGGTAAGTGCAATCCCAACTTACACTA |
| EBOV-Z | no-opt | (1501) | AGAGAAGCAATTGTCAATGCTCAACCCAAATGCAACCCTAATTTACATTA |
| | | 1551 | 1600 |
| EBOV-S | no-opt | (1551) | CTGGACTGCACAAGAACAACATAATGCTGCTGGGATTGCTTGGATCCCGT |
| EBOV-Z | no-opt | (1551) | CTGGACTACTCAGGATGAAGGTGCTGCAATCGGACTGGCCTGGATACCAT |
| | | 1601 | 1650 |
| EBOV-S | no-opt | (1601) | ACTTTGGACCGGTTGCGGAAGGCATATACACTGAAGGCTGATGCATAAC |
| EBOV-Z | no-opt | (1601) | ATTTCCGGCCAGCAGCCGAGGAATTTACATAGAGGGGCTAATGCACAAT |
| | | 1651 | 1700 |
| EBOV-S | no-opt | (1651) | CAAAATGCCTTAGTCTGTGGACTTAGGCAACTTGCAAAATGAAACAACCTCA |
| EBOV-Z | no-opt | (1651) | CAAGATGGTTTAACTGTGGGTTGAGACAGCTGGCCAACGAGACGACTCA |
| | | 1701 | 1750 |
| EBOV-S | no-opt | (1701) | AGCTCTGCAGCTTTTCTTAAGAGCCACAACGGAGCTGCGGCATATACCA |
| EBOV-Z | no-opt | (1701) | AGCTCTCAACTGTTCTGAGAGCCACAACCTGAGCTACGCACCTTTTCAA |

Figura 9A (continúa)

| | | | | |
|--------|--------|--------|--|------|
| | | 1751 | | 1800 |
| EBOV-S | no-opt | (1751) | TACTCAATAGGAAGGCCATAGATTTCTTCTGCGACGATGGGGCGGGACA | |
| EBOV-Z | no-opt | (1751) | TCCTCAACCGTAAGGCAATTGATTTCTTGCTGCAGCGATGGGGCGGGACA | |
| | | | 1801 | 1850 |
| EBOV-S | no-opt | (1801) | TGCAGGATCCTGGGACCAGATTGTTGCATTGAGCCACATGATTGGACAAA | |
| EBOV-Z | no-opt | (1801) | TGCCACATTCTGGGACCGGACTGCTGTATCGAACCACATGATTGGACCAA | |
| | | | 1851 | 1900 |
| EBOV-S | no-opt | (1851) | AAACATCACTGATAAAATCAACCAATCATCCATGATTCATCGACAACC | |
| EBOV-Z | no-opt | (1851) | GAACATAACAGACAAAATTGATCAGATTATTCATGATTTTGTGATAAAA | |
| | | | 1901 | 1950 |
| EBOV-S | no-opt | (1901) | CCTTACCTAATCAGGATAATGATGATAATTGGTGGACGGGCTGGAGACAG | |
| EBOV-Z | no-opt | (1901) | CCCTCCGGACCAGGGGACAATGACAATTGGTGGACAGGATGGAGACAA | |
| | | | 1951 | 2000 |
| EBOV-S | no-opt | (1951) | TGGATCCCTGCAGGAATAGGCATTACTGGAATTATTATTGCAATTATTGC | |
| EBOV-Z | no-opt | (1951) | TGGATACCGGCAGGTATTGGAGTTACAGGCGTTATAATTGCAGTTATCGC | |
| | | | 2001 | 2031 |
| EBOV-S | no-opt | (2001) | TCTTCTTTGCGTTTGCAAGCTGCTTGCTGA | |
| EBOV-Z | no-opt | (2001) | TTTATTCTGTATATGCAAATTTGTCTTTAG | |

Figura 9A (continúa)

