Clarke Modet

Carrera 11 No. 86-53, Piso 3
Edificio Segovia
110221 Bogotá, **Colombia**
T (+57) 1 618 10 88
F (+57) 1 635 08 24

P-2023/28873

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES
E. S. D.

Re: Expediente No. **NC2023/0014507**
Solicitud de patente a nombre de **KALIVIR IMMUNOTHERAPEUTICS, INC.**

Yo, CAROLINA DAZA MONTALVO identificada como aparece al pie de mi firma, domiciliada en la Carrera 11 No. 86-53, obrando como apoderada de la sociedad KALIVIR IMMUNOTHERAPEUTICS, INC., domiciliada en Pittsburgh, Estados Unidos de América, solicitante de la patente de la referencia, en respuesta al oficio No. **19660** notificado electrónicamente el 12 de noviembre de 2024, relacionado con los requerimientos de fondo de la solicitud, atentamente me permito presentar la siguiente información:

1. **Modificación al capítulo reivindicatorio:**

Con fundamento en la facultad que confiere el artículo 34 de la Decisión 486 al solicitante para modificar la solicitud de patente en cualquier momento del trámite, presento junto a este memorial un nuevo capítulo reivindicatorio que consta de catorce (14) reivindicaciones, el cual reemplaza completamente el documento presentado el 9 de octubre de 2024. Específicamente, se realizaron las siguientes modificaciones:

1.1. Se modificó la reivindicación 1 limitando el virus oncolítico a un virus *vaccinia* e indicando que la modificación del genoma comprende un ácido nucleico exógeno de SEQ ID NO: 38. Esta modificación encuentra soporte en la antigua reivindicación 9 y en el Ejemplo 3 de la solicitud como fue originalmente presentada.

1.2. Se modificó la redacción de la opción b) de la reivindicación 2 para indicar que el ácido nucleico exógeno que codifica una proteína, en donde la expresión de la proteína resulta en la activación o potenciación de la activación de la presentación de MHC II.

1.3. Se eliminaron las antiguas reivindicaciones 9, 15-20.

1.4. Se ajustó la numeración, la dependencia y el lenguaje de las reivindicaciones remanentes en vista de los cambios antes mencionados.

Clarke Modet

Carrera 11 No. 86-53, Piso 3
Edificio Segovia
110221 Bogotá, **Colombia**
T (+57) 1 618 10 88
F (+57) 1 635 08 24

1.5. Se modificó la antigua reivindicación 14 (nueva reivindicación 13) con el fin de definir el componente activo de la composición (el virus de *vaccinia*) de acuerdo con sus características técnicas esenciales.

Al respecto me permito manifestar que las modificaciones presentadas en esta oportunidad se realizan sin que por ello deba interpretarse que el solicitante acepta de forma alguna las objeciones establecidas en el oficio que se responde y sin perjuicio o renuncia de los derechos del solicitante de buscar la protección de la materia allí contenida en etapas posteriores del trámite.

Además, estas modificaciones no amplían de ninguna manera el objeto de la presente solicitud, y se realizan con el fin de definir la materia reclamada de forma clara, superando las objeciones planteadas por el examinador en su concepto técnico, por lo que el capítulo reivindicatorio presentado junto a este memorial se ajusta a las disposiciones del Artículo 34 de la Decisión 486 de 2000.

2. Pago de tasas

Considerando que el presente memorial se presenta junto con modificaciones a las reivindicaciones, se adjunta recibo por concepto de pago de tasa de modificación a la solicitud, según lo establecido en la **Resolución 59669 de 2020.**

Ahora, en relación con el número de reivindicaciones, atentamente me permito resaltar que junto a la presente respuesta no se realiza el pago de la tasa por concepto de reivindicaciones adicionales, dado que el nuevo capítulo reivindicatorio cuenta con un número menor de cláusulas que el presentado y estudiado anteriormente por su despacho.

3. Titulo

Ahora bien, con respecto a la observación sobre la falta de relación del título con el objeto de la solicitud contenido en la descripción y las reivindicaciones, me permito señalar que es deseo del solicitante modificar el título de modo que defina de forma más clara las características de la invención, de modo que ahora se lee:

"COMPOSICIÓN QUE COMPRENDE UN VIRUS ONCOLÍTICO DE *VACCINIA* RECOMBINANTE QUE COMPRENDE UNA DELECIÓN DEL GEN TK Y UNA INSERCIÓN DE UN ÁCIDO NUCLEICO

Clarke Modet

Carrera 11 No. 86-53, Piso 3
Edificio Segovia
110221 Bogotá, **Colombia**
T (+57) 1 618 10 88
F (+57) 1 635 08 24

QUE CODIFICA EL FACTOR REGULADOR DE INTERFERÓN VIRAL 3 (VIRF3) PARA EL CÁNCER"

En vista de lo anterior, amablemente solicito que la objeción al respecto se dé por superada.

4. Claridad y concisión de las reivindicaciones

El solicitante manifiesta que mediante la presentación del capítulo reivindicatorio modificado quedan subsanadas la totalidad de las objeciones presentadas por el examinador en su concepto técnico, de modo tal que las nuevas reivindicaciones reclaman de manera clara y concisa la invención descrita. Con respecto a las objeciones específicas del examinador, me permito manifestar lo siguiente:

4.1 El examinador asegura que la reivindicación 1 no es clara y carece de sustento, puesto que, en opinión del examinador, no se mencionan las características técnicas esenciales del virus comprendido en la composición reclamada.

En este sentido el solicitante manifiesta respetuosamente su desacuerdo con la opinión del examinador. Sin embargo, únicamente con el fin de avanzar en el trámite de la solicitud, se ha modificado la reivindicación 1 incluyendo las características de la antigua reivindicación 9. De esta manera, la nueva reivindicación 1 especifica que el virus es un virus *vaccinia* oncolítico que incluye una deleción del gen TK y un ácido nucleico exógeno de SEQ ID NO: 38 que codifica para el inhibidor de MHC I vIRF3, lo cual se encuentra completamente sustentado por el ejemplo 3 de la descripción como fue originalmente presentada.

En este sentido, el solicitante desea resaltar que, tal como se establece en la Guía de Examen emitida por su Despacho, limitar el alcance de las reivindicaciones implica la desprotección de la invención que fue divulgada por el inventor, como se ve a continuación:

> *"Las reivindicaciones son generalizaciones de los ejemplos, por lo cual la reivindicación no será tan amplia que vaya más allá de la invención, pero tampoco tan limitada como para que la invención divulgada no quede protegida."* (Guía de examen, página 122).

En este sentido, se hace notar que la presente invención aborda el problema de la obtención de composiciones que permiten la selección selectiva de células cancerosas, la expresión génica localizada, y el alcance y la modificación del microentorno tumoral (TME). Como se

Carrera 11 No. 86-53, Piso 3
Edificio Segovia
110221 Bogotá, **Colombia**
T (+57) 1 618 10 88
F (+57) 1 635 08 24

muestra en el ejemplo 3, este problema se resuelve por medio de una composición que comprende un virus *vaccinia* oncolítico que comprende una modificación del genoma que comprende una deleción del gen de una timidina quinasa, y un ácido nucleico exógeno de SEQ ID NO: 38 que codifica para vIRF3. Las características esenciales de dicha composición se definen en la nueva reivindicación 1, ofreciendo así una guía clara para que la persona normalmente versada en la materia pueda reproducir la invención y, además, distinguiendo claramente la materia reclamada del estado de la técnica, como se explicará a continuación.

De esta manera, la nueva reivindicación independiente establece las características estructurales y funcionales de la composición reclamada, las cuales están plenamente soportadas por los ejemplos de la solicitud, y, por lo tanto, la objeción al respecto puede considerarse superada.

4.2 Además, el examinador asegura que la reivindicación 1 no es clara porque la secuencia SEQ ID NO: 38 es de ácido nucleico, lo cual no sería claro dada la redacción de la antigua reivindicación 1.

En este sentido, se hace notar que se ha modificado la redacción de la reivindicación 1 de forma que ahora indica que "*la modificación del genoma comprende además un ácido nucleico exógeno de SEQ ID NO: 38 que codifica para un inhibidor de MHC I*" de acuerdo con la amable sugerencia del examinador.

En vista de lo anterior, la objeción al respecto queda superada.

4.3 Asimismo, el examinador indica que la reivindicación 1 no es clara porque la redacción de la reivindicación "*podría hacer referencia a la eliminación de un solo nucleótido, pero de acuerdo con la descripción se hace la deleción de todo el gen timidina quinasa*".

En este sentido, el solicitante respetuosamente manifiesta su desacuerdo, toda vez que la redacción de la reivindicación es clara para la persona normalmente en la materia, quien podría comprender el alcance de la materia reclamada sin inconvenientes. En vista de lo anterior, respetuosamente solicito que la objeción al respecto sea reconsiderada.

4.4 Similarmente, el examinador señala que la reivindicación 2 no es clara y carece de sustento debido a que no menciona la deleción especifica, la región eliminada, ni la secuencia que resulta en la activación. Además, el examinador considera que estas

Carrera 11 No. 86-53, Piso 3
Edificio Segovia
110221 Bogotá, **Colombia**
T (+57) 1 618 10 88
F (+57) 1 635 08 24

serían características esenciales que deberían ser añadidas a la reivindicación independiente.

En este sentido el solicitante manifiesta respetuosamente su desacuerdo con la opinión del examinador. En primer lugar, se reitera que la reivindicación 1 ha sido modificada de acuerdo con las sugerencias del examinador, estableciendo el tipo específico de virus oncolítico, la presencia de una deleción en el gen de timidina quinasa, y la secuencia del ácido nucleico exógeno que codifica al inhibidor de MHC I.

De esta forma, la nueva reivindicación 1 establece todas las características que separan la materia reclamada del estado de la técnica y que dan solución al problema técnico planteado (como se demuestra en el ejemplo 3), lo cual indica que dicha reivindicación cumple con lo estipulado en el Manual Andino, que señala:

> "*…las reivindicaciones deben contener todas las características técnicas esenciales de la invención. Ellas definen la solución al problema técnico que intenta resolver la invención*" (Pág. 49)

De esta manera, no es necesario (ni deseable) incluir características técnicas estructurales adicionales, como lo señala la Guía para examen de la Superintendencia de Industria y comercio:

> "*Si una reivindicación independiente contiene todas las características técnicas esenciales de la invención, no se deberá requerir que mencione también otras características estructurales*" (Página 105)

De esta forma, dado los ejemplos de la descripción demuestran que los elementos que proporcionan la solución al problema técnico planteado están incluidos en la reivindicación independiente, y el examinador no ha demostrado que las características mencionadas en la reivindicación 2 sean esenciales para llevar a cabo la invención, el solicitante respetuosamente solicita que se retire la objeción al respecto.

4.5. Además, el examinador también manifiesta que las reivindicaciones 2 a 4 carecen de claridad porque la expresión "*deleción funcional*" no es clara, de modo que sugiere reemplazarla con la secuencia que se elimina del genoma del virus.

Clarke Modet

Carrera 11 No. 86-53, Piso 3
Edificio Segovia
110221 Bogotá, **Colombia**
T (+57) 1 618 10 88
F (+57) 1 635 08 24

En este sentido, es pertinente resaltar que la expresión "*deleción funcional*" es plenamente conocido en el campo de la invención, por lo que es completamente clara para una persona normalmente versada en la materia en el contexto de la invención. Por lo tanto, el solicitante manifiesta que el alcance de la materia reclamada es claro aún en ausencia de las secuencias delecionadas.

Al respecto, se llama nuevamente la atención del examinador sobre las disposiciones de la guía de examen que establecen que:

> "*El alcance amplio de una reivindicación no debe confundirse con la falta de claridad. El hecho* <u>*que una reivindicación cubra un amplio número de alternativas no significa que la reivindicación no sea clara*</u> *o que una persona versada en la materia no pueda establecer cuál es la invención para la cual se solicita protección*" (Pág. 111)

En ese sentido se solicita al examinador reconsiderar su opinión a la luz de las directrices de examen emitidas y publicadas por su Despacho.

4.6. El examinador señala, además, que las reivindicaciones no son claras y carecen de sustento. En particular, el examinador indica que la descripción solo evidencia la obtención de virus de *vaccinia* que comprende el factor regulador del interferón viral 3 vIRF3, y que presenta una deleción en TK. Por lo tanto, en opinión del examinador, ninguna de las opciones que no están expresamente ejemplificadas deben ser incluidas en las reivindicaciones dependientes. En particular, el examinador sugiere "*mencionar únicamente la materia que encuentra sustento en la descripción*".

Al respecto, me permito reiterar que la reivindicación 1 fue modificada siguiendo las sugerencias del examinador, de modo que ahora se establece el tipo de virus, la deleción específica en TK y la secuencia del vIRF3.

Ahora bien, las múltiples objeciones relacionadas con la supuesta falta de soporte descriptivo parecen indicar que el examinador considera que únicamente la materia que ha sido ejemplificada está suficientemente descrita, por lo que, en ausencia de ejemplos que muestren la obtención de (i) un virus oncolítico que comprenda vIRF3 y la deleción de A35 o WR158; (ii) dominios, fragmentos o variantes de los genes mencionados; (iii) virus que comprenden un ácido nucleico que codifica para la proteína HMGB1; (iii) virus recombinante de los grupos

Clarke Modet

Carrera 11 No. 86-53, Piso 3
Edificio Segovia
110221 Bogotá, **Colombia**
T (+57) 1 618 10 88
F (+57) 1 635 08 24

mencionados en la reivindicación 13; y (iv) virus con otra mutaciones o deleciones, dichas variaciones no estarían soportadas.