ES 2 618 103 T3

| | | | |
|------------|--------|---|------|
| | | 1 | 50 |
| EBOV-B opt | (1) | ATGGTCACATCTGGAATTCTCCAGCTCCCTAGGGAACGGTCCGGAAAAC | |
| EBOV-S opt | (1) | ATGGGCGCCTGAGCCTGCTGCAGCTGCCCGGACAAAGTCCGGAAAGTC | |
| | | 51 | 100 |
| EBOV-B opt | (51) | CAGTTTCTTTGTCTGGGTCATCATCCTCTCCATAAGGTGTTCCCTATCC | |
| EBOV-S opt | (51) | CAGCTTCTTCGTGTGGGTGATCATCCTGTTCCAGAAAGCCTTCAGCATGC | |
| | | 101 | 150 |
| EBOV-B opt | (101) | CCCTGGGGTCTGTCATAACAATACATTGCAAGTGTGAGATATCGATAAG | |
| EBOV-S opt | (101) | CCCTGGGCGTGGTGACCAACAGCACCCCTGGAAGTGACCGAGATCGACCAG | |
| | | 151 | 200 |
| EBOV-B opt | (151) | TTGGTGTGTCGGATAAACTGTCATCTACCTCTCAGCTGAAAAGCGTCGG | |
| EBOV-S opt | (151) | CTGGTGTGCAAGGACCACCTGGCCAGCACCGATCAGCTGAAGTCCGTGGG | |
| | | 201 | 250 |
| EBOV-B opt | (201) | CCTCAACCTCGAAGGGAATGGTGTGCGCACTGATGTCCCTACTGCCACAA | |
| EBOV-S opt | (201) | CCTGAACCTGGAAGGCAGCGGCGTGAGCACCGACATCCCCAGCGCCACCA | |
| | | 251 | 300 |
| EBOV-B opt | (251) | AACGATGGGGTTCCGGGCTGGTGTCCCCCAAAGTGGTCAACTATGAA | |
| EBOV-S opt | (251) | AGAGATGGGGCTTCAGATCCGGCGTGCCCCCAAGGTGGTGTCTTATGAG | |
| | | 301 | 350 |
| EBOV-B opt | (301) | GCTGGCGAATGGGCAGAGAATTGCTATAATCTGGACATTAAGGAGCCGA | |
| EBOV-S opt | (301) | GCCGGCAGTGGGCCGAGAAGTCTACAACTGGAAATCAAGAAGCCCGA | |
| | | 351 | 400 |
| EBOV-B opt | (351) | TGGCTCCGAGTGTCTCCCTGAAGTCTCTGAGGGCGTGGGGGATTTCCAA | |
| EBOV-S opt | (351) | CGGCAGCGAGTGTCTGCCTCCCCCTCCCGATGGCGTGAGAGGCTTCCCC | |
| | | 401 | 450 |
| EBOV-B opt | (401) | GATGTCGCTACGTCCATAAAGTGTCTGGCACCGGCCCTTGCCTGAAGGA | |
| EBOV-S opt | (401) | GGTGCAGATACGTGCACAAGGCACAAGGCACCGGTCCATGCCAGGCGAC | |
| | | 451 | 500 |
| EBOV-B opt | (451) | TACGCCTTTCATAAAGAAGGGCCTTTTTCTCTATGATCGCCTGGCTTC | |
| EBOV-S opt | (451) | TACGCCTTCCACAAGGACGGCGCCTTTTTCTGTACGACCGGCTGGCCTC | |
| | | 501 | 550 |
| EBOV-B opt | (501) | CACAATTATCTATCGCTCTACTACCTTTTCCGAGGGGGTGGTCCGCTTTTC | |
| EBOV-S opt | (501) | CACCGTGATCTACCGGGCGTGAACCTTTGCCGAGGGCGTGATCGCCTTCC | |
| | | 551 | 600 |
| EBOV-B opt | (551) | TCATCCTCCCCGAGACAAAGAAAGATTTCTTTTCAGAGTCCCCCCTGCAT | |
| EBOV-S opt | (551) | TGATCCTGGCCAAGCCCAAGAGACATTCTGCAGAGCCCCCCTATCCGG | |
| | | 601 | 650 |
| EBOV-B opt | (601) | GAGCCTGCCAATATGACTACCGATCCCTTCTTACTATCATAACCGTGAC | |
| EBOV-S opt | (601) | GAGGCCGTGAACACACCGAGAACACCAGCAGCTACTACGCCACCTCCTA | |
| | | 651 | 700 |
| EBOV-B opt | (651) | ACTCAATTATGTCGCTGATAACTTCGGCACTAACATGACCAACTTTCTGT | |
| EBOV-S opt | (651) | CCTGGAATACGAGATCGAGAACTTCGGCGCCAGCACAGCACCCACCTGT | |
| | | 701 | 750 |
| EBOV-B opt | (701) | TCCAGGTCGACCACCTGACATATGTCCAGCTCGAGCCTCGCTTTACCCCA | |
| EBOV-S opt | (701) | TCAAGATCGACAACAACACCTTCGTGCGGCTGGACAGACCCACACCCCC | |
| | | 751 | 800 |
| EBOV-B opt | (751) | CAGTTCTTGGTCCAGCTCAATGAAACTATCTATACTAACGGACGGCGCTC | |
| EBOV-S opt | (751) | CAGTTTCTGTTCAGCTGAACGACACCATCCATCTGCATCAGCAGCTGTC | |
| | | 801 | 850 |
| EBOV-B opt | (801) | TAATACCACCGGACCCTCATTTGGAAAGTCAATCCCACTGTCGATACCG | |
| EBOV-S opt | (801) | CAACACCACCGGACAGACTGATCTGGACCCTGGACGCCAACATCAACGCCG | |
| | | 851 | 900 |
| EBOV-B opt | (851) | GCGTCGGAGAGTGGGCCTTTTGGGAAAACAAGAAGAACTTTACCAAGACC | |
| EBOV-S opt | (851) | ACATCGGTGAATGGGCTTTTGGGAGAACAGAAGAATCTGAGCAGCAG | |
| | | 901 | 950 |
| EBOV-B opt | (901) | CTGAGTAGCGAGGAACCTCTGTGATCTTTGTGCCTCGCGCTCAGGATCC | |
| EBOV-S opt | (901) | CTGCGGGCGAAGAAGTCACTTCGAGGCCCTGAGCCTGAACGAGACAGA | |
| | | 951 | 1000 |
| EBOV-B opt | (951) | TGGATCCAACCAGAAAACCAAAGTGACACCTACATCTTTTGCCAACACC | |
| EBOV-S opt | (951) | GGACGACGACGCCGCCAGCAGCCGGATCACCAGGGCCGGATCAGCGACC | |
| | | 1001 | 1050 |
| EBOV-B opt | (1001) | AGACAAGCAAGAACCATGAGGACCTCGTCCCCAAGATCCTGCCTCTGTG | |
| EBOV-S opt | (1001) | GGGCCACCAGAAAGTACAGCGACCTGGTGCCCAAGAAGCAGCCCCGGCATG | |

Figura 9B

ES 2 618 103 T3

| | | | | |
|------------|--------|--|--|------|
| | | 1051 | | 1100 |
| EBOV-B opt | (1051) | GTCCAGGTCCGGGACCTCCAGCGCGAAAATACCGTGCCTACTCCCCCCCC | | |
| EBOV-S opt | (1051) | GTGCCTCTGCACATCCCCGAGGGCGAGACAACCTCCCTAGTCAGAATAG | | |
| | | 1101 | | 1150 |
| EBOV-B opt | (1101) | TGATACCGTCCCTACTACCCTCATTCCCGATACAATGGAAGAACAGACCA | | |
| EBOV-S opt | (1101) | CACCGAGGGCAGACCGGTGGGCGTGAACACCCAGGAAACCATCACCGAGA | | |
| | | 1151 | | 1200 |
| EBOV-B opt | (1151) | CCTCTCATTACGAGCCACCTAACATCTCCAGAAAATCACCAGGAACGAAAT | | |
| EBOV-S opt | (1151) | CAGCCGCCACCATCATTGGTACTAACGGCAACCACATGCAGATCAGCACC | | |
| | | 1201 | | 1250 |
| EBOV-B opt | (1201) | AACACCGCTCATCCCAGACTCTGGCTAATAACCCCCCGACAATACTAC | | |
| EBOV-S opt | (1201) | ATCGGCATCCGGCCAGCAGCAGCCAGATCCCAAGTAGTAGTCCCTACCAC | | |
| | | 1251 | | 1300 |
| EBOV-B opt | (1251) | CCCTAGTACCCCCCTCAGGACGGGGAGAGAACCAGTTCCCATACTACAC | | |
| EBOV-S opt | (1251) | AGCCCTAGCCCTGAGGCCAGACCCCTACCACACACACCAGCGGCCCTA | | |
| | | 1301 | | 1350 |
| EBOV-B opt | (1301) | CCTCCCCAAGACCCGTCCCTACATCTACCATTTCATCCACCACCCGGGAG | | |
| EBOV-S opt | (1301) | GCGTGATGGCCACCGAGGAACCTACCACCCCTCCTGGCAGCAGCCAGGT | | |
| | | 1351 | | 1400 |
| EBOV-B opt | (1351) | ACACACATTCTACCACATGACCACATCCCATGACACCGATTCCATTCG | | |
| EBOV-S opt | (1351) | CCAACTACCGAGGCCAACCCCTGACCACCCCGAGAACATCACCACCGC | | |
| | | 1401 | | 1450 |
| EBOV-B opt | (1401) | CCCTAACCCCATCGATATCAGCGAATCTACCGAGCCCGGACCCCTCACAA | | |
| EBOV-S opt | (1401) | CGTGA AACCGTGCTGCCCCAGGAAAGCACCAGCAACGGCCTGATCACCA | | |
| | | 1451 | | 1500 |
| EBOV-B opt | (1451) | ATACAACCCCGGGAGCCGCTAATCTGCTGACTGGCTCCCGGGCGACTCGA | | |
| EBOV-S opt | (1451) | GCACCGTGACCGGCATCCTGGGCAGCCTGGGCCTGCGGAAGCGGAGAGA | | |
| | | 1501 | | 1550 |
| EBOV-B opt | (1501) | AGAGAAATCACCCCTGCGAACACAGGCCAAGTGTAAACCCAAACCTCCATTA | | |
| EBOV-S opt | (1501) | CGGCAGACCAACACCAAGGCCACCGGCAAGTGTAAACCCAAACCTGCACTA | | |
| | | 1551 | | 1600 |
| EBOV-B opt | (1551) | TTGGACAACCCAGGATGAAGGGCCGCTATTGGCCTCGCTTGGATCCCTT | | |
| EBOV-S opt | (1551) | CTGGACCGCCAGGAACAGCACAACCGCCCTGGGATCGCCTGGATCCCTT | | |
| | | 1601 | | 1650 |
| EBOV-B opt | (1601) | ATTTGGGCTGCAGCCGAGGGGATCTATACCGAAGGTATAATGCATAAT | | |
| EBOV-S opt | (1601) | ACTTTGGTCTGCTGCTGAGGGAATATACCCGAGGGCCTGATGCACAAC | | |
| | | 1651 | | 1700 |
| EBOV-B opt | (1651) | CAGAACGGGCTGATTGCGGGCTGCGCCAGCTCGCCAACGAGACTACCCA | | |
| EBOV-S opt | (1651) | CAGAACGCCCTGGTGTGCGGCCCTGAGACAGCTGGCCAACGAAACCACTCA | | |
| | | 1701 | | 1750 |
| EBOV-B opt | (1701) | GGCCTCCAGCTCTTTCTCCGGGCTACTACCGAACTGCGAACCTTTTCCA | | |
| EBOV-S opt | (1701) | GGCACTGCAGCTGTTCCTGCGGGCCACCACCGAGCTGCGGACCTACACCA | | |
| | | 1751 | | 1800 |
| EBOV-B opt | (1751) | TTCTCAATAGGAAAGCTATCGATTTCTTGCTCCAGCGCTGGGGGGGACC | | |
| EBOV-S opt | (1751) | TCCTGAACAGGAAGGCCATCGACTTTCTGCTGCGGAGATGGGGCGGCACC | | |
| | | 1801 | | 1850 |
| EBOV-B opt | (1801) | TGTCATATCCTCGGACCCGATTGCTGTATTGAGCCACATGATTGGACTAA | | |
| EBOV-S opt | (1801) | TGTAGAATCCTGGGCCCGACTGCTGCATCGAGCCACGACTGGACCAA | | |
| | | 1851 | | 1900 |
| EBOV-B opt | (1851) | AAACATCACTGACAAAATTGATCAGATCATTCATGATTTTCATTGATAAAC | | |
| EBOV-S opt | (1851) | GAATATCACCGACAAGATCAACCAGATCATCCACGACTTCATCGACAACC | | |
| | | 1901 | | 1950 |
| EBOV-B opt | (1901) | CCCTCCCCGATCAGACTGATAATGACAATTGGTGGACGGGATGGCGCCAG | | |
| EBOV-S opt | (1901) | CCCTGCCCAACCAGGACAACGACGACAACCTGGTGGACTGGTGGCGACAG | | |
| | | 1951 | | 2000 |
| EBOV-B opt | (1951) | TGGGTGCCCGCTGGGATTGGCATTACAGGTGTCAATATTGCCGTGATTGC | | |
| EBOV-S opt | (1951) | TGGATCCCTGCCGGCATCGGCATCACCGGCATCATCATTGCCATTATCGC | | |
| | | 2001 | | 2031 |
| EBOV-B opt | (2001) | ACTCCTGTGTATCTGTAAATTTCTGCTGTGA | | |
| EBOV-S opt | (2001) | TCTCCTCTGCGTGTGCAAGCTCCTCTGCTGA | | |

Figura 9B (continúa)