Frente a lo anterior, me permito reiterar lo mencionado en la Guía para examen de Solicitudes de Patente de Invención y Modelos de Utilidad de la Superintendencia de Industria y Comercio, publicada en 2023, con respecto al uso de ejemplos en la descripción, en donde se menciona:

> *"En referencia a la mejor manera de realizar la invención se considerará que los ejemplos son casos particulares que sirven para ilustrar la mejor manera conocida por el solicitante para ejecutar o llevar a la práctica la invención. Dado que la solicitud está dirigida a la persona del oficio normalmente versada en el ámbito tecnológico, no es necesario, ni deseable, incluir características, ni detalles que sean bien conocidos, sino que deberá divulgar las características esenciales para poner en práctica la invención, sin que ello requiera de un esfuerzo inventivo que sea superior a las habilidades ordinarias de dicha persona.*
>
> *Este requisito se entenderá superado con la divulgación de una razonable generalización de los ejemplos más representativos de la invención.*
> *(…)*
> *Las reivindicaciones son generalizaciones de los ejemplos, por lo cual la reivindicación no será tan amplia que vaya más allá de la invención, pero tampoco tan limitada como para que la invención divulgada no quede protegida."* (Numeral 4.4.e, Págs. 121-122)

Asimismo, es pertinente resaltar las disposiciones del Manual Andino, en donde se establece lo siguiente:

> *"La invención puede considerarse suficientemente descrita si se aporta uno o más ejemplos, modos de realización alternativos o variaciones que habilitan a la persona versada en la materia técnica para que, aplicando sus conocimientos técnicos generales, pueda poner en práctica la invención en toda el área reivindicada y no solo algunas modalidades particulares reivindicadas, sin que para ello requiera desplegar un esfuerzo inventivo. Sin embargo, la presentación de ejemplos relativos a todas las especies particulares de la invención o a cada alternativa reivindicada no será necesaria para encontrar una suficiencia de la descripción, siempre y cuando dichas especies se mencionen en esta."* (Numeral 3.1.2, página 42)

Clarke Modet

Carrera 11 No. 86-53, Piso 3
Edificio Segovia
110221 Bogotá, **Colombia**
T (+57) 1 618 10 88
F (+57) 1 635 08 24

Visto lo anterior, es claro que, contrario a lo que el examinador parece indicar, el espíritu de la normativa nacional y supranacional vigente no es el de requerir que las reivindicaciones estén limitadas únicamente a los ejemplos presentados en la descripción, sino que estos ejemplos sirvan como guía para que la persona normalmente versada en el campo técnico esté en capacidad de reproducir la invención.

Es importante destacar que otras modificaciones en el genoma de virus oncolíticos son plenamente conocidos en el estado de la técnica, como se demuestra en los documentos citados por el examinador. Por lo tanto, la solución propuesta por la presente solicitud no se basa -ni tampoco depende de- la presencia de dichas modificaciones ya conocidas, sin embargo, estas pueden ser implementadas en los virus de la invención, como los comprendería la persona normalmente versada en la materia.

Así, la persona normalmente versada en la materia comprenderá cuales modificaciones serian aplicables en casos concretos, y seleccionaría las deleciones y/o secuencias apropiadas en cada instancia para logra la mutaciones concretas, garantizando la reproducibilidad de la invención.

Además, contrario a lo señalado por el examinador, la persona normalmente versada en la materia podría fácilmente comprender el alcance de la materia reclamada, toda vez que las secuencias que pueden ser insertadas y/o delecionadas han sido descritas ampliamente en el estado de la técnica.

Por último, pero no menos importante, me permito resaltar que la objeción del señor examinador va en contra de los objetivos del sistema de patentes. Acceder a especificar todos los aspectos señalados por el examinador en la reivindicación independiente (por ejemplo, estableciendo como esenciales las modificaciones complementarias ya conocidas en el campo técnico), daría como resultado una reivindicación de patente excesivamente limitada de reducida eficacia, ya que cubriría solo un conjunto estrecho de características y dejaría sin protección muchos aspectos del concepto inventivo desarrollado por el solicitante. En consecuencia, seguir las sugerencias del examinador facilitaría que competidores introdujeran productos similares sin infringir la patente, es decir, dejaría la invención vulnerable a imitaciones o variaciones mínimas y rutinarias por parte de terceros.

Esto no solo socava la ventaja competitiva del titular de la eventual patente, sino que desincentiva la investigación y el desarrollo continuos. Así que, el solicitante desea respetuosamente señalar que, desde un punto de vista estratégico y de protección efectiva,

Carrera 11 No. 86-53, Piso 3
Edificio Segovia
110221 Bogotá, **Colombia**
T (+57) 1 618 10 88
F (+57) 1 635 08 24

una reivindicación debe ser lo suficientemente amplia como para abarcar las posibles variaciones, en línea con el propósito del sistema de patentes.

En ese sentido, dado que las posibilidades mencionadas en las nuevas reivindicaciones -independientes y dependientes- son plenamente conocidas en el campo técnico y serian claras para la persona normalmente versada en la materia, respetuosamente solicito reconsiderar la posición del examinador a la luz de las pautas de examen vigentes, y dar por superada la objeción al respecto.

4.7. Por otra parte, el examinador objeta las reivindicaciones 2, 10 y 11 debido a que se refieren a resultados a alcanzar que no caracterizan la invención.

Con respecto a esta objeción, me permito reiterar las disposiciones que sobre el tema contempla la *Guía de examen de solicitudes de patentes sobre anticuerpos,* publicada por la Dirección de Nuevas Creaciones de la Superintendencia de Industria y Comercio, y vigente al momento de la presentación de esta respuesta, en donde se señala lo siguiente:

> "*11. Cuando las reivindicaciones reclamen un producto o un procedimiento definido por sus características técnicas esenciales, <u>el solicitante podrá incluir o acompañar dichas características con resultados a alcanzar</u>.*
> *Por lo tanto, si la reivindicación independiente menciona todas las características técnicas esenciales de la invención y además hace referencia a resultados a alcanzar, <u>o si estos últimos se encuentran en las reivindicaciones dependientes</u>, no se objetará la información relativa a los resultados a alcanzar por Art. 30.*" (Págs. 35 y 36, énfasis añadido).

Estas disposiciones están respaldadas, además, en las disposiciones del numeral 4.3.12 de la *Guía para examen de solicitudes de patente de invención y modelo de utilidad* de la Superintendencia de Industria y Comercio, el cual señala:

> "*4.3.12 Reivindicaciones definidas por el resultado a alcanzar*
> *Como se menciona anteriormente, las reivindicaciones deben definir la invención por sus características técnicas esenciales, estructurales o estructurales/funcionales. No se admite que la reivindicación defina la invención por el resultado a alcanzar (del tipo: "Aparato de destilación caracterizado porque tiene un rendimiento del 99%"), puesto que en realidad equivaldría a definir el problema técnico a resolver y el alcance de la*

Carrera 11 No. 86-53, Piso 3
Edificio Segovia
110221 Bogotá, **Colombia**
T (+57) 1 618 10 88
F (+57) 1 635 08 24

reivindicación, incluiría no sólo la solución propuesta por el solicitante, sino todas las alternativas presentes o futuras que lleguen a ese resultado.

El resultado a alcanzar no es una característica técnica de la invención. Puede aparecer en la reivindicación, pero siempre acompañando las características técnicas que definen la invención. Además, no debe restar claridad a la reivindicación porque, en caso de ser así, deberá presentarse un requerimiento al Solicitante para que retire el resultado a alcanzar" (Página 113, Énfasis añadido)

Así, es claro que incluir un resultado a alcanzar en una reivindicación es permitido siempre que se acompañe de las características técnicas que definen la invención, las cuales son las que efectivamente permiten diferenciar la materia reclamada de las alternativas presentes o futuras que lleguen al mismo resultado.

Visto lo anterior, y teniendo en cuenta que las nuevas reivindicaciones 2, 9 y 10 (antiguas reivindicaciones 2, 10 y 11) son reivindicaciones dependientes, es decir, incluyen todas las características técnicas mencionadas en la reivindicación 1, dichas reivindicaciones son totalmente claras. Por lo tanto, amablemente solicito que se retire la objeción al respecto.

4.8. Similarmente, el examinador considera que la reivindicación 8 no sería clara porque, en su opinión, la redacción indica que el ácido nucleico este fusionado a secuencias de aminoácidos, lo cual no sería coherente.

Al respecto, se hace notar que la reivindicación 8 se refiere a:

"8. La composición de la reivindicación 3, en donde la proteína codificada por el ácido nucleico exógeno está fusionada a una secuencia de secreción, un dominio de permeabilización celular o una combinación de los mismos."

Por lo tanto, parece existir un entendimiento incorrecto de la reivindicación, toda vez que la reivindicación indica claramente es la proteína codificada, y no el ácido nucleico, la que se encuentra fusionada a la secuencia de secreción y/o el dominio de permeabilización.

En vista de lo anterior, respetuosamente solicito que la objeción al respecto sea reconsiderada.

Carrera 11 No. 86-53, Piso 3
Edificio Segovia
110221 Bogotá, **Colombia**
T (+57) 1 618 10 88
F (+57) 1 635 08 24

4.9. El examinador también objeta la claridad de la reivindicación 14 pues, en su opinión, "*no es claro como una composición comprende otra composición*".

Sin estar de acuerdo, pero atendiendo a la sugerencia del examinador, se ha modificado la redacción de dicha reivindicación (nueva reivindicación 13) de forma que ahora es una reivindicación independiente. Por ende, la objeción al respecto ha sido superada.

4.10 Similarmente, el examinador objeta la claridad de las reivindicaciones 15 a 21 debido a que, en su opinión, no estarían sustentadas por la descripción porque en ella no se evidencia el desarrollo de composiciones farmacéuticas que comprenden además del virus oncolítico, un principio activo adicional, un agente cancerígeno o un virus oncolítico adicional.

Al respecto, el solicitante respetuosamente manifiesta su desacuerdo, sin embargo, señala que las reivindicaciones 15 a 20 no se incluyen en esta oportunidad. Ahora bien, con respecto a la antigua reivindicación 21 (nueva reivindicación 14) son reivindicaciones dependientes (esto es, incluyen todas las limitaciones de la nueva reivindicación 13) contemplan componentes adicionales concretos plenamente conocidos en el campo técnico de la invención, por lo que la persona normalmente versada en la materia podría comprender que dichos componentes pueden ser mezclados para proporcionar diferentes formas farmacéuticas. Por lo tanto, aun en ausencia de modalidades específicas que ejemplifiquen cada una de las combinaciones al alcance de las reivindicaciones, la persona normalmente versada en la materia estaría en capacidad de comprender el alcance de las reivindicaciones y reproducir la invención.

Tal como se mencionó previamente, tanto la normativa local como las directrices comunitarias establecen que no es necesaria la presentación de ejemplos para todas las opciones al alcance de las reivindicaciones para considerar que existe suficiente soporte descriptivo para las mismas. Por lo tanto, respetuosamente solicito que se retire la objeción al respecto.

4.11 Por último, el examinador objeta la claridad del capítulo reivindicatorio debido a que la expresión "*ácido nucleico exógeno*" se refiere a múltiples alternativas, mientras que la descripción señala que dicho ácido nucleico tiene una secuencia especifica.

Frente a lo anterior, el solicitante desea expresar respetuosamente que el término en cuestión es bien conocido en el campo técnico de la invención. Por lo tanto, una persona normalmente versada en la materia no tendría dificultades para comprender el alcance de las

Carrera 11 No. 86-53, Piso 3
Edificio Segovia
110221 Bogotá, **Colombia**
T (+57) 1 618 10 88
F (+57) 1 635 08 24

reivindicaciones. Es importante señalar que la objeción del examinador parece surgir de un análisis fragmentado, que descontextualiza los términos señalados y, al hacerlo, les resta su significado técnico habitual.

En este sentido, me permito señalar que la guía de examen indica:

> *"4.3.7. Términos utilizados*
>
> *Cada reivindicación debe leerse dando a los términos que contiene el sentido y el alcance que les daría la persona versada en la materia, salvo que la descripción dé a esos términos un sentido especial, definiéndolos de una manera particular. Es decir, cada palabra de las reivindicaciones debe tener el significado y alcance que normalmente se le da en el campo técnico relacionado. Si la palabra tiene un significado especial dado por una definición en la descripción, esta definición deberá incluirse en la reivindicación, siempre que esto sea factible."*

Por lo tanto, solicito respetuosamente que se reevalúe la objeción en este contexto.

En vista de lo anterior, las objeciones relacionadas con la claridad, la concisión y el soporte en la descripción del capítulo reivindicatorio, han quedado completamente superadas.

5. Descripción

El examinador indica que la descripción no divulga la materia reclamada de manera suficiente completa para que una persona normalmente versada en la materia pueda ejecutarla o reproducirla, por lo que no cumpliría con las disposiciones del Art. 28 de la Decisión Andina 486.

En particular, el examinador indica que la descripción no respalda adecuadamente la materia reclamada en el capítulo reivindicatorio, argumentando que solo se evidencia la obtención de un virus vaccinia con una deleción del gen TK y la inserción de un ácido nucleico que codifica vIRF3, tal como se presenta en el ejemplo 3.

Frente a lo anterior, el solicitante desea resaltar la drástica limitación realizada en el alcance de esta solicitud, que se refiere ahora a composiciones que comprenden un virus *vaccinia* oncolítico con una modificación del genoma que incluye una deleción del gen de timidina

Clarke Modet

Carrera 11 No. 86-53, Piso 3
Edificio Segovia
110221 Bogotá, **Colombia**
T (+57) 1 618 10 88
F (+57) 1 635 08 24

quinasa y un ácido nucleico exógeno de SEQ ID NO: 38 que codifica un inhibidor de MHC I, específicamente vIRF3.

Además, como se mencionó anteriormente, la sección 3.1.2 del Manual Andino de patentes, señala que:

> "*La invención puede considerarse suficientemente descrita si se aporta uno o más ejemplos, modos de realización alternativos o variaciones que habilitan a la persona versada en la materia técnica para que, aplicando sus conocimientos técnicos generales, pueda poner en práctica la invención en toda el área reivindicada y no solo algunas modalidades particulares reivindicadas, sin que para ello requiera desplegar un esfuerzo inventivo. Sin embargo, la presentación de ejemplos relativos a todas las especies particulares de la invención o a cada alternativa reivindicada no será necesaria para encontrar una suficiencia de la descripción, siempre y cuando dichas especies se mencionen en esta.*" (Pág. 42)

De esta manera, me permito reiterar que la normativa y directrices vigentes no exigen que las reivindicaciones se limiten únicamente a los ejemplos presentados en la descripción. Por el contrario, establecen que los ejemplos deben servir como guía para que una persona versada en el campo técnico pueda reproducir la invención. Así, aunque la descripción incluye ejemplos de virus específicos, estos ejemplos deben considerarse como realizaciones ilustrativas que demuestran cómo implementar el concepto desarrollado por el solicitante, y no como limitaciones a la invención. También es importante destacar que los aspectos preferidos en las reivindicaciones dependientes son alternativas bien conocidas por el profesional del área, quien puede comprender el alcance de la materia reclamada, independientemente del tipo de virus o de las secuencias y/o mutaciones específicas que puedan incluirse adicionalmente.

En este sentido, me permito señalar que, a pesar de que estos argumentos fueron presentados en la respuesta anterior, el examinador parece no haberlos advertido, por lo que respetuosamente solicito que sean tenidos en cuenta y respondidos oportunamente.

Por último, el solicitante desea señalar que junto a este memorial de respuesta se presenta una versión corregida de la memoria descriptiva en la que el término "Crystal violet" fue corregido por "Cristal Violeta" en atención a las amables sugerencias del examinador.

Carrera 11 No. 86-53, Piso 3
Edificio Segovia
110221 Bogotá, **Colombia**
T (+57) 1 618 10 88
F (+57) 1 635 08 24

Por lo tanto, dado que la materia divulgada en la descripción (especialmente el ejemplo 3) está estrechamente relacionada con lo definido en el capítulo reivindicatorio, el solicitante manifiesta que la descripción proporciona toda la información necesaria para que una persona normalmente versada en la materia pueda llevar a cabo la invención. En consecuencia, la descripción cumple con los requisitos legales establecidos en la Decisión Andina 486.

6. Nivel inventivo

El examinador ha indicado que las reivindicaciones 1 a 21 carecerían de nivel inventivo en vista de la combinación de las enseñanzas de los documentos D2 (US2016/0235793A1) y D3 (Lubyova, B., *et al.*).

Con respecto a lo anterior, me permito resaltar las disposiciones del artículo 18 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, que establecen que "*se considerará que la invención tiene nivel inventivo, si para una persona del oficio normalmente versada en la materia técnica correspondiente, esa invención no hubiese resultado obvia ni se hubiese derivado de manera evidente del estado de la técnica*".

Lo anterior significa que el análisis de nivel inventivo **NO** es una comparación de los objetos de las anterioridades y la solicitud en estudio. Por el contrario, el análisis de nivel inventivo **debe demostrar** la obviedad de la invención y establecer cómo ésta no contiene un salto cualitativo, que demuestre su altura inventiva, teniendo en cuenta que se hace **necesario demostrar** que la invención analizada carece de nivel inventivo y hubiese sido obvia para una persona versada en la materia.

Ahora bien, dichas condiciones no se cumplen para el caso en cuestión, pues, tal como se mostrará más adelante, las características técnicas mencionadas en las nuevas reivindicaciones no pueden derivarse de manera obvia o evidente a partir de las enseñanzas del estado de la técnica representadas en los documentos D2 y D3, y, por lo tanto, la materia reclamada es inventiva a la luz del arte previo.

La materia reclamada es inventiva a la luz del arte previo citado

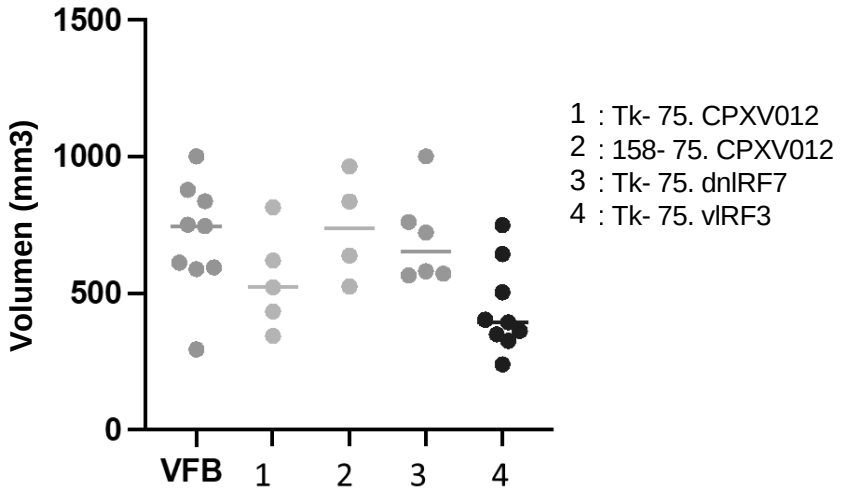
Tal como lo reconoce el examinador en el Oficio No. 19660, el documento D2 no divulga un virus *vaccinia* TK-negativo modificado para codificar vIRF3. Sin embargo, el examinador asegura que la divulgación de la solicitud en trámite no proporciona un efecto técnico diferente

Clarke Modet

Carrera 11 No. 86-53, Piso 3
Edificio Segovia
110221 Bogotá, **Colombia**
T (+57) 1 618 10 88
F (+57) 1 635 08 24

al presentado en D2 (específicamente "*un gen exógeno de SEQ ID NO: 38 que codifica vIRF3*"). Sin embargo, el solicitante disiente.

Como se ha venido mencionando en la presente respuesta, el Ejemplo 3 de la solicitud demuestra el efecto mejorado en el crecimiento tumoral en ratones tratados con un virus TK-negativo que expresa vIRF3 en comparación con otros virus TK-negativos modificados. La FIG. 2A (reproducida a continuación) muestra una mayor supresión tumoral en el tratamiento con un virus vaccinia con deleción en TK y que expresa un ácido nucleico exógeno que codifica vIRF3 (Grupo 4) en comparación con un virus vaccinia con deleción en TK sin vIRF3 (Grupos 1 y 3).



Además, el Oficio No. 19660 menciona en la página 8 que "*la persona normalmente versada en la materia estaría motivada a incluir un ácido nucleico que codifica la proteína vIRF-3 del herpevirus del sarcoma de Kaposi del D3 en la composición de D2, para así llegar al objeto de la reivindicación 1*". El solicitante nuevamente manifiesta su desacuerdo.

En primera medida, el solicitante desea resaltar que D2 divulga un virus con una deleción en TK y la inserción de un ácido nucleico exógeno que codifica una proteína TRIF (Toll/IL-1R domain inducing interferon beta), un factor estimulante de granulocitos y macrófagos o un antagonista de prostaglandina E2. Todas estas proteínas codificadas son proteínas activadoras del sistema inmune. TRIF y el factor estimulante de granulocitos y macrófagos promueven la respuesta de células T. Un antagonista de prostaglandina E2 inhibe la inmunosupresión.

Clarke Modet

Carrera 11 No. 86-53, Piso 3
Edificio Segovia
110221 Bogotá, **Colombia**
T (+57) 1 618 10 88
F (+57) 1 635 08 24

Por su parte, D3 enseña que la sobreexpresión de vIRF-3 en células B "*activa los promotores de los genes de interferón tipo I y mejora la expresión inducida por el virus de los genes endógenos IFNA e IFNB*" (p. 7652, col. 2, segundo párrafo). D3 enseña un plásmido que expresa un gen vIRF3 para aumentar una respuesta antiviral.

Ahora bien, la reivindicación 1 fue modificada de forma que ahora establece que la modificación incluye un ácido nucleico que codifica un inhibidor de MHC I, donde el inhibidor de MHC I comprende vIRF3. Esta modificación está dirigida a reducir la respuesta inmune a antígenos intracelulares, es decir, la respuesta inmune contra el virus y las células infectadas por el virus. La página 12 de la descripción indica que las composiciones reivindicadas están relacionadas con "*la inhibición de la presentación del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) clase I dentro de las células infectadas por virus como un medio para (i) reducir la respuesta inmunitaria dirigida al virus y a las células infectadas por virus*"

Visto lo anterior es claro que la combinación de D2 y D3 apunta a una solución completamente diferente a la de la presente invención. De hecho, tanto D2 como D3 orientan hacia un aumento de la respuesta inmune celular en células tratadas con el virus modificado o el plásmido. Así, la combinación de D2 y D3 no llevaría a una persona normalmente versada en la materia a un virus que comprenda una deleción en TK y que exprese un inhibidor de MHC I. Por lo tanto, el virus modificado reivindicado en la reivindicación 1 no es evidente a la luz de D2 y D3.

Además, la materia reivindicada presenta ventajas distintivas en comparación con las referencias citadas:

- La replicación selectiva en tumores del virus vaccinia TK-negativo es bien conocida.
- La expresión del inhibidor de MHC I vIRF3 a partir del virus TK-negativo permite una replicación preferencial en el entorno tumoral.
- La expresión del inhibidor de MHC I dentro del entorno tumoral suprime la respuesta inmune contra el vector terapéutico, en este caso, el virus vaccinia modificado.

Estos efectos tampoco serian evidentes a partir de D2. Además, el solicitante desea resaltar que la expresión dirigida evita efectos no deseados derivados de la expresión sistémica del inhibidor de MHC I, como los ocurridos con el sistema de expresión basado en plásmidos de D3. Por lo tanto, la expresión dirigida de un inhibidor de MHC I representa mejoras significativas en comparación con las divulgaciones de D2 y D3.

Clarke Modet

Carrera 11 No. 86-53, Piso 3
Edificio Segovia
110221 Bogotá, **Colombia**
T (+57) 1 618 10 88
F (+57) 1 635 08 24

El análisis realizado por el examinador es un análisis retrospectivo

Visto lo anterior, el solicitante desea resaltar que la modificación propuesta por el Examinador, según la cual el ácido nucleico de D3 se incluye en el virus de D2, y así llegar a la materia reclamada, demuestra la realización de un análisis en retrospectiva.

Sobre el particular, me permito referirme a las disposiciones relativas al "*análisis ex post facto o retrospectivo o retrospectivo*" de la guía de examen, en donde se indica que:

> *"... El examinador de patentes debería evitar el uso de un análisis ex post facto de este tipo.*
>
> *Es decir, el estado de la técnica se debe examinar sin el beneficio del conocimiento ofrecido retrospectivamente por la invención reivindicada. La indicación o la sugerencia que permita llegar a la invención reivindicada deben proceder del estado de la técnica o de los conocimientos generales de la persona del oficio normalmente versada en la materia, y no basarse en la divulgación del solicitante.*
>
> *Uno de los factores que deben tomarse en consideración para establecer si la persona del oficio normalmente versada en la materia hubiera estado motivada a combinar los documentos del estado de la técnica es la probabilidad razonable de éxito como resultado de tal combinación de sugerencias del estado de la técnica, consideradas colectivamente.*
>
> *En cualquier caso, el examinador de patentes debe esforzarse por realizar una evaluación práctica de acuerdo con la realidad. Debe tener en cuenta todo lo que se conozca sobre los antecedentes de la invención reivindicada y dar valor razonable a los argumentos o pruebas pertinentes que presente el solicitante".*
> *[énfasis añadido]*

De hecho, dicha guía de examen emitida por su Despacho señala:

> *"La invención no tiene nivel inventivo cuando la combinación de los elementos que proveen la solución está revelada en el estado de la técnica, es decir, no basta con la existencia de los elementos de manera aislada o individualmente considerados para concluir la falta de nivel inventivo, sino que ellos en su totalidad e integridad enseñen de manera evidente la manera de llegar a la solución al problema técnico".* (página 162)

De una lectura cuidadosa del Oficio No. 19660, es posible notar que en este no se proporciona ninguna evidencia que demuestre que la persona normalmente versada en la materia

Carrera 11 No. 86-53, Piso 3
Edificio Segovia
110221 Bogotá, **Colombia**
T (+57) 1 618 10 88
F (+57) 1 635 08 24

seleccionaría (no que *podría* seleccionar, sino que seleccionaría) específicamente la inclusión de un ácido nucleico que codifique vIRF3 en un virus de vaccinia oncolítico, como se reclama en la presente invención. De hecho, incluso al combinar las enseñanzas de dichos documentos, las particularidades de la invención seguirían estando fuera del alcance de la divulgación de dicho documento.

Es importante resaltar que, más que indicar que los documentos del arte previo podrían sugerir los componentes de la composición, la función del examinador es demostrar que una persona del campo técnico seleccionaría las características técnicas de la invención, es decir, el análisis debería exponer cómo el experto en el campo técnico habría llegado a la materia reclamada a partir de las enseñanzas de esos documentos, lo cual no ocurre en el presente caso.

Visto lo anterior queda claro que ni D2 ni D3, por separado o en combinación, proporcionan orientación para llegar a un virus vaccinia oncolítico que comprenda un ácido nucleico exógeno que codifique vIRF3 con una expectativa razonable de éxito. Por lo tanto, respetuosamente me permito señalar que el análisis realizado es retrospectivo.

Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto, queda claro que las características técnicas de la materia definida en el capítulo reivindicatorio presentado junto al presente memorial no se derivan de manera obvia o evidente de las enseñanzas de D2 y D3. Por lo tanto, el objeto reclamado cumple con el requisito de Nivel inventivo establecido en el Art. 18 de la Decisión 486.

Por tanto, respetuosamente solicito tener en cuenta los argumentos aquí presentados donde se demuestra que la invención de la presente solicitud es novedosa y tampoco se habría derivado de manera obvia del estado de la técnica, por lo que cumple con los requisitos de los artículos 14, 16 y 18 de la Decisión 486 de 2000.

7. Conclusión

Con las modificaciones introducidas y los argumentos presentados puede concluirse que:

i) El nuevo título de la solicitud es claro y se relaciona con el objeto reclamado, cumpliendo así con el literal d) del artículo 27 de la Decisión 486 de 2000;
ii) El nuevo pliego reivindicatorio y memoria descriptiva se ajusta a las disposiciones del Artículo 34 de la Decisión 486/00;
iii) La invención de la presente solicitud es clara y cuenta con el debido sustento en el capítulo descriptivo, a la vez que se encuentra divulgada de manera suficientemente

Clarke Modet

Carrera 11 No. 86-53, Piso 3
Edificio Segovia
110221 Bogotá, **Colombia**
T (+57) 1 618 10 88
F (+57) 1 635 08 24

completa, cumpliendo así con los requerimientos de los Artículos 30 y 28 de la Decisión 486;

iv) La invención de la presente solicitud no resulta obvia ni se derivada de manera evidente del estado de la técnica, cumpliendo así con los requerimientos del Artículo 18 de la Decisión 486.

Por tanto, atentamente me permito solicitar a ese Despacho otorgar el privilegio de patente solicitado a la solicitud en estudio, toda vez que cumple a cabalidad con los requerimientos de la Decisión 486 de 2000.

Asimismo, respetuosamente solicito a ese Despacho pronunciarse en relación con todos los argumentos presentados en este memorial dando estricta aplicación al principio del debido proceso consagrado en el artículo 29 de la Constitución Nacional.