ES 2 618 103 T3

| | | 1 | 50 |
|------------|-------|---|------|
| EBOV-B opt | (1) | ATGGTCACATCTGGAATTCTCCAGCTCCCTAGGGAAACGGTTCCGGAAAAC | |
| EBOV-Z opt | (1) | ATGGGCGTGACAGGCATTCTGCAGCTCCCCAGAGACAGATTCAAGCGGAC | |
| | | 51 | 100 |
| EBOV-B opt | (51) | CAGTTTCTTTGTCTGGGTCATCATCCTCTTCCATAAGGTGTTCCCTATCC | |
| EBOV-Z opt | (51) | CTCCTTTTTCTCTGGGTCATCATCTGTTCAGCGGACCTTCTCCATCC | |
| | | 101 | 150 |
| EBOV-B opt | (101) | CCCTGGGGTTCGTCCATAACAATACATTGCAAGTGTGAGATATCGATAAG | |
| EBOV-Z opt | (101) | CTCTGGGCGTGATCCACAATAGCACCCCTCCAGGTGTCCGACGTGGACAAG | |
| | | 151 | 200 |
| EBOV-B opt | (151) | TTGGTGTGTGCGGATAAACTGTCTACCTCTCAGCTGAAAAGCGTCCG | |
| EBOV-Z opt | (151) | CTCGTGTGCCGGACAAGCTGTCTCCACCAACCAGCTGAGAAGCGTGGG | |
| | | 201 | 250 |
| EBOV-B opt | (201) | CCTCAACCTCGAAGGGAAATGGTGTGCCACTGATGTCCCTACTGCCACAA | |
| EBOV-Z opt | (201) | GCTGAATCTCGAGGGCAATGGCGTGGCCACAGACGTGCCCTCCGCCACAA | |
| | | 251 | 300 |
| EBOV-B opt | (251) | AACGATGGGGTTTCCGGGCTGGTGTCCCCCAAAGTGGTCAACTATGAA | |
| EBOV-Z opt | (251) | AGCGCTGGGGCTTTCGGAGCGGCTCCCTCTAAAGTCGTGAACACTACGAG | |
| | | 301 | 350 |
| EBOV-B opt | (301) | GCTGGCGAATGGGCAGAGAATTGCTATAATCTGGACATTA AAAAGGCCGA | |
| EBOV-Z opt | (301) | GCAGGGGAATGGGCTGAAAATTGTTACAATCTCGAGATCAAAAACCAGA | |
| | | 351 | 400 |
| EBOV-B opt | (351) | TGGCTCCGAGTGTCTCCCTGAAGCTCCTGAGGGCGTCCGGGGATTCCCAA | |
| EBOV-Z opt | (351) | TGGCTCTGAGTGCCTGCCCTGCCGACCAGACGGCATCAGGGGCTTCCCTA | |
| | | 401 | 450 |
| EBOV-B opt | (401) | GATGTCGCTACGTCCATAAAGTGTCTGGCACCGGCCCTTCCCTGAAGGA | |
| EBOV-Z opt | (401) | GATGCCGCTATGTGCACAAGGTGAGTGGTACAGGCCCTTGTGCCGGCGAT | |
| | | 451 | 500 |
| EBOV-B opt | (451) | TACGCCCTTTCATAAAGAAGGGGCCTTTTTCTCTATGATCGCTGGCTTC | |
| EBOV-Z opt | (451) | TTTGCCTTTCACAAAGAGGGGGCTTCTTTCTGTACGACAGGCTCGCCAG | |
| | | 501 | 550 |
| EBOV-B opt | (501) | CACAATTATCTATCGCTCTACTACCTTTTCCGAGGGGTGGTTCGCTTTTC | |
| EBOV-Z opt | (501) | TACAGTGATATACCGAGGTACTACCTTCGCCGAAGGCGTGGTGGCCTTTC | |
| | | 551 | 600 |
| EBOV-B opt | (551) | TCATCCTCCCCGAGACAAAGAAAGATTTCTTTCAGAGTCCCCCCTGCAT | |
| EBOV-Z opt | (551) | TGATTCGCCCCAGGCCAAGAAGGACTTCTTCAGCAGCCACCCCTGAGA | |
| | | 601 | 650 |
| EBOV-B opt | (601) | GAGCCTGCCAATATGACTACCGATCCTTCTCTTACTATCATAACCGTGAC | |
| EBOV-Z opt | (601) | GAACCCGTGAACGCCACAGAGACCCAGCAGCGGCTACTACAGCACCAC | |
| | | 651 | 700 |
| EBOV-B opt | (651) | ACTCAATTATGTCGCTGATAACTTCGGCACTAACATGACCAACTTCTGT | |
| EBOV-Z opt | (651) | AATCAGATACCGGCCACAGGCTTCGGCACCAATGAGACAGAGTACCTGT | |
| | | 701 | 750 |
| EBOV-B opt | (701) | TCCAGGTCGACCACCTGACATATGTCCAGCTCGAGCCTCGCTTTACCCCA | |
| EBOV-Z opt | (701) | TCCAGGTGGACAACCTGACCTACGTGCAGCTGGAAAGCCGGTTTACCCCT | |
| | | 751 | 800 |
| EBOV-B opt | (751) | CAGTTCTTGGTCCAGCTCAATGAAACTATCTATACTAACGGACGGCGCTC | |
| EBOV-Z opt | (751) | CAGTTCTTCTGCGAGCTCAACGAGACAATCTACACCTCCGGCAAGCGGAG | |
| | | 801 | 850 |
| EBOV-B opt | (801) | TAATACCACCGGACCCCTCATTTGGAAAGTCAATCCCCTGTGATAACCG | |
| EBOV-Z opt | (801) | CAACACAACAGGCAAGCTCATCTGGAAAGTGAACCCCGAGATCGATACCA | |
| | | 851 | 900 |
| EBOV-B opt | (851) | GCGTCGGAGAGTGGGCCTTTTGGGAAAACAAGAAGAACTTTACCAAGACC | |
| EBOV-Z opt | (851) | CTATAGGGGAGTGGGCTTCTGGGAAACTAAGAAGAACCCTCACCCGGAAG | |
| | | 901 | 950 |
| EBOV-B opt | (901) | CTGAGTAGCGAGGAACCTCTGTGATCTTTGTGCTCGCGCTCAGGATCC | |
| EBOV-Z opt | (901) | ATCAGATCCGAGGAACCTGTCTTACCCTGGTGTCCAACCGCGCCAAGAA | |
| | | 951 | 1000 |
| EBOV-B opt | (951) | TGGATCCAACCAGAAAACCAAGTGACACCTACATCTTTTGCCAACAACC | |
| EBOV-Z opt | (951) | CATTTCAGGACAGAGCCCCGCCAGAACAGCAGCGACCCCGCCACCAACA | |

Figura 9B (continúa)