8. Anexos

- Nuevo capítulo reivindicatorio conformado por catorce (14) reivindicaciones.
- Memoria descriptiva modificada.
- Recibo de pago por concepto de modificaciones a las reivindicaciones.

Señora Directora,

CAROLINA DAZA MONTALVO
C.C. 66.783.790 de Palmira Valle
TP-141563 CSJ
notificaciones@clarkemodet.com.co

REIVINDICACIONES

1. Una composición, en donde la composición comprende:
   un virus vaccinia oncolítico, en donde el virus vaccinia oncolítico comprende una modificación del genoma que comprende una deleción del gen de una timidina quinasa,
   en donde la modificación del genoma comprende además un ácido nucleico exógeno de SEQ ID NO: 38 que codifica para un inhibidor de MHC I, en donde el inhibidor de MHC I comprende vIRF3.

2. La composición de la reivindicación 1, en donde la modificación del genoma comprende, además:
   a) una deleción o deleción funcional de un ácido nucleico endógeno que codifica un inhibidor de MHC II; o
   b) un ácido nucleico exógeno que codifica una proteína, en donde la expresión de la proteína resulta en la activación o potenciación de la activación de la presentación de MHC II.

3. La composición de la reivindicación 2, en donde la deleción o deleción funcional del ácido nucleico endógeno que codifica el inhibidor de MHC II comprende una deleción o deleción funcional de un gen del virus vaccinia que codifica la proteína A35.

4. La composición de la reivindicación 3, en donde la deleción o deleción funcional del gen del virus vaccinia que codifica la proteína A35 es una deleción o deleción funcional del gen WR158.

5. La composición de la reivindicación 2, en donde el ácido nucleico exógeno que causa la activación o activación potenciada de la presentación de MHC II codifica para una proteína seleccionada de:
   a) una proteína inhibidora de la apoptosis;
   b) una proteína activadora de la muerte celular necrótica
   c) una proteína potenciadora de la autofagia
   d) una asparaginil endopeptidasa;
   e) un transactivador de clase II
   f) un interferón-gamma
   g) un activador del receptor tipo Toll; o
   h) un activador de la maduración de células dendríticas.

6. La composición de la reivindicación 5, en donde el ácido nucleico exógeno que causa la activación o activación potenciada de la presentación de MHC II codifica para la proteína potenciadora de la autofagia, y en donde la proteína potenciadora de la autofagia es HMGB1 o un dominio funcional o una variante de la misma.

7. La composición de la reivindicación 5, en donde el ácido nucleico exógeno que causa la activación o activación potenciada de la presentación de MHC II codifica para el activador

de la maduración de células dendríticas, en la que el activador de la maduración de células dendríticas comprende osteopontina, TNF-alfa, o un fragmento funcional o variante de los mismos.

8. La composición de la reivindicación 3, en donde la proteína codificada por el ácido nucleico exógeno está fusionada a una secuencia de secreción, un dominio de permeabilización celular o una combinación de los mismos.

9. La composición de la reivindicación 1, en donde el inhibidor de MHC I causa una inhibición o inhibición parcial de la presentación de MHC I.

10. La composición de la reivindicación 1, en la en donde la modificación del genoma reduce una respuesta inmunitaria dirigida a una célula tumoral infectada por el virus y aumenta una respuesta inmunitaria dirigida a las células que rodean a la célula tumoral infectada por el virus.

11. La composición de la reivindicación 1, en donde la modificación del genoma comprende además, la mutación o una deleción completa o parcial de un gen viral que comprende al menos uno de: A52R, B15R, K7R, A46R, N1L, E3L, K1L, M2L, C16, N2R, B8R, B18R, o VH1 de un virus vaccinia o un dominio funcional o fragmento o variante del mismo, o cualquier combinación de los mismos.

12. La composición de la reivindicación 1, en la que el virus vaccinia es un virus Vaccinia de la cepa Western Reserve (ATCC VR-1354), una cepa Copenhagen, una cepa IHD, una cepa Wyeth (ATCC VR-325), una cepa NYCBOH, una cepa Tian Tan, una cepa Lister, una cepa Ankara (ATCC VR-1508 o ATTC VR1566), una cepa URSS, o una cepa ACAM2000.

13. Una composición farmacéutica que comprende:

    un virus vaccinia oncolítico, en donde el virus vaccinia oncolítico comprende una modificación del genoma que comprende una eliminación de un gen de timidina quinasa,

    en donde la modificación del genoma comprende además un ácido nucleico exógeno de SEQ IN NO: 38 que codifica un inhibidor de MHC I, en donde el inhibidor de MHC I comprende vIRF3; y

    un excipiente farmacéuticamente aceptable.

14. La composición farmacéutica de la reivindicación 13, que comprende además un principio activo adicional, en el que el principio activo adicional es un agente anticancerígeno o un virus oncolítico adicional.

VIRUS ONCOLÍTICOS PARA LA EXPRESIÓN MODIFICADA DEL MHC

REFERENCIA CRUZADA

Esta solicitud reclama el beneficio de la Solicitud Provisional estadounidense No. 63/182.243, presentada el 30 de abril de 2021, la cual se incorpora en la presente como referencia en su totalidad.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

El cáncer es la segunda causa principal de muerte en los Estados Unidos. Existen desafíos para las terapias comercialmente disponibles en torno a la selección selectiva de células cancerosas, la expresión génica localizada, y el alcance y la modificación del microentorno tumoral (TME). Por lo tanto, sigue siendo necesario mejorar las composiciones y los métodos de uso para abordar estos desafíos.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

En la presente se proporcionan composiciones, en donde la composición comprende: un virus oncolítico, en donde el virus oncolítico comprende una modificación del genoma, en donde la modificación del genoma comprende una codificación de ácido nucleico exógeno para un inhibidor de MHC I. Se proporcionan además en la presente composiciones, en donde la modificación del genoma comprende además: una deleción o deleción funcional de un ácido nucleico endógeno que codifica un inhibidor de MHC II; o un ácido nucleico exógeno que causa la activación o activación potenciada de la presentación de MHC II. Se proporcionan además en la presente composiciones, en donde la modificación del genoma comprende además: una deleción o deleción funcional de un ácido nucleico endógeno que codifica un inhibidor de MHC II; y un ácido nucleico exógeno que causa la activación o activación potenciada de la presentación de MHC II. Se proporcionan además en la presente composiciones, en donde la deleción o deleción funcional del ácido nucleico endógeno que codifica el inhibidor de MHC II comprende una deleción o deleción funcional de un gen del virus vaccinia que codifica la proteína A35. Además, se proporcionan en la presente composiciones, en donde la deleción o deleción funcional del gen del virus vaccinia que codifica la proteína A35 es una deleción o deleción funcional del gen WR158. Se proporcionan además en la presente composiciones, en donde el ácido nucleico exógeno que causa la

activación o activación potenciada de la presentación de MHC II codifica una proteína seleccionada de: una proteína inhibidora de la apoptosis; una proteína activadora de la muerte celular necrótica; una proteína potenciadora de la autofagia; una asparaginil endopeptidasa; un transactivador de clase II; un interferón-gamma; un activador del receptor tipo Toll; o un activador de la maduración de células dendríticas. Se proporcionan además en la presente composiciones, en donde el ácido nucleico exógeno codifica la proteína potenciadora de autofagia, y en donde la proteína potenciadora de autofagia es HMGB1 o un dominio funcional o una variante de la misma. Se proporcionan además en la presente composiciones, en donde el ácido nucleico exógeno codifica el activador de maduración de células dendríticas, en donde el activador de maduración de células dendríticas comprende osteopontina, TNF-alfa, o un fragmento funcional o variante de los mismos. Se proporcionan además en la presente composiciones, en donde la proteína codificada por el ácido nucleico exógeno se fusiona a una secuencia de secreción, un dominio de permeabilización celular o una combinación de los mismos. Además, en la presente se proporcionan composiciones en donde el virus oncolítico es un poxvirus, un virus adeno asociado, un adenovirus, el virus de la enfermedad de Newcastle (VEN), Reovirus (RV), mengovirus, virus del mixoma (MYXV), virus del sarampión (MV), virus del herpes simple (VHS), virus Vaccinia (VV), virus de la estomatitis vesicular (VSV), y el virus de la polio (VP). También se proporcionan en la presente composiciones en donde el poxvirus comprende un betaentomopoxvirus, un yatapoxvirus, un cervidpoxvirus, un gammaentomopoxvirus, un leporipoxvirus, un suipoxvirus, un molluscipoxvirus, un crocodylidpoxvirus, un alphaentomopoxvirus, un capripoxvirus, un avipoxvirus, o un parapoxvirus. Además, se proporcionan en la presente composiciones, en donde el poxvirus es un virus vaccinia. Se proporcionan además en la presente composiciones, en donde el inhibidor de MHC I causa una inhibición o inhibición parcial de la presentación de MHC I. Además, en la presente se proporcionan composiciones, en donde el ácido nucleico exógeno que codifica el inhibidor de MHC I comprende un gen que codifica una o más proteínas del virus de la viruela. Además, en la presente se proporcionan composiciones en donde el ácido nucleico exógeno que codifica el inhibidor de MHC I comprende un gen que codifica la proteína de la viruela vacuna CPXV012, o un fragmento funcional o una variante de la misma. Además, en la presente se proporcionan composiciones en donde el ácido nucleico exógeno que codifica el inhibidor de MHC I comprende un gen que codifica la proteína de la viruela vacuna CPXV203, o un fragmento funcional o una variante de la misma. Se proporcionan además en la presente composiciones, en donde el ácido nucleico exógeno que codifica el inhibidor de MHC I comprende un gen que codifica al menos uno de: Proteína del antígeno nuclear 1 codificada por el virus de Epstein-Barr; proteína ICP47

codificada por el virus del herpes simple; proteína UL49,5 codificada por el virus del herpes simple; proteína US6, US2, US3, US11 o gp48 codificada por el citomegalovirus; proteína BNLF2a codificada por el virus de Epstein-Barr; proteína E3-19K codificada por adenovirus; proteína Nef codificada por el virus de la inmunodeficiencia humana o el virus de la inmunodeficiencia en simios; proteína kK3, vIRF3 o kK5 codificada por el herpesvirus asociado al sarcoma de Kaposi; o una forma dominante negativa de IRF7 o IRF3. Además, se proporcionan en la presente composiciones, en donde el inhibidor de MHC I comprende un inhibidor de TAP. También se proporcionan en la presente composiciones, en donde el inhibidor de TAP actúa completa o principalmente dentro de las células infectadas. Además, se proporcionan en la presente composiciones, en donde la modificación del genoma reduce una respuesta inmunitaria dirigida a una célula tumoral infectada por virus y aumenta una respuesta inmunitaria dirigida a las células que rodean a la célula tumoral infectada por virus. En la presente, también se proporcionan composiciones que comprenden además una deleción de un gen de timidina cinasa. En la presente, también se proporcionan composiciones que comprenden además un ácido nucleico exógeno que codifica una hialuronidasa. Además, en la presente se proporcionan composiciones en donde la hialuronidasa es PH-20 o HysA. Además, en la presente se proporcionan composiciones en donde el virus oncolítico es un virus vaccinia, y el virus vaccinia es un virus Vaccinia de la cepa Western Reserve (ATCC VR-1354), una cepa Copenhagen, una cepa IHD, una cepa Wyeth (ATCC VR-325), una cepa NYCBOH, una cepa Tian Tan, una cepa Lister, una cepa Ankara (ATCC VR-1508 o ATTC VR1566), una cepa URSS, o una cepa ACAM2000.

En la presente se proporcionan composiciones, en donde la composición comprende un virus oncolítico, en donde el virus oncolítico comprende una modificación genómica; en donde la modificación genómica comprende una deleción o deleción funcional de un gen del virus vaccinia que codifica la proteína A35 y la inserción de un gen exógeno que codifica una proteína de la viruela vacuna CPXV012 o una proteína de la viruela vacuna CPXV203. Además, en la presente se proporcionan composiciones en donde el virus oncolítico es un poxvirus, un virus adeno asociado, un adenovirus, el virus de la enfermedad de Newcastle (VEN), Reovirus (RV), mengovirus, virus del mixoma (MYXV), virus del sarampión (MV), virus del herpes simple (VHS), virus Vaccinia (VV), virus de la estomatitis vesicular (VSV), y el virus de la polio (VP). También se proporcionan en la presente composiciones en donde el poxvirus comprende un betaentomopoxvirus, un yatapoxvirus, un cervidpoxvirus, un gammaentomopoxvirus, un leporipoxvirus, un suipoxvirus, un molluscipoxvirus, un crocodylidpoxvirus, un alphaentomopoxvirus, un capripoxvirus, un avipoxvirus, o un

parapoxvirus. Además, se proporcionan en la presente composiciones, en donde el virus oncolítico es un virus vaccinia. Además, en la presente se proporcionan composiciones en donde el gen exógeno que codifica la proteína de la viruela vacuna CPXV012 se encuentra en un locus del gen que codifica la proteína A35 de un virus vaccinia. Además, en la presente se proporcionan composiciones en donde el gen exógeno que codifica la proteína de la viruela vacuna CPXV203 se encuentra en un locus del gen que codifica la proteína A35 de un virus vaccinia. Además, se proporcionan en la presente composiciones, en donde la modificación del genoma comprende al menos uno de: un ácido nucleico exógeno que codifica un receptor de quimiocina o un dominio funcional, o una variante del mismo; o un ácido nucleico exógeno que codifica una citocina o un dominio funcional, o una variante del mismo. También se proporcionan en la presente composiciones que comprenden el ácido nucleico exógeno que codifica una citocina o un dominio funcional o una variante del mismo, en donde la citocina comprende al menos uno de: interleucina-2 (IL-2), interleucina-15/interleucina-15Ra (IL15/IL15Ra), interleucina-7 (IL-7), o un dominio funcional o una variante de las mismas. Además, se proporcionan en la presente composiciones, en donde la modificación del genoma comprende la inserción de un ácido nucleico exógeno que codifica una proteína de fusión que comprende una citocina y una proteína moduladora metabólica. Se proporcionan además en la presente composiciones, que comprenden el ácido nucleico exógeno que codifica el receptor de quimiocina o un dominio funcional o una variante del mismo, en donde el receptor de quimiocina comprende al menos uno de: CXCR4, CCR2, o dominios funcionales o variantes de los mismos. Además, se proporcionan en la presente composiciones, en donde el receptor de quimiocina comprende el CXCR4 o un dominio funcional o una variante del mismo. Además, se proporcionan en la presente composiciones, en donde el receptor de quimiocina comprende el CCR2 o un dominio funcional o una variante del mismo, en donde el CCR2 comprende un CCR2 de tipo silvestre o un CCR2 mutado. Se proporcionan además en la presente composiciones, en donde el ácido nucleico exógeno que codifica el receptor de quimiocina o un dominio funcional o una variante del mismo comprende una secuencia optimizada por codones. Además, se proporcionan en la presente composiciones, en donde el ácido nucleico exógeno que codifica el receptor de quimiocina o un dominio funcional o una variante del mismo comprende una secuencia no optimizada por codones. También se proporcionan en la presente composiciones, en donde la modificación del genoma comprende una mutación o una deleción completa o parcial de un gen viral que comprende al menos uno de: A52R, B15R, K7R, A46R, N1L, E3L, K1L, M2L, C16, N2R, B8R, B18R, o VH1 de un virus vaccinia, o un dominio funcional, fragmento o variante del mismo, o cualquier combinación de los mismos. En la presente, también se proporcionan composiciones que comprenden

además una deleción de un gen de timidina cinasa. En la presente, también se proporcionan composiciones que comprenden además un ácido nucleico exógeno que codifica una hialuronidasa. Además, en la presente se proporcionan composiciones en donde la hialuronidasa es PH-20 o HysA. Además, en la presente se proporcionan composiciones en donde el virus oncolítico es un virus vaccinia, y el virus vaccinia es un virus Vaccinia de la cepa Western Reserve (ATCC VR-1354), una cepa Copenhagen, una cepa IHD, una cepa Wyeth (ATCC VR-325), una cepa NYCBOH, una cepa Tian Tan, una cepa Lister, una cepa Ankara (ATCC VR-1508 o ATTC VR1566), una cepa URSS, o una cepa ACAM2000.

En la presente se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden la composición según la descripción en la presente y un excipiente farmacéuticamente aceptable. Además, en la presente se proporcionan composiciones farmacéuticas, en donde el excipiente comprende uno o más de un agente amortiguador, un estabilizador, un antioxidante, un aglutinante, un diluyente, un agente dispersante, un agente de control de velocidad, un lubricante, un deslizante, un desintegrante, un plastificante, un conservante o cualquier combinación de los mismos. Además, en la presente se proporcionan composiciones farmacéuticas, en donde el excipiente comprende dihidrógeno fosfato disódico dihidrato, dihidrógeno fosfato de sodio dihidrato, cloruro sódico, mio-inositol, sorbitol, o cualquier combinación de los mismos. Además, en la presente se proporcionan composiciones farmacéuticas, en donde la composición farmacéutica no comprende un conservante. Además, en la presente se proporcionan composiciones farmacéuticas, que comprenden además uno o más de un conservante, un diluyente y un portador. Además, en la presente se proporcionan composiciones farmacéuticas, que comprenden además un principio activo adicional o una sal del mismo. Además, en la presente se proporcionan composiciones farmacéuticas, en donde el excipiente es agua estéril. Además, en la presente se proporcionan composiciones farmacéuticas, que comprenden además un principio activo adicional, en donde el principio activo adicional es un agente anticancerígeno o un virus oncolítico adicional.

En la presente se proporcionan métodos para reducir el crecimiento de un célula cancerosa, en donde los métodos comprenden administrar a una célula cancerosa: la composición o la composición farmacéutica como se describe en la presente.

En la presente se proporcionan métodos para tratar el cáncer, el método comprende: administrar a un sujeto que tiene un cáncer, la composición o la composición farmacéutica como se describe en la presente. Además, en la presente se proporcionan métodos, en donde

la administración comprende una administración intratumoral, una administración intraperitoneal, una administración oral, una administración intravenosa, una administración intranasal, una administración sublingual, una administración rectal, una administración transdérmica o cualquier combinación de las mismas. Además, en la presente se proporcionan métodos que comprenden la administración de una terapia adicional, en donde la terapia adicional comprende quimioterapia, radiación, terapia viral oncolítica con un virus adicional, tratamiento con proteínas inmunomoduladoras, terapia celular con T CAR, un agente anticancerígeno o cualquier combinación de los mismos. En la presente, se proporcionan además métodos en donde la terapia adicional comprende la administración de un agente inmunomodulador que comprende un anticuerpo anti-CD33 y la región variable del mismo, un anticuerpo anti-CD11b y la región variable del mismo, un inhibidor COX2, una citocina, una quimiocina, un anticuerpo anti-CTLA4 o un fragmento de unión a antígeno del mismo, un anticuerpo anti-PD-1 o un fragmento de unión a antígeno del mismo, un anticuerpo anti-PD-L1, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o un agonista de TLR.

En la presente se proporcionan métodos de tratamiento que comprenden administrar a un sujeto que los necesite la composición o la composición farmacéutica descrita en la presente. Además, en la presente se proporcionan métodos, en donde la administración comprende una administración intratumoral. Además, en la presente se proporcionan métodos, en donde la administración comprende una administración sistémica. Además, en la presente se proporcionan métodos, en donde la administración sistémica comprende al menos uno de: una administración intraperitoneal, una administración oral, una administración intravenosa, una administración intranasal, una administración sublingual, una administración rectal, una administración transdérmica o cualquier combinación de las mismas. En la presente se proporcionan métodos, en donde el sujeto tiene un cáncer, y en donde el cáncer es al menos uno de: un melanoma, un carcinoma hepatocelular, un cáncer de mama, un cáncer de pulmón, un cáncer de pulmón de células no pequeñas, un cáncer peritoneal, un cáncer de próstata, un cáncer de vejiga, un cáncer de ovario, un leucemia, un linfoma, un carcinoma de células renales, un cáncer de páncreas, un carcinoma epitelial, un adenocarcinoma de la unión gástrica/GE, un cáncer de cuello uterino, un carcinoma de colon, un cáncer colorrectal, un cáncer duodenal, un adenocarcinoma pancreático, un adenoide quístico, un sarcoma, un mesotelioma, un glioblastoma multiforme, un astrocitoma, un mieloma múltiple, un carcinoma de próstata, un carcinoma hepatocelular, un colangiocarcinoma, un adenocarcinoma pancreático, un carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, un carcinoma cervical de células escamosas, un osteosarcoma, un carcinoma

epitelial de ovario, un linfoma linfoblástico agudo o una neoplasia mieloproliferativa, o cualquier combinación de los mismos. Además, en la presente se proporcionan métodos, en donde la composición o la composición farmacéutica se administra en un dosificación de aproximadamente 10^6 UPF/mL a aproximadamente 10^{10} UPF/mL del virus oncolítico. Además, en la presente se proporcionan métodos, en donde la composición o la composición farmacéutica se administra en un dosificación de aproximadamente 3 x 10^9 UPF/mL del virus oncolítico. Además, en la presente se proporcionan métodos, en donde la composición o la composición farmacéutica se administra en tres dosis, y en donde cada una de las tres dosis se administra en una cantidad y período de administración independiente de cualquier otra dosis. Además, en la presente se proporcionan métodos, en donde las tres dosis se administran en una primera dosis, una segunda dosis y una tercera dosis, y, en donde la primera dosis es más baja que la segunda dosis, y la segunda dosis es más baja que la tercera dosis. Además, en la presente se proporcionan métodos, en donde las tres dosis se administran en una primera dosis, una segunda dosis y una tercera dosis, y, en donde la primera dosis es más alta que la segunda dosis, y la segunda dosis es más alta que la tercera dosis. Además en la presente se proporcionan métodos, en donde el periodo de administración para las tres dosis es cada uno de, independientemente, aproximadamente 1 día, aproximadamente 2 días, aproximadamente 3 días, aproximadamente 4 días, aproximadamente 5 días, aproximadamente 6 días, aproximadamente 1 semana, aproximadamente 2 semanas, aproximadamente 3 semanas, aproximadamente 4 semanas, aproximadamente 6 semanas, aproximadamente 7 semanas, aproximadamente 8 semanas, aproximadamente 9 semanas, aproximadamente 10, semanas, aproximadamente 12 semanas, aproximadamente 4 meses, aproximadamente 5 meses, aproximadamente 6 meses, aproximadamente 7 meses, aproximadamente 8 meses, aproximadamente 9 meses, aproximadamente 10 meses, aproximadamente 11 meses o aproximadamente 1 año. Además en la presente se proporcionan métodos, en donde la composición o la composición farmacéutica comprende independientemente una forma de dosificación líquida que se administra en un volumen de aproximadamente 1 mL a aproximadamente 5 mL, de aproximadamente 5 mL a 10 mL, de aproximadamente 15 mL a aproximadamente 20 mL, de aproximadamente 25 mL a aproximadamente 30 mL, de aproximadamente 30 mL a aproximadamente 50 mL, de aproximadamente 50 mL a aproximadamente 100 mL, de aproximadamente 100 mL a 150 mL, de aproximadamente 150 mL a aproximadamente 200 mL, de aproximadamente 200 mL a aproximadamente 250 mL, de aproximadamente 250 mL a aproximadamente 300 mL, de aproximadamente 300 mL a aproximadamente 350 mL, de aproximadamente 350 mL a aproximadamente 400 mL, de aproximadamente 400 mL a

aproximadamente 450 mL, de aproximadamente 450 mL a 500 mL, de aproximadamente 500 mL a 750 mL, o de aproximadamente 750 mL a 1000 mL. Además, se proporcionan en la presente métodos, en donde la composición o la composición farmacéutica se administra en una forma farmacéutica líquida, una forma farmacéutica sólida, una forma farmacéutica inhalable, una forma farmacéutica intranasal, una formulación liposomal, una forma farmacéutica que contenga nanopartículas, una forma farmacéutica con micropartículas, una forma farmacéutica polimérica, o cualquier combinación de las mismas. Además en la presente se proporcionan métodos, en donde la composición o la composición farmacéutica se administra durante una duración de aproximadamente 1 día, aproximadamente 2 días, aproximadamente 3 días, aproximadamente 4 días, aproximadamente 5 días, aproximadamente 6 días, aproximadamente 1 semana, aproximadamente 2 semana, aproximadamente 3 semanas, aproximadamente 4 semanas, aproximadamente 6 semanas, aproximadamente 7 semanas, aproximadamente 8 semanas, aproximadamente 9 semanas, aproximadamente 10, semanas, aproximadamente 12 semanas, aproximadamente 4 meses, aproximadamente 5 meses, aproximadamente 6 meses, aproximadamente 7 meses, aproximadamente 8 meses, aproximadamente 9 meses, aproximadamente 10 meses, aproximadamente 11 meses, o aproximadamente 1 año. Además, en la presente se proporcionan métodos, en donde la composición o la composición farmacéutica se administra una vez al día, dos veces al día, una vez a la semana, una vez cada dos semanas o una vez cada tres semanas. Además, se proporcionan en la presente métodos, en donde la composición o la composición farmacéutica se administra como una inyección de bolo o una infusión lenta. Además, en la presente se proporcionan métodos, en donde la administración de la composición o la composición farmacéutica da como resultado un primer pico de carga viral después de aproximadamente 1 hora a aproximadamente 3 días, y un segundo pico de carga viral después de aproximadamente 3 días a aproximadamente 10 días de la administración de una primera dosis. Además en la presente se proporcionan métodos, que comprenden la administración de una terapia adicional, en donde la terapia adicional se administra durante una duración de aproximadamente 1 día, aproximadamente 2 días, aproximadamente 3 días, aproximadamente 4 días, aproximadamente 5 días, aproximadamente 6 días, aproximadamente 1 semana, aproximadamente 2 semanas, aproximadamente 3 semanas, aproximadamente 4 semanas, aproximadamente 6 semanas, aproximadamente 7 semanas, aproximadamente 8 semanas, aproximadamente 9 semanas, aproximadamente 10, semanas, o aproximadamente 12 semanas. Además en la presente se proporcionan métodos, en donde la terapia adicional se administra una vez al día, dos veces al día, una vez cada 1 día, una vez cada 2 días, una vez cada 3 días, una vez cada 4 días,

una vez cada 5 días, una vez cada 6 días, una vez cada 1 semana, una vez cada 2 semanas, una vez cada 3 semanas, una vez cada 4 semanas, una vez cada 6 semanas, una vez cada 7 semanas, una vez cada 8 semanas, una vez cada 9 semanas, una vez cada 10, semanas, una vez cada 12 semanas, una vez cada 4 meses, una vez cada 5 meses, una vez cada 6 meses, una vez cada 7 meses, una vez cada 8 meses, una vez cada 9 meses, una vez cada 10 meses, una vez cada 11 meses, o una vez cada 1 año. Además, en la presente se proporcionan métodos, en donde la terapia adicional se administra en una forma farmacéutica líquida, una forma farmacéutica sólida, una forma farmacéutica inhalable, una forma farmacéutica intranasal, una formulación liposomal, una forma farmacéutica que contenga nanopartículas, una forma farmacéutica con micropartículas, una forma farmacéutica polimérica, o cualquier combinación de las mismas. Además, en la presente se proporcionan métodos, en donde la terapia adicional se administra por vía oral, por vía intravenosa, por inyección intratumoral, por inyección intraperitoneal o por radiación. Además, en la presente se proporcionan métodos, en donde la terapia adicional comprende quimioterapia, radiación, terapia viral oncolítica con un virus adicional, tratamiento con proteínas inmunomoduladoras, terapia celular con T CAR, un agente anticancerígeno o cualquier combinación de los mismos. En la presente, se proporcionan además métodos en donde la terapia adicional comprende la administración de un agente inmunomodulador que comprende un anticuerpo anti-CD33 y la región variable del mismo, un anticuerpo anti-CD11b y la región variable del mismo, un inhibidor COX2, una citocina, una quimiocina, un anticuerpo anti-CTLA4 o un fragmento de unión a antígeno del mismo, un anticuerpo anti-PD-1 o un fragmento de unión a antígeno del mismo, un anticuerpo anti-PD-L1, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o un agonista de TLR. Además, en la presente se proporcionan métodos, en donde la terapia adicional comprende la administración del agente anticancerígeno, en donde el agente anticancerígeno es un agente quimioterapéutico. Además, en la presente se proporcionan métodos, en donde el sujeto es humano.