ES 2 618 103 T3

| | | | | |
|------------|--------|---|--|------|
| | | 1001 | | 1050 |
| EBOV-B opt | (1001) | AGACAAGCAAGAACCATGAGGACCTCGTCCCCGAAGATCCTGCCTCTGTG | | |
| EBOV-Z opt | (1001) | CCACAACCGAGGACCACAGATCATGGCCAGCGAGAATCCAGCGCCATG | | |
| | | 1051 | | 1100 |
| EBOV-B opt | (1051) | GTCCAGGTCCGGGACCTCCAGCGGAAAATACCGTGCCTACTCCCCCCC | | |
| EBOV-Z opt | (1051) | GTGCAGGTCCACAGCCAGGGAAGAGAAGCCGCGTGAGCCACCTGACCAC | | |
| | | 1101 | | 1150 |
| EBOV-B opt | (1101) | TGATACCGTCCCTACTACCCTCATTCGCCGATACAATGGAAGAACAGACCA | | |
| EBOV-Z opt | (1101) | ACTGGCCACCATCAGCACCAGCCCCAGAGCCTGACCACCAAGCCTGGCC | | |
| | | 1151 | | 1200 |
| EBOV-B opt | (1151) | CCTCTCATTACGAGCCACCTAACATCTCCAGAAATCACCAGGAACGAAAT | | |
| EBOV-Z opt | (1151) | CCGACAACAGCACACACAACCCCCGTGTACAAGCTGGACATCAGCGAG | | |
| | | 1201 | | 1250 |
| EBOV-B opt | (1201) | AACACCGCTCATCCCGAGACTCTGGCTAATAACCCCCCGACAATACTAC | | |
| EBOV-Z opt | (1201) | GCCACCCAGGTGGAGCAGCACCACAGACGGACCGACAACGACAGCACCGC | | |
| | | 1251 | | 1300 |
| EBOV-B opt | (1251) | CCCTAGTACCCCCCTCAGGACGGGGAGAGAACCAGTTCCCATACTACAC | | |
| EBOV-Z opt | (1251) | CAGCGATACCCCTTCTGCCACCACAGCCGCGGACCCCTAAGGCCGAGA | | |
| | | 1301 | | 1350 |
| EBOV-B opt | (1301) | CCTCCCCAAGACCCGTCCTACATCTACCATTTCATCCCACCACCCGCGAG | | |
| EBOV-Z opt | (1301) | ATACCAACACCAGCAAGAGCACCGACTTCTGGATCCAGCCACCACCACC | | |
| | | 1351 | | 1400 |
| EBOV-B opt | (1351) | ACACACATTTCCTACCCTATGACCACATCCCATGACACCGATTCCAATCG | | |
| EBOV-Z opt | (1351) | AGTCCACGAAACCACAGCGAAACCGCCGCAACAACAATACCCACCACCA | | |
| | | 1401 | | 1450 |
| EBOV-B opt | (1401) | CCCTAACCCCATCGATATCAGCGAATCTACCGAGCCCGGACCCCTCACAA | | |
| EBOV-Z opt | (1401) | GGACACCGCGAGGAAAGCGCCAGCTCTGGCAAGCTGGGCTGATTACCA | | |
| | | 1451 | | 1500 |
| EBOV-B opt | (1451) | ATACACCCCGGGAGCCGCTAATCTGCTGACTGGCTCCCGCGCAGCTCGA | | |
| EBOV-Z opt | (1451) | ACACAATCGCCGGCGTGGCCGACTGATCACCGCGGCAGACGGACCAGA | | |
| | | 1501 | | 1550 |
| EBOV-B opt | (1501) | AGAGAAATCACCCCTGCGAACACAGGCCAAGTGAACCCAAACCTCCATTA | | |
| EBOV-Z opt | (1501) | CGGGAGGCCATCGTGAACGCCAGCCCAAATGTAATCCTAATCTCCACTA | | |
| | | 1551 | | 1600 |
| EBOV-B opt | (1551) | TTGGACAACCCAGGATGAAGGGGCGCTATTTGGCCTCGCTTGATCCCTT | | |
| EBOV-Z opt | (1551) | TTGGACCACACAGGACGAGGGCGCTGCCATCGGACTGGCATGGATTCCCT | | |
| | | 1601 | | 1650 |
| EBOV-B opt | (1601) | ATTTCCGGCCCTGCAGCCGAGGGGATCTATACCGAAGGTATAATGCATAAT | | |
| EBOV-Z opt | (1601) | ACTTCGGACCAGCCGCTGAAGGGATCTATATCGAGGGCTCATGCATAAC | | |
| | | 1651 | | 1700 |
| EBOV-B opt | (1651) | CAGAACGGGCTGATTTGCGGGCTGCGCCAGCTCGCCAACGAGACTACCCA | | |
| EBOV-Z opt | (1651) | CAGGATGGTCTGATTTGGTCTCCGGCAGCTGGCTAATGAGACAACACA | | |
| | | 1701 | | 1750 |
| EBOV-B opt | (1701) | GGCCCTCCAGCTCTTTCTCCGGGCTACTACCGAAGTGCGAACCTTTTCCA | | |
| EBOV-Z opt | (1701) | GGCTCTCCAGCTGTTTCTGAGAGCCACAACAGAGCTGAGAACCTTCAGCA | | |
| | | 1751 | | 1800 |
| EBOV-B opt | (1751) | TTCTCAATAGGAAAGCTATCGATTTCTTGCTCCAGCGCTGGGGGGGAACC | | |
| EBOV-Z opt | (1751) | TTCTCAACCGCAAGGCTATTGACTTCTGCTCCAACGATGGGGAGGCACA | | |
| | | 1801 | | 1850 |
| EBOV-B opt | (1801) | TGTCATATCCTCGGACCCGATTGCTGTATTGAGCCACATGATTGGACTAA | | |
| EBOV-Z opt | (1801) | TGCCACATCCTGGGGCTGATTGTTGTATCGAACCTCACGATTGGACAAA | | |
| | | 1851 | | 1900 |
| EBOV-B opt | (1851) | AAACATCACTGACAAAATTGATCAGATCATTCATGATTTTCATTGATAAAC | | |
| EBOV-Z opt | (1851) | GAACATTACAGATAAGATCGATCAGATTATCCATGACTTTGTGGACAAGA | | |
| | | 1901 | | 1950 |
| EBOV-B opt | (1901) | CCCTCCCCGATCAGACTGATAATGACAATTGGTGGACGGGATGGCGCCAG | | |
| EBOV-Z opt | (1901) | CCCTGCCCGATCAGGGCGACAACGATAATTGGTGGACAGGGTGGAGACAG | | |
| | | 1951 | | 2000 |
| EBOV-B opt | (1951) | TGGGTGCCCGCTGGGATTGGCATTACAGGTGTCATTATTGCCGTGATTGC | | |
| EBOV-Z opt | (1951) | TGGATTCCAGCCGGGATTGGCGTGACCGCGTGATTATCGCCGTGATCGC | | |
| | | 2001 | | 2031 |
| EBOV-B opt | (2001) | ACTCCTGTGTATCTGTAATTTCTGCTGTGA | | |
| EBOV-Z opt | (2001) | CCTGTTCTGCATCTGCAAGTTTCGTGTTCTGA | | |