Otros objetos, características y ventajas de la presente invención se harán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada. Debe entenderse, sin embargo, que la descripción detallada y los ejemplos específicos, al tiempo que indican las modalidades preferidas de la invención, se dan sólo a modo de ilustración, ya que diversos cambios y modificaciones dentro del espíritu y el alcance de la invención se harán evidentes para los expertos en la técnica de esta descripción detallada.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Las características novedosas de la divulgación se establecen con particularidad en las reivindicaciones adjuntas. Una mejor comprensión de las características y ventajas de la presente divulgación se obtendrá con referencia a la siguiente descripción detallada que establece modalidades ilustrativas, en las cuales se utilizan los principios de la presente divulgación.

La FIGURA 1 muestra el cambio en el volumen tumoral B16, mostrado en milímetros cúbicos en el eje y, después del tratamiento con disolución amortiguadora formulada con vehículo (VFB), o virus vaccinia recombinante que comprende: una deleción de TK (HCCTKM); deleciones de TK y A52R, y sustitución del gen que codifica la proteína A35 con un gen de la viruela vacuna CPXV012 (WO0434N); o deleciones de TK y A52R sin inserción del ácido nucleico exógeno (WO416N).

Las FIGURAS 2A y 2B representan el cambio en el volumen tumoral de Renca (FIGURA 2A) o EMT6 (FIGURA 2B), mostrado en milímetros cúbicos en el eje y, después del tratamiento con disolución amortiguadora formulada en vehículo (VFB), o el virus vaccinia recombinante que comprende: (1) una deleción del gen TK e inserción del ácido nucleico que codifica la proteína V012 del virus de la viruela vacuna; (2) deleción del gen WR158 e inserción del ácido nucleico que codifica la proteína V012 del virus de la viruela vacuna; (3) una deleción del gen TK e inserción de ácido nucleico que codifica el factor regulador de interferón 7 dominante negativo (dnIRF7); o (4) una deleción del gen TK e inserción de ácido nucleico que codifica el factor regulador de interferón viral 3 (vIRF3).

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA DIVULGACIÓN

En tanto que se han mostrado y descrito modalidades preferidas de esta divulgación en la presente, será obvio para los expertos en la técnica que estas modalidades se proporcionan a manera de ejemplo solamente. Numerosas variaciones, cambios y sustituciones ahora se presentarán a aquellos expertos en la técnica sin apartarse de la presente divulgación. Se debe entender que se pueden emplear diferentes alternativas a las modalidades de la presente divulgación descritas en la presente al practicar la divulgación.

Esta divulgación proporciona, en algunas modalidades, virus oncolíticos recombinantes y métodos de uso de dichos virus oncolíticos para el tratamiento del cáncer. En algunas modalidades, los virus oncolíticos de esta divulgación comprenden la modificación en el genoma viral que codifica los ácidos nucleicos exógenos para mejorar la inmunoterapia oncolítica remodelando el microentorno tumoral y con un mejor suministro sistémico. La

presente divulgación se refiere además a la composición de la materia que comprende estos virus oncolíticos, y el método de uso y los kits para los tratamientos contra el cáncer.

Ciertas definiciones

Como se utiliza en la presente, las formas singulares “un”, “una” y “el/la” pueden referirse tanto al singular como al plural, a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Como se utiliza en la presente, el término “comprende” puede significar “incluye”. Así, “que comprende una o más modificaciones en el genoma viral” puede significar “que incluye al menos una de las modificaciones en el genoma viral” sin excluir otros elementos. En caso de conflicto, prevalecerá la presente memoria descriptiva, incluyendo las explicaciones de términos. Además, los materiales, métodos y ejemplos son solo ilustrativos y no pretenden ser limitantes. Los términos “aproximadamente” y “alrededor de” pueden significar dentro de un intervalo de error aceptable para el valor particular determinado por un experto en la materia, el cual dependerá en parte de cómo se mide o determine el valor, por ejemplo, las limitaciones del sistema de medición. Por ejemplo, “aproximadamente” puede significar dentro de desviación estándar de 1 o más de 1, según la práctica en el valor dado. Donde se describen valores particulares en la solicitud y reivindicaciones, a menos que se señale de otro modo, se debe asumir que el término “aproximadamente” significa un intervalo de error aceptable para el valor particular, tal como ±10 % del valor modificado por el término “aproximadamente”.

El término “virus oncolítico recombinante” como se define en la presente incluye un cepa de virus oncolítico diseñado para eliminar o eliminar funcionalmente una o más secuencias endógenas de ácidos nucleicos y/o insertar o insertar parcialmente una o más secuencias exógenas de ácidos nucleicos. El término también incluye la sustitución de una o más secuencias endógenas de ácidos nucleicos en un genoma viral por uno o más ácidos nucleicos exógenos en el mismo o diferente loci.

El término “ cantidad eficaz”, como se usa en la presente, puede referirse a una cantidad de un agente (como un virus oncolítico recombinante divulgado en la presente, así como otros agentes anticancerígenos) que es suficiente para lograr resultados beneficiosos o deseados. Una cantidad eficaz (también denominada cantidad terapéuticamente eficaz) puede variar dependiendo de uno o más de: el sujeto y la enfermedad condición que se está tratando, el peso y la edad del sujeto, la gravedad de la enfermedad o afección, la forma de administración y similares, que pueden determinarse fácilmente por un experto en la técnica.

Los efectos terapéuticos beneficiosos pueden incluir, pero no se limitan a, la habilitación de determinaciones diagnósticas; mejora de una enfermedad, síntoma, trastorno o afección patológicos; reducción o prevención de la aparición de una enfermedad, síntoma, trastorno o afección; y generalmente contrarrestar una enfermedad, síntoma, trastorno o afección patológicos.

Descripción general

En la presente se proporcionan composiciones y métodos relacionados con la inhibición de la presentación del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) clase I dentro de las células infectadas por virus como un medio para (i) reducir la respuesta inmunitaria dirigida al virus y a las células infectadas por virus, al tiempo que aumenta la respuesta inmunitaria dirigida al tumor circundante. En la presente se proporcionan composiciones y métodos para los virus oncolíticos recombinantes modificados genéticamente para activar la presentación del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) clase II en todo el microentorno tumoral, al tiempo que ayudan a superar la resistencia inmunitaria a las terapias de oncología inmunitaria (por ejemplo, terapias con inhibidores de puntos de control inmunitario) mediadas por la regulación a la baja de la presentación del MHC II mediada por el tumor.

En algunas modalidades, el virus oncolítico recombinante es un virus vaccinia, en donde el virus vaccinia puede ser modificado de tal manera que el virus (i) se elimina para el inhibidor de MHC II natural de vaccinia; y (ii) se ha diseñado para expresar un inhibidor de MHC I del virus de la viruela vacuna. Se demuestra en la presente, en algunos aspectos, que la sustitución del gen WR158 del virus vaccinia que codifica la proteína A35 (NCBI No. de acceso: YP_233040) con una secuencia de ADN que codifica el promotor viral P7,5 (SEQ ID NO: 1) que impulsa la expresión de la proteína de la viruela vacuna CPXV012 (No. de acceso NCBI: NP_619801) (SEQ ID NO: 2) o con una secuencia de ADN que codifica la proteína de la viruela vacuna CPXV203 puede dar lugar a una mayor actividad terapéutica que el mismo virus sin esta sustitución.

En algunas modalidades, el inhibidor de MHC I se puede seleccionar de uno o más de los inhibidores de TAP, tales como UL49,5; ICP47; US6, BNLF2a.

En algunas modalidades, se puede lograr una mejor activación de la presentación de MHC II mediante otros métodos, incluyendo o excluyendo la deleción del inhibidor natural de MHC II de vaccinia. Estos otros métodos incluyen, pero no se limitan a, la modificación del

virus vaccinia recombinante, de modo que el genoma viral se modifica mediante la inserción del gen que codifica al menos una proteína inhibidora de la apoptosis o una proteína activadora de la muerte celular necrótica; una proteína potenciadora de la autofagia (por ejemplo, HMGB1); una asparaginil endopeptidasa; un transactivador clase II (CIITA); un interferón-gamma; un activador de los receptores tipo Toll (TLR); un activador de la maduración de las células dendríticas (CC) (por ejemplo, osteopontina o TNF-alfa), o un ligando Fas.

En algunas modalidades, la inhibición de la presentación del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) clase I se puede lograr mediante otros métodos, incluyendo o excluyendo la inserción de un gen del virus de la viruela vacuna que expresa un inhibidor de MHC I. Estos otros métodos incluyen, pero no se limitan a, la inserción de un gen exógeno en el genoma viral a partir de uno o más de un inhibidor de MHC I derivado de un herpesvirus, tal como el antígeno nuclear codificado por el virus de Epstein-Barr 1 (EBNA1) o proteínas BNLF2a, proteínas ICP47 o UL49,5 codificadas por el virus del herpes simple, proteínas codificadas por el virus del herpes simple, proteínas US6, US2, US3 US11 o gp48 codificadas por el citomegalovirus humano (HCMV), proteína BNLF2a codificada por el virus de Epstein-Barr, proteína kK3, vIRF3 o kK5 codificada por el herpesvirus asociado al sarcoma de Kaposi (KSHV), o la forma dominante negativa de IRF7.

Otras proteínas virales que regulan el MHC I incluyen, por ejemplo, la proteína E3-19K codificada por adenovirus, la proteína Nef codificada por el virus de la inmunodeficiencia humana 1, la proteína Nef codificada por el virus de la inmunodeficiencia humana 2, y la proteína Nef codificada por el virus de la inmunodeficiencia en simios 1.

Virus oncolíticos

En la presente se proporcionan composiciones que comprenden un virus oncolítico que se modifica. Las modificaciones incluyen la adición de un ácido nucleico exógeno descrito en la presente. Otras modificaciones incluyen la adición de una modificación genómica como se describe en la presente. Los virus oncolíticos ejemplares para su inclusión en la composición descrita en la presente incluyen, sin limitación, un poxvirus, un virus adeno asociado, un adenovirus, el virus de la enfermedad de Newcastle (VEN), Reovirus (RV), mengovirus, virus del mixoma (MYXV), virus del sarampión (MV), virus del herpes simple (VHS), virus Vaccinia (VV), virus de la estomatitis vesicular (VSV), y el virus de la polio (VP). Estos virus oncolíticos tienen una proclividad a las células cancerosas de objetivo

específicamente, y tras la replicación del virus causan muerte celular significativa y regresión tumoral. En algunas modalidades, los virus oncolíticos como se describen en la presente, eliminan células cancerosas o tumorales a través de mecanismos como la lisis directa de dichas células, estimulando la respuesta inmune hacia dichas células, apoptosis, expresión de proteínas tóxicas, autofagia e interrupción de la síntesis de proteínas, inducción de inmunidad antitumoral, o cualquier combinación de las mismas. En algunas modalidades, el poxvirus comprende un betaentomopoxvirus, un yatapoxvirus, un cervidpoxvirus, un gammaentomopoxvirus, un leporipoxvirus, un suipoxvirus, un molluscipoxvirus, un crocodylidpoxvirus, un alphaentomopoxvirus, un capripoxvirus, un avipoxvirus, o un parapoxvirus. En algunas modalidades, el poxvirus comprende un virus vaccinia. En algunas modalidades, el virus de la viruela es un virus vaccinia.

Con base en estos enfoques, también se proporcionan composiciones y métodos para la terapia tumoral, de tal manera que la respuesta inmunitaria dirigida a las células infectadas en el tumor se reduce y, en su lugar, las células tumorales no infectadas se dirigen mejor (por ejemplo, este enfoque puede reducir la inmunidad antiviral a favor de la respuesta inmunitaria antitumoral).

En la presente se proporcionan virus recombinantes que incorporan modificación genómica, incluyendo inserciones, mutaciones o deleciones, así como inserción de genes exógenos descritos en la presente. En algunas modalidades, tales modificaciones se generan por recombinación espontánea con un vector de transferencia. Por ejemplo, el vector, que puede ser un plásmido circular o un fragmento de ADN lineal, puede comprender una secuencia de ADN deseada para ser añadida al genoma viral seguido por un gen que codifica una proteína fluorescente fluorescente floxada bajo un fuerte promotor viral. Tales componentes pueden estar flanqueados por 200 a 1000 bases de longitud de secuencia de ADN homóloga al ADN genómico viral inmediatamente anterior e inmediatamente posterior al sitio de integración deseado, que dirigen la integración específica del sitio de la carga útil del vector más el indicador. El ADN vectorial purificado se transfiere en una línea celular adherente susceptible a virus, por ejemplo: 143B sembrado en aproximadamente un millón de células en un solo pozo de una placa de cultivo celular de 6 pozos. Las células transfectadas se infectan con un virus en donde se pretende integrar el ADN del vector. La recombinación entre el vector y el genoma viral ocurre espontáneamente durante la replicación viral. De uno a tres días después de la infección, el virus recombinante (junto con el virus parental) se recolecta de las células transfectadas mediante la eliminación del medio y la lisis de la monocapa celular. El virus recombinante se purifica del virus parental mediante

la selección de placa. Las placas de varios pozos (por ejemplo, 96 pozos, tratadas para cultivo celular adherente) se siembran con entre $1,2 \times 10^4$ - $3,0 \times 10^4$ células por pozo el día de la selección de la placa. El lisado que comprende un mezcla de virus recombinante y parental se administra por ultrasonidos, luego se diluye en medio de cultivo celular y se distribuye entre los pozos en la fila superior de una placa de 96 pozos sembrada. El medio de la fila infectada se mezcla y se transfiere a la siguiente fila adyacente de células en la placa. El proceso de dilución en serie se realiza para todas las hileras de la placa de selección. Las placas infectadas se almacenan en una incubadora de cultivo celular durante dos a tres días para permitir el desarrollo de placas. Las placas formadas por virus recombinante son fluorescentes debido a la expresión génica del indicador y se identifican mediante un microscopio de fluorescencia. Las placas recombinantes se recogen manualmente utilizando una micropipeta monocanal; normalmente se recogen de 0,5 a 3,0 microlitros de material de cada placa. Las placas preferidas son redondas, uniformes en intensidad indicadora y solas dentro de su pozo. Las placas recogidas se congelan, se descongelan y, a continuación, se diluyen y se utilizan para infectar placas de selección de 96 pozos adicionales. Una población pura (totalmente GFP-positiva) de placas recombinantes se logra después de varias rondas de selección. El gen indicador se elimina del genoma viral mediante la transección de células con un vector que codifica la recombinasa cre bajo un promotor viral. Las células transfectadas están infectadas con virus positivo para el indicador, lo que permite que el indicador expresado elimine el indicador floxado. El virus libre de indicadores se purifica mediante la selección de placas de la misma manera que se ha descrito anteriormente, dirigiéndose a las placas carentes de GFP que están solas en sus pozos.