Figura 9B (continúa)

ES 2 618 103 T3

| | | 1 | 50 |
|------------|-------|---|------|
| EBOV-S opt | (1) | ATGGGCGGCCTGAGCCTGCTGCAGCTGCCCCGGGACAAGTTCGGGAAGTC | |
| EBOV-Z opt | (1) | ATGGGCGTGACAGGCATTCTGCAGCTCCCCAGAGACAGATTCAAGCGGAC | |
| | | 51 | 100 |
| EBOV-S opt | (51) | CAGCTTCTTCGTGTGGGTGATCATCCTGTTCCAGAAAAGCCTTCAGCATGC | |
| EBOV-Z opt | (51) | CTCCTTTTCTCTGGGTCATCATTCTGTTTCAGCGGACCTTCTCCATCC | |
| | | 101 | 150 |
| EBOV-S opt | (101) | CCCTGGGCGTGGTGACCAACAGCACCCCTGGAAGTGACCGAGATCGACCAG | |
| EBOV-Z opt | (101) | CTCTGGGCGTGATCCACAATAGCACCCCTCCAGGTGTCGACGTTGGACAAG | |
| | | 151 | 200 |
| EBOV-S opt | (151) | CTGGTGTGCAAGGACCACCTGGCCAGCACCGATCAGCTGAAGTCCGTGGG | |
| EBOV-Z opt | (151) | CTCGTGTGCCGGGACAAGCTGTCTCCACCAACCAGCTGAGAAGCGTGGG | |
| | | 201 | 250 |
| EBOV-S opt | (201) | CCTGAACCTGGAAGGCAGCGGCGTGAGCACCGACATCCCCAGCGCCACCA | |
| EBOV-Z opt | (201) | GCTGAATCTCGAGGGCAATGGCGTGGCCACAGACGTGCCCTCCGCCACAA | |
| | | 251 | 300 |
| EBOV-S opt | (251) | AGAGATGGGGCTTCAGATCCGGCGTGCCCCCAAGTGGTGTCTTATGAG | |
| EBOV-Z opt | (251) | AGCGCTGGGGCTTTCGGAGCGGCGTCCCTCCTAAAGTCGTGAACACGAG | |
| | | 301 | 350 |
| EBOV-S opt | (301) | GCCGGCGAGTGGGCCGAGAACTGCTACAACTGGAAATCAAGAAGCCCGA | |
| EBOV-Z opt | (301) | GCAGGGGAATGGGCTGAAAATGTTACAATCTCGAGATCAAAAAACCGA | |
| | | 351 | 400 |
| EBOV-S opt | (351) | CGGCAGCGAGTGTCTGCCTCCCCCTCCCGATGGCGTGAGAGGCTTCCCCC | |
| EBOV-Z opt | (351) | TGGCTCTGAGTGCCTGCCTGCCGACCAGACGGCATCAGGGGCTTCCCTA | |
| | | 401 | 450 |
| EBOV-S opt | (401) | GGTGCAGATACGTGCACAAGGCACAAGGCACCGGTCCATGCCAGGGCGAC | |
| EBOV-Z opt | (401) | GATGCCGCTATGTGCACAAGGTGAGTGGTACAGGCCCTTGTGCCGGCGAT | |
| | | 451 | 500 |
| EBOV-S opt | (451) | TACGCCTTCCACAAGGACGGCGCCTTTTTCTGTACGACCGGCTGGCCTC | |
| EBOV-Z opt | (451) | TTTGCCTTTCACAAAGAGGGGGCTTCTTTCTGTACGACAGGCTCGCCAG | |
| | | 501 | 550 |
| EBOV-S opt | (501) | CACCGTGATCTACCGGGGCGTGAACCTTGGCCGAGGGCGTGATCGCCTTCC | |
| EBOV-Z opt | (501) | TACAGTGATATACCGAGGTACTACCTTCGCCGAAGGCGTGGTGGCCTTC | |
| | | 551 | 600 |
| EBOV-S opt | (551) | TGATCCTGGCCAAGCCCAAGAGACATTCCTGCAGAGCCCCCATCCGG | |
| EBOV-Z opt | (551) | TGATTCTGCCCAAGGCCAAGAAGGACTTCTCAGCAGCCACCCCTGAGA | |
| | | 601 | 650 |
| EBOV-S opt | (601) | GAGGCCGTGAACCTACCCGAGAACACCAGCAGCTACTACGCCACCTCCTA | |
| EBOV-Z opt | (601) | GAACCCGTGAACGCCACAGAGGACCCAGCAGCGGCTACTACAGCACCCAC | |
| | | 651 | 700 |
| EBOV-S opt | (651) | CCTGGAATACGAGATCGAGAACTTCGGCGCCAGCACAGCACCCACCTGT | |
| EBOV-Z opt | (651) | AATCAGATACCAGGCCACAGGCTTCGGCACCAATGAGACAGAGTACCTGT | |
| | | 701 | 750 |
| EBOV-S opt | (701) | TCAAGATCGACAACAACACCTTCGTGCGGCTGGACAGACCCACACCCCC | |
| EBOV-Z opt | (701) | TCGAGGTGGACAACCTGACCTACGTGCAGCTGGAAAGCCGGTTTACCCCT | |
| | | 751 | 800 |
| EBOV-S opt | (751) | CAGTTTCTGTTCCAGCTGAACGACACCATCCATCTGCATCAGCAGCTGTC | |
| EBOV-Z opt | (751) | CAGTTCTCTCTGCAGCTCAACGAGACAATCTACACCTCCGGCAAGCGGAG | |
| | | 801 | 850 |
| EBOV-S opt | (801) | CAACACCACCGGAGACTGATCTGGACCCCTGGACGCCAATCAACGCCCG | |
| EBOV-Z opt | (801) | CAACACAACAGGCAAGCTCATCTGGAAAGTGAACCCCGAGATCGATACCA | |
| | | 851 | 900 |
| EBOV-S opt | (851) | ACATCGGTGAATGGGCTTTTTGGGAGAACAAGAAGAATCTGAGCGAGCAG | |
| EBOV-Z opt | (851) | CTATAGGGGAGTGGGCTTCTGGGAAACTAAGAAGAACCTCACCCGGGAG | |
| | | 901 | 950 |
| EBOV-S opt | (901) | CTGCGGGGCGAAGAACTCAGCTTCGAGGCCCTGAGCCTGAACGAGACAGA | |
| EBOV-Z opt | (901) | ATCAGATCCGAGGAACTGTCTTACCCTGGTGTCCAACGGCGCCAAGAA | |
| | | 951 | 1000 |
| EBOV-S opt | (951) | GGACGACGACGCCGCCAGCAGCCGGATCACCAAGGGCCGGATCAGCGACC | |
| EBOV-Z opt | (951) | CATTCAGGACAGAGCCCCGCCAGAACAAAGCAGCGACCCCGGCAACACA | |

Figura 9B (continúa)

ES 2 618 103 T3

| | | | | |
|------------|--------|---|--|------|
| | | 1001 | | 1050 |
| EBOV-S opt | (1001) | GGGCCACCAGAAAGTACAGCGACCTGGTGCCCAAGAACAGCCCCGGCATG | | |
| EBOV-Z opt | (1001) | CCACAACCGAGGACCACAAGATCATGGCCAGCGAGAACTCCAGCGCCATG | | |
| | | 1051 | | 1100 |
| EBOV-S opt | (1051) | GTGCCTCTGCACATCCCCGAGGGCGAGACAACCTCTCCCTAGTCAGAATAG | | |
| EBOV-Z opt | (1051) | GTGCAGGTCCACAGCCAGGGGAGAGAAGCCCGGTGAGCCACCTGACCAC | | |
| | | 1101 | | 1150 |
| EBOV-S opt | (1101) | CACCGAGGGCAGACGCGTGGGCGTGAACACCCAGGAAACCATCACCGAGA | | |
| EBOV-Z opt | (1101) | ACTGGCCACCATCAGCACCAGCCCCCAGAGCCTGACCACCAAGCCTGGCC | | |
| | | 1151 | | 1200 |
| EBOV-S opt | (1151) | CAGCCGCCACCATCATTGGTACTAACGGCAACCACATGCAGATCAGCACC | | |
| EBOV-Z opt | (1151) | CCGACAACAGCACACACAACACCCCGTGTACAAGCTGGACATCAGCGAG | | |
| | | 1201 | | 1250 |
| EBOV-S opt | (1201) | ATCGGCATCCGGCCAGCAGCAGCCAGATCCCAAGTAGTAGTCTTACCAC | | |
| EBOV-Z opt | (1201) | GCCACCCAGGTGGAGCAGCACACAGACGGACCAGACACGACAGCACC | | |
| | | 1251 | | 1300 |
| EBOV-S opt | (1251) | AGCCCCTAGCCCTGAGGCCAGACCCCTACCACACACACCAGCGGCCCTA | | |
| EBOV-Z opt | (1251) | CAGCGATACCCCTTCTGCCACCACAGCCCGCCGGACCCCTAAGGCCGAGA | | |
| | | 1301 | | 1350 |
| EBOV-S opt | (1301) | GCGTGATGGCCACCGAGGAACCTACCACCCCTCCTGGCAGCAGCCAGGT | | |
| EBOV-Z opt | (1301) | ATACCAACACCAGCAAGAGCACCAGACTTCTGGATCCAGCCACCACCACC | | |
| | | 1351 | | 1400 |
| EBOV-S opt | (1351) | CCAACTACCGAGGCACCAACCCCTGACCACCCCGAGAACATCACACC | | |
| EBOV-Z opt | (1351) | AGTCCACAGAACCACAGCGAAACCCGCGCAACAACAATACCCACCACCA | | |
| | | 1401 | | 1450 |
| EBOV-S opt | (1401) | CGTGAAAACCGTGCTGCCCCAGGAAAGCACCAGCAACGGCCTGATCACC | | |
| EBOV-Z opt | (1401) | GGACACCGGCGAGGAAAGCGCCAGCTCTGGCAAGCTGGGCCGTGATTACCA | | |
| | | 1451 | | 1500 |
| EBOV-S opt | (1451) | GCACCGTGACCGGCATCCTGGGCAGCCTGGGCCTGCGGAAGCGGAGCAGA | | |
| EBOV-Z opt | (1451) | ACACAATCGCCGGCTGGCCGGACTGATCACCGGCGGCAGACGGACCAGA | | |
| | | 1501 | | 1550 |
| EBOV-S opt | (1501) | CGGCAGACCAACACCAGGCCACCGGCAAGTGCAACCCCAACCTGCACTA | | |
| EBOV-Z opt | (1501) | CGGGAGGCCATCGTGAACGCCAGCCCAATGTAATCCTAATCTCCACTA | | |
| | | 1551 | | 1600 |
| EBOV-S opt | (1551) | CTGGACCGCCAGGAACAGCACAACGCCGCTGGGATCGCCTGGATCCCT | | |
| EBOV-Z opt | (1551) | TTGGACCACACAGGACGAGGGCGCTGCCATCGGACTGGCATGGATTCTT | | |
| | | 1601 | | 1650 |
| EBOV-S opt | (1601) | ACTTTGGTCTGGTGTGAGGGAAATATACACCGAGGGCCTGATGCACAAC | | |
| EBOV-Z opt | (1601) | ACTTCGGAÇCAGCCGCTGAAGGGATCTATATCGAGGGGCTCATGCATRAAC | | |
| | | 1651 | | 1700 |
| EBOV-S opt | (1651) | CAGAACGCCCTGGTGTGCGGCCTGAGACAGCTGGCCAACGAAACCACTCA | | |
| EBOV-Z opt | (1651) | CAGGATGGTCTGATTGTGGTCTCCGGCAGCTGGCTAATGAGACAACACA | | |
| | | 1701 | | 1750 |
| EBOV-S opt | (1701) | GGCACTGCAGCTGTTCTCGGGCCACCACCGAGCTGCGGACCTACACCA | | |
| EBOV-Z opt | (1701) | GGCTCTCCAGCTGTTCTGAGAGCCACAACAGAGCTGAGAACCTTCAGCA | | |
| | | 1751 | | 1800 |
| EBOV-S opt | (1751) | TCCTGAACAGGAAGGCCATCGACTTTCTGCTGCGGAGATGGGGCGGCACC | | |
| EBOV-Z opt | (1751) | TTCTCAACCGCAAGGCTATTGACTTCTGCTCCAACGATGGGGAGGCACA | | |
| | | 1801 | | 1850 |
| EBOV-S opt | (1801) | TGTAGAATCCTGGGCCCCGACTGCTGCATCGAGCCCCACGACTGGACCAA | | |
| EBOV-Z opt | (1801) | TGCCACATCCTGGGGCCTGATTGTTGTATCGAACCTCACGATTGGACAAA | | |
| | | 1851 | | 1900 |
| EBOV-S opt | (1851) | GAATATCACCGACAAGATCAACCAGATCATCCACGACTTCATCGACAACC | | |
| EBOV-Z opt | (1851) | GAACATTACAGATAAGATCGATCAGATTATCCATGACTTTGTGGACAAGA | | |
| | | 1901 | | 1950 |
| EBOV-S opt | (1901) | CCCTGCCCAACCAGGACAACGACGACAACCTGGTGGACTGGTTGGCGACAG | | |
| EBOV-Z opt | (1901) | CCCTGCCCGATCAGGGCGACAACGATAATTGGTGGACAGGGTGGAGACAG | | |