Virus vaccinia recombinantes

En algunas modalidades, el virus oncolítico es un virus vaccinia. Como se usa indistintamente en la presente, el término “virus vaccinia recombinante” o “virus vaccinia recombinante”, puede relacionarse con un virus vaccinia que ha sido modificado. Ejemplos de modificaciones incluyen, sin limitación, la introducción de mutaciones virales de cadena principal, para expresar genes/péptidos de un virus vaccinia, o la eliminación de genes, en donde la modificación facilita, entre otras cosas, una mayor respuesta inmune. En algunas modalidades, la introducción de una mutación viral de cadena principal comprende una deleción completa o una deleción parcial de uno o más genes de virulencia, o sustituciones por uno o más genes de virulencia viral (ejemplos no limitativos incluyen genes que se sabe que inhiben las citocinas involucradas en la respuesta inmune de Th1, o en la señalización inmune innata, o inhibidores de otros componentes de la respuesta inmune, o con genes de

virulencia de vaccinia intercambiados con genes más o menos potentes de función equivalente de otros poxvirus).

Las modificaciones en el genoma del virus pueden estar en uno o más lugares dentro del genoma. En algunas modalidades, las modificaciones en el genoma del virus se encuentran contiguamente en el genoma. En algunas modalidades, las modificaciones en el genoma del virus están distribuidas por todo el genoma.

Los virus vaccinia ejemplares incluyen, sin limitación, las siguientes cepas para su modificación mediante la inclusión de un constructo de fusión descrito en la presente: Virus vaccinia de la Reserva Occidental (ATCC VR-1354), virus vaccinia Ankara (ATCC VR-1508), virus vaccinia Ankara (ATCC VR-1566), virus vaccinia de cepa Wyeth (ATCC VR-1536), o virus vaccinia Wyeth (ATCC VR-325). Además, en algunas modalidades, los virus vaccinia recombinantes son versiones modificadas de un tipo silvestre o una cepa atenuada del virus vaccinia. Ejemplos no limitativos de las cepas del virus vaccinia incluyen cepas de la Reserva Occidental del virus de vaccinia, cepa Copenhagen, cepa Wyeth (NYCBOH), cepa Tian Tan, cepa Lister, cepa URSS, cepa Ankara, cepa NYVAC y virus vaccinia recombinante Ankara (MVA). Las cepas ejemplares adicionales para su inclusión en las composiciones descritas en la presente son, sin limitación, el virus vaccinia de la cepa de la Reserva Occidental, una cepa Copenhague, una cepa IHD, una cepa Wyeth, una cepa NYCBOH, una cepa Tian Tan, una cepa Lister, una cepa Ankara, una cepa URSS o una cepa ACAM2000. La cepa base del virus vaccinia modificada según se expone en el presente documento puede incluir una o más mutaciones con respecto a su cepa madre, por ejemplo, pero sin limitarse a, una o más de las siguientes: deleción en TK (también denominada en la presente como “TK-”); deleción en A52 (también denominada en la presente “A52-”). Un virus vaccinia ejemplar es el virus vaccinia de la Reserva Occidental. Cualquier virus vaccinia conocido, o modificaciones de los mismos que correspondan a las proporcionadas en la presente o conocidas por los expertos en la técnica también están cubiertos en el alcance de esta solicitud.

Modificación que inhibe la presentación de MHC I.

La presentación de péptidos en el complejo mayor de histocompatibilidad I, o MHC I, es una vía en la que los péptidos se presentan en las células para alertar al sistema inmunitario de las células infectadas por virus. Por ejemplo, una célula infectada puede presentar un péptido viral en MHC I, alertando así a los linfocitos T citotóxicos para destruir estas células. Tras la infección de un huésped con un virus oncolítico recombinante, se puede inhibir la

presentación de péptidos en el MHC I.

En algunas modalidades de esta divulgación, en la presente se proporcionan modificaciones del virus oncolítico recombinante que proporcionan inhibición o inhibición parcial de la presentación de MHC I. La modificación puede comprender una inserción o inserción parcial de un inhibidor exógeno de MHC I. La inserción del inhibidor de MHC I puede ser proporcionada por un ácido nucleico exógeno que codifica dicho inhibidor de MHC I. El ácido nucleico exógeno que codifica dicho inhibidor de MHC I puede insertarse en una secuencia de ácidos nucleicos de un genoma viral oncolítico, tal como el virus de la viruela vacuna. En algunos casos, el inhibidor de MHC I se inserta en una región no de codificación. En otros casos, el inhibidor se inserta en una secuencia de ácidos nucleicos que codifica una proteína viral del virus oncolítico. En ciertos casos, el inhibidor de MHC I se inserta en una región del genoma viral oncolítico que permite que el virus se reproduzca en las células tumorales. En ciertos casos, en lo que respecta al virus de la viruela vacuna, el inhibidor de MHC I puede insertarse en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9 o al menos 10 genes. El gen que codifica la proteína del virus de la viruela vacuna puede ser CPXV012, CPXV203, o cualquier combinación de los mismos. En algunas modalidades, la proteína del virus de la viruela vacuna, incluyendo cualquier combinación de sustitución, inserción y deleción, puede dar lugar a una secuencia con menos de 100 %, 99 %, 98 %, 97 %, 96 %, 95 %, 94 %, 93 %, 92 %, 91 %, 90 % o menos homología de secuencia con la secuencia de tipo silvestre del gen viral o una proteína viral codificada por el gen. La presentación por MHC I puede disminuirse en al menos 1%, al menos 2%, al menos 5%, al menos 10%, al menos 15%, al menos 20%, al menos 25%, al menos 30%, al menos 35%, al menos 40%, al menos 45%, al menos 50%, al menos 55%, al menos 65%, al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 95%, o al menos 100%.

El ácido nucleico exógeno, en algunas modalidades, puede codificar al menos un inhibidor de TAP. El ácido nucleico exógeno, en algunas modalidades, puede codificar al menos un gen seleccionado del grupo que consiste en: Proteína del antígeno nuclear 1 codificado por el virus de Epstein-Barr (EBNA1), proteína ICP47 codificada por el virus del herpes simple, proteína UL49,5 codificada por el virus del herpes simple, proteína US6, US2, US3 o US11 codificada por el citomegalovirus humano (HCMV), proteína BNLF2a codificada por el virus de Epstein-Barr, proteína E3-19K codificada por adenovirus, proteína gp48 codificada por citomegalovirus, proteína Nef codificada por el virus de la inmunodeficiencia humana, proteína kK3, vIRF3 o kK5 codificada por el virus del herpes asociado al sarcoma de

Kaposi (KSHV), o una forma dominante negativa de IRF7.

Modificación que activa la presentación de MHC clase II

En la presente, en algunas modalidades de esta divulgación, se proporcionan modificaciones del virus oncolítico recombinante que causan la activación de la presentación de MHC II, en donde la modificación puede comprender al menos uno de los siguientes aspectos: i) una deleción o deleción parcial de uno o más inhibidores de MHC II (por ejemplo, inhibidores naturales de MHC II); ii) inserción de proteínas inhibidoras de la apoptosis o proteínas activadoras de la muerte celular necrótica; o cualquier combinación de las mismas. La modificación puede ser una deleción de un gen de virus oncolítico. La modificación puede ser una deleción (una deleción completa o parcial) del gen que codifica A35. La modificación de la deleción de la codificación A35 puede ser una deleción o deleción funcional del gen viral WR158. En algunas modalidades, el inhibidor de MHC II, incluyendo cualquier combinación de sustitución, inserción y deleción, puede dar lugar a una secuencia con menos de 100 %, 99 %, 98 %, 97 %, 96 %, 95 %, 94 %, 93 %, 92 %, 91 %, 90 % o menos homología de secuencia con la secuencia de tipo silvestre del gen viral o una proteína viral codificada por el gen, que es el inhibidor natural del MHC II del virus. La presentación de MHC II se puede activar o potenciar en al menos 1 %, al menos 2 %, al menos 5 %, al menos 10 %, al menos 15 %, al menos 20 %, al menos 25 %, al menos 30 %, al menos 35 %, al menos 40 %, al menos 45 %, al menos 50 %, al menos 55 %, al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 95 % o al menos 100 %, en comparación con un virus que no comprende la modificación que activa o potencia la presentación de MHC II, pero que es de otra manera idéntico.

La modificación que provoca la activación o potenciación de la presentación de MHC II puede incluir la inserción de uno o más genes seleccionados del grupo que consiste en: una proteína inhibidora de la apoptosis o una proteína activadora de la muerte celular necrótica; una proteína potenciadora de la autofagia; una asparaginil endopeptidasa; un transactivador de clase II (CIITA); un interferón-gamma; un activador de los receptores tipo Toll (TLR); un activador de la maduración de células dendríticas (DC) (por ejemplo, osteopontina o TNF-alfa). En ciertos casos, el potenciador de MHC II puede modificarse para incluir secuencias secretoras y dominios de permeabilidad celular para proporcionar un efecto de testigo inmunológico. En algunos casos, la proteína potenciadora de la autofagia comprende HMGB1, PIAS3, LUZ, ITAC, una fractalcina, un dominio funcional o fragmento o variante de los mismos, o cualquier combinación de los mismos. En algunos casos, la proteína potenciadora de la

autofagia comprende HMGB1. En algunos casos, la HMGB1 comprende una secuencia de ácidos nucleicos como la que se estable en la SEQ ID NO: 4 o una secuencia de aminoácidos como la que se estable en la SEQ ID NO: 5. En algunos casos, la secuencia secretora comprende una secuencia señal derivada de IgE. En algunos casos, la secuencia señal derivada de IgE comprende una secuencia de ácidos nucleicos como la que se establece en la SEQ ID NO: 6 o una secuencia de aminoácidos como la que se estable en la SEQ ID NO: 7. En algunos casos, el HMGB1 se modifica con una secuencia de señal derivada de IgE, en donde el HMGB1 modificado comprende una secuencia de ácidos nucleicos como se establece en SEQ ID NO: 8 o una secuencia de aminoácidos como la que se establece en la SEQ ID NO: 9.

La regulación al alza concurrente del MHC II (que idealmente ocurre en las células no infectadas, pero eso no es un requisito) conduce a un objetivo más eficiente de los antígenos tumorales (la regulación a la baja del MHC II es uno de los mecanismos comunes de resistencia tumoral a los anticuerpos anti-PD1/PDL1, por ejemplo).

En la presente se proporcionan modificaciones del virus oncolítico recombinante que proporcionan inhibición o inhibición parcial de la presentación de MHC I como se describe en la presente, y proporcionan además la activación de la presentación de MHC II como se describe en la presente. En algunos casos, las modificaciones están en ubicaciones separadas en el genoma. En algunos casos, las modificaciones se encuentran en la misma ubicación en el genoma. En algunos casos, las modificaciones se producen en lugares adyacentes del genoma.

Otras modificaciones múltiples

En algunas modalidades, en la presente se proporcionan vacunas que comprenden virus oncolíticos recombinantes con inserciones, mutaciones o deleciones en el genoma viral (también denominado en la presente cadena principal viral). En el caso de los virus vaccinia oncolíticos, son preferiblemente recombinantes o seleccionados para tener baja toxicidad y acumularse en el tejido objetivo. En algunas modalidades, las modificaciones en la cadena principal viral/genoma viral son modificaciones que hacen que el virus vaccinia no se replique o que comprenden una capacidad replicativa deficiente. Ejemplos no limitativos de tales modificaciones pueden incluir mutaciones en los siguientes genes virales: TK, A1, A2, VH1, A33, I7, F13L, A36R, A34R, A46R, A49R, B8R, B14R, B15R, B18R, C12L, C4, C16, SPI-1, SPI-2, B15R, VGF, E3L, K1L, K3L, K7R, A41L, M2L, N1L, A52R, un dominio o fragmento

funcional o una variante de los mismos, o cualquier combinaciones de los mismos.

En algunas modalidades, relativas al virus vaccinia, la mutación viral de cadena principal se selecciona del grupo que consiste en: una deleción completa o parcial del gen B18R; una deleción completa o parcial del gen C12L; una deleción completa o parcial del gen C4; una deleción completa o parcial del gen C16; una deleción completa o parcial del gen SPI-1; una deleción completa o parcial del gen SPI-2; una deleción completa o parcial del gen VGF; una deleción completa o parcial del gen E3L; una deleción completa o parcial del gen K3L; una deleción completa o parcial del gen A41L; una deleción completa o parcial del gen A52R; una deleción completa o parcial del gen B15R; una deleción completa o parcial del gen K7R; una deleción completa o parcial del gen B14R; una deleción completa o parcial del gen N1L; una deleción completa o parcial del gen K1L; una deleción completa o parcial del gen M2L; una deleción completa o parcial del gen A49R; una deleción completa o parcial del gen VH1; una deleción completa o parcial del gen A33; una deleción completa o parcial del gen A1; una deleción completa o parcial del gen A2; una deleción completa o parcial del gen I, y una deleción completa o parcial del gen A46R. Como se utiliza en la presente, la referencia a un gen viral se puede hacer mediante referencia a la proteína codificada por el gen (por ejemplo, el gen A33 puede significar un gen que codifica la proteína A33).

En algunas modalidades, la mutación de la cadena principal viral del virus oncolítico, incluyendo cualquier combinación de sustitución, inserción y deleción, puede dar lugar a una secuencia con menos de 100 %, 99 %, 98 %, 97 %, 96 %, 95 %, 94 %, 93 %, 92 %, 91 %, 90 % o menos homología de secuencia con la secuencia de tipo silvestre del gen viral o una proteína viral codificada por el gen. En algunas modalidades, el gen viral y la proteína codificada por el mismo se seleccionan del grupo que consiste en: TK, A1, A2, VH1, A33, I7, F13L, A36R, A34R, A46R, A49R, B8R, B14R, B15R, B18R, C12L, C4, C16, SPI-1, SPI-2, B15R, VGF, E3L, K1L, K3L, K7R, A41L, M2L, N1L, y A52R.