Figura 9B (continúa)

| | | | | |
|------------|--------|--|--|------|
| | | 1951 | | 2000 |
| EBOV-S opt | (1951) | TGGATCCCTGCCGGCATCGGCATCACCGGCATCATCATTGCCATTATCGC | | |
| EBOV-Z opt | (1951) | TGGATTCCAGCCGGGATTGGCGTGACCGGCGTGATTATCGCCGTGATCGC | | |
| | | 2001 | | 2031 |
| EBOV-S opt | (2001) | TCTCCTCTGCGTGTGCAAGCTCCTCTGCTGA | | |
| EBOV-Z opt | (2001) | CCTGTTCTGCATCTGCAAGTTCGTGTTCTGA | | |

Figura 9B (continúa)

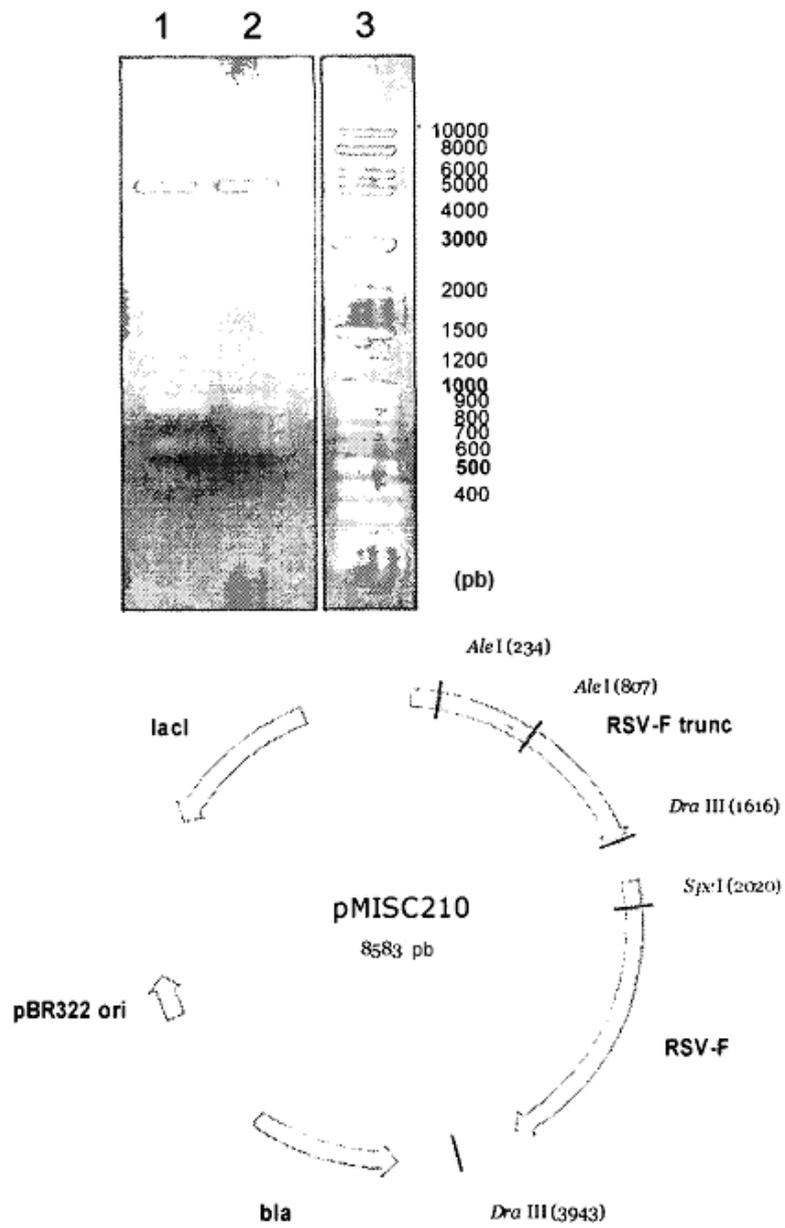


Figura 10