En algunas modalidades, la cadena principal viral puede comprender 1, 2, 3, 4, 5, o más mutaciones en la secuencia de aminoácidos de la proteína viral (por ejemplo, un antígeno viral). El antígeno viral se selecciona en algunos ejemplos del grupo que consiste en: TK, A1, A2, VH1, A33, I7, F13L, A36R, A34R, A46R, A49R, B8R, B14R, B15R, B18R, C12L, C4, C16, SPI-1, SPI-2, B15R, VGF, E3L, K1L, K3L, K7R, A41L, M2L, N1L, y A52R.

La divulgación proporciona en algunas modalidades, virus oncolíticos recombinantes que comprenden una mutación más en el genoma del virus (cadena principal del virus) de tal

manera que la mutación aumenta el brazo de células T de la respuesta inmune. Una mutación puede ser la adición, deleción o sustitución de uno o más ácidos nucleicos en el genoma viral (cepas tipo silvestre o cepas nativas atenuadas del virus oncolítico).

En ejemplos no limitativos, la mutación puede ser deleción completa o parcial de genes que se sabe que inhiben las citocinas involucradas en la respuesta inmune Th1. Como ejemplos no limitativos, la mutación puede ser una deleción de ácido nucleico que codifica B8R (proteínas de unión a interferón gamma (IFN-g); C12L (proteínas de unión a interleucina-18 (IL-18)).

En otro ejemplo no limitativo, la mutación puede ser una deleción completa o parcial de genes en la señalización inmune innata. Como ejemplos no limitativos, la mutación puede ser deleción de ácido nucleico que codifica B18R (proteínas de unión al interferón tipo I (IFN)); A52R (proteínas inhibidoras del factor nuclear κB (NF-κB); E3L (inhibidores de la proteína cinasa (PKR)); C4, C16 (inhibidores de la vía STING).

En otro ejemplo no limitativo, la mutación puede ser una deleción completa o parcial de genes que codifican proteínas para inhibir otros componentes de la respuesta inmune. Como ejemplos no limitativos, la mutación puede ser una deleción completa o parcial de ácido nucleico que codifica B15, K7, B14, N1, K1, M2, A49, VH1, A46, o una combinación de los mismos. La mutación viral de cadena principal también puede incluir la sustitución de los genes de virulencia oncolítica con genes principalmente potentes de función equivalente de otros poxvirus.

Las variantes de secuencia de aminoácidos de los polipéptidos de la presente divulgación pueden ser variantes sustitucionales, insercionales o de deleción. Una mutación en un gen que codifica un polipéptido viral puede afectar 1, 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, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500 o más aminoácidos no contiguos o contiguos del polipéptido, en comparación con el tipo silvestre.

Las variantes de deleción pueden carecer de uno o más residuos de la proteína nativa o de tipo silvestre. Los residuos individuales se pueden eliminar, o se puede eliminar la totalidad o parte de un dominio (tal como un dominio catalítico o vinculante). Se puede

introducir un codón de parada (por sustitución o inserción) en una secuencia de ácidos nucleicos de codificación para generar una proteína truncada. Los mutantes de inserción típicamente implican la adición de material en un punto no terminal en el polipéptido. Esto puede incluir la inserción de un epítopo inmunorreactivo o simplemente uno o más residuos. También se pueden generar adiciones terminales, llamadas proteínas de fusión.

Las variantes sustitutivas comprenden típicamente el intercambio de un aminoácido por otro en uno o más sitios dentro de la proteína y pueden ser diseñadas para modular una o más propiedades del polipéptido, con o sin la pérdida de otras funciones o propiedades. Las sustituciones pueden ser conservativas, es decir, un aminoácido se reemplaza por uno de forma y carga similares. Las sustituciones conservativas pueden incluir, por ejemplo, los cambios de: alanina a serina; arginina a lisina; asparagina a glutamina o histidina; aspartato a glutamato; cisteína a serina; glutamina a asparagina; glutamato a aspartato; glicina a prolina; histidina a asparagina o glutamina; isoleucina en leucina o valina; leucina a valina o isoleucina; lisina por arginina; metionina a leucina o isoleucina; fenilalanina a tirosina, leucina o metionina; serina a treonina; treonina a serina; triptófano a tirosina; tirosina a triptófano o fenilalanina; y valina a isoleucina o leucina. Alternativamente, las sustituciones pueden ser no conservativas, de tal manera que una función o actividad del polipéptido se ve afectada. Los cambios no conservativos suelen implicar la sustitución de un residuo por uno químicamente diferente, tal como un aminoácido polar o cargado por un aminoácido no polar o sin carga, y viceversa.

Los virus oncolíticos proporcionados en la presente comprenden inserciones, mutaciones, deleciones o sustituciones adicionales en el genoma viral. Un virus oncolítico puede comprender una o más inserciones adicionales o parciales de ácidos nucleicos exógenos que codifican uno o más receptores de quimiocina, proteína TRIF o un dominio funcional de los mismos, o uno o más de leptina, interleucina-2 (IL2), interleucina-15/ interleucina-15Ra (IL15/IL15Ra), interleucina-7 (IL-7), proteína de fusión leptina-interleucina (por ejemplo, proteína de fusión leptina-IL2 mostrada en el Ejemplo 1 como L2). En algunos casos, el ácido nucleico codifica para una secuencia de aminoácidos de IL15 como la que se establece en la SEQ ID NO: 10. En algunos casos, el ácido nucleico codifica para una secuencia de aminoácidos de IL-7 como la que se establece en cualquiera de las SEQ ID NO: 13 o 14. Modificaciones tales como la inserción del receptor de quimiocina, es la inserción de CCL5, CXCR4, CCR2, CCL2 de tipo silvestre y/o tipo mutante. En algunos casos, el ácido nucleico codifica para una secuencia de aminoácidos de CXCR4 como la que se establece en cualquiera de las SEQ ID NO: 18-20. En algunos casos, el ácido nucleico codifica para una secuencia de aminoácidos de CXCR4 como la que se establece en la SEQ ID NO: 18. En

algunos casos, el ácido nucleico codifica para una secuencia de aminoácidos de CCR2 como la que se establece en cualquiera de las SEQ ID NO: 23-24. Un virus oncolítico puede comprender además una o más deleciones adicionales o deleciones parciales de uno o más genes de TK, A1, A2, VH1, A33, I7, F13L, A36R, A34R, A46R, A49R, B8R, B14R, B15R, B18R, C12L, C4, C16, SPI-1, SPI-2, B15R, VGF, E3L, K1L, K3L, K7R, A41L, M2L, N1L, A52R, un dominio o fragmento funcional o una variante de los mismos, o cualquier combinaciones de los mismos. En algunos casos, el virus oncolítico proporcionado en la presente puede comprender una deleción completa o parcial del gen A52R y una inserción de un receptor de quimiocina, tal como CCR2. En algunos casos, el virus oncolítico proporcionado en la presente puede comprender una deleción completa o parcial del gen A52R y una inserción de un receptor de quimiocina, tal como CCR2. En algunos casos, el virus oncolítico proporcionado en la presente puede comprender una deleción completa o parcial de al menos uno de: Genes virales A52R o TK, e inserción de un ácido nucleico exógeno que codifica una proteína de fusión (por ejemplo, una proteína moduladora metabólica fusionada con una citocina, tal como la proteína de fusión leptina-IL2).

El hialuronano (HA) es un elemento estructural de ECM y un glicosaminoglicano lineal de alto peso molecular que consiste en unidades de disacáridos repetidos. Se puede distribuir ampliamente a través de los tejidos conectivo, epitelial y neural, y su nivel de expresión puede ser significativamente elevado en muchos tipos de tumores. Las hialuronidasas son una familia de enzimas que catalizan la degradación de HA. Hay al menos cinco hialuronidasas funcionales identificadas hasta ahora en humanos: HYAL1, HYAL2, HYAL3, HYAL4 y HYAL5 (también denominados PH-20 o SPAM1), entre los cuales PH-20 es el único conocido hasta ahora por ser funcional a un pH relativamente neutro. En algunos casos de la presente divulgación, la combinación de hialuronidasa con otros agentes terapéuticos dirigidos al tumor (tales como los transgenes, también denominados en la presente ácido nucleico exógeno) puede promover el efecto terapéutico del virus oncolítico modificado al menos disminuyendo la ECM y mejorando el transporte del agente terapéutico dentro y entre los tumores.

Algunas modalidades en la presente divulgan un virus oncolítico modificado que puede comprender un ácido nucleico exógeno que codifica una proteína asociada a la membrana que es capaz de degradar el hialuronano, tal como la hialuronidasa. Cabe señalar que el término “hialuronidasa” como se usa en la presente puede referirse a cualquier enzima o fragmento de la misma que catalice la degradación de HA en un tumor, incluyendo, pero sin limitarse a, PH-20 y sus homólogos de otras especies, así como otras proteínas modificadas genéticamente/de diseño con función enzimática similar. Como se usa en la presente, la

hialuronidasa puede referirse a una clase de enzimas degradantes de hialuronano. En algunos casos, la PH-20 comprende una secuencia de aminoácidos como la que se describe en la SEQ ID NO: 26. En algunos casos la hialuronidasa comprende una secuencia de aminoácidos como la que se establece en la SEQ ID NO: 28. En algunos casos, la hialuronidasa comprende adicionalmente una secuencia secretora. En algunos casos, la secuencia secretora comprende una secuencia señal derivada de IgE. En algunos casos, la secuencia señal derivada de IgE comprende la secuencia de aminoácidos como la que se establece en la SEQ ID NO: 7. En algunos casos, la hialuronidasa con la secuencia señal derivada de IgE comprende la secuencia de ácidos nucleicos como la que se establece en la SEQ ID NO: 29 o la secuencia de aminoácidos como la que se establece en la SEQ ID NO: 30.

Vacunas, composiciones farmacéuticas y suministro de los virus vaccinia recombinantes

La presente divulgación proporciona además una composición farmacéutica o inmunogénica para el tratamiento de un cáncer. Además, la presente divulgación proporciona, en algunas modalidades, una composición farmacéutica o inmunogénica que puede incluir una vacuna que comprende un virus vaccinia recombinante como se describió anteriormente y portadores adecuados. La vacuna puede suministrarse como un kit que incluye la vacuna recombinante basada en el virus vaccinia como se ha descrito anteriormente o una composición farmacéutica de la vacuna recombinante basada en el virus vaccinia como se ha descrito anteriormente. Las composiciones farmacéuticas para el suministro de la vacuna pueden ser para suministro parenteral u oral o suministro nasal. Las composiciones farmacéuticas se pueden administrar a un ser humano al menos una vez. Las composiciones farmacéuticas se pueden administrar al ser humano más de una vez.

También se proporcionan en la presente virus vaccinia recombinantes, composiciones y/o vacunas que comprenden un virus vaccinia recombinante para su uso como un medicamento o vacuna.

En algunas modalidades, una composición farmacéutica que comprende una vacuna que comprende un virus vaccinia recombinante, siempre y cuando en la presente se puede administrar a un sujeto a una dosis de 10^6 a 10^9 UPF, a una dosis de 10^6 a 5 x 10^8 UPF, o de 10^7 a 10^8 UPF. Los virus vaccinia recombinantes proporcionados en la presente también pueden administrarse a un sujeto a una dosis de 10^6, 10^7 UPF, 10^8, o 5 x 10^8 UPF. Los virus vaccinia recombinantes proporcionados en la presente pueden administrarse a un sujeto

humano a una dosis de 10^7 UPF, 10^8 UPF, o 5 x 10^8 UPF.

Un virus vaccinia recombinante, una composición de la vacuna, o una composición farmacéutica como se describe en la presente se pueden formular en una disolución en un rango de concentración de 10^4 a 10^9 UPF/mL, 10^5 a 5x10^8 UPF/mL, de 10^6 a 10^8 UFP/mL, o de 10^7 a 10^8 UFP/mL. En algunas modalidades, una dosis de vacunación para humanos puede comprender de aproximadamente 10^6 a 10^9 UPF, incluyendo una dosis de aproximadamente 10^6 UPF, aproximadamente 10^7 UPF o aproximadamente 10^8 UPF. En algunas modalidades, la dosis para los seres humanos puede comprender al menos aproximadamente 2 x 10^7 UFP, al menos aproximadamente 3 x 10^7 UFP, al menos aproximadamente 5 x 10^7 UFP, por lo menos aproximadamente 1 x 10^8 UFP, al menos aproximadamente 2 x 10^8 UFP, en un volumen de 0,1 a 0,5 ml.

Las composiciones farmacéuticas/inmunogénicas proporcionadas en la presente generalmente pueden incluir uno o más portadores farmacéuticamente aceptables y/o aprobados, aditivos, antibióticos, conservantes, adyuvantes, diluyentes y/o estabilizadores. Tales sustancias auxiliares pueden ser agua, disolución salina, glicerol, etanol, agentes humectantes o emulsionantes, sustancias amortiguadoras de pH, o similares. Los portadores adecuados suelen ser moléculas grandes y lentamente metabolizadas, tales como proteínas, polisacáridos, ácidos polilácticos, ácidos poliglicólicos, aminoácidos poliméricos, copolímeros de aminoácidos, agregados lipídicos o similares.

Se puede emplear un régimen homólogo de primer impulso en donde se puede administrar un virus vaccinia recombinante como se define en la presente en una primera dosificación. Se pueden proporcionar una o más administraciones posteriores de un virus vaccinia recombinante como se define en la presente para estimular la respuesta inmunitaria proporcionada en la primera administración. En algunas modalidades, uno o más antígenos suministrados por un virus vaccinia recombinante puede ser igual o similar a los de la primera administración.

Una composición farmacéutica que comprende un virus vaccinia recombinante, tal como se proporciona en la presente, puede administrarse al sujeto en una dosis única, o en dosis múltiples (tal como 2, 3, 4, etc.). El virus vaccinia recombinante se puede administrar en una primera administración (cebado) y una segunda administración (refuerzo). La primera dosis puede comprender de aproximadamente 10^6 a aproximadamente 10^9 UFP/mL de un virus vaccinia recombinante, y la segunda dosis puede comprender de aproximadamente 10^6

a aproximadamente 10^9 UFP/mL de virus vaccinia recombinante. La primera y la segunda dosis pueden comprender al menos 1000 UFP/mL del virus de la vacuna modificada.

La segunda dosis de la vacuna o la composición farmacéutica/inmunogénica se puede administrar desde 24 horas hasta aproximadamente 3 meses, tal como desde aproximadamente 7 días hasta aproximadamente 2 meses, después de la administración del primer dosis. La segunda dosis puede ser una dosis de refuerzo.

El virus vaccinia recombinante o una composición farmacéutica/inmunogénica que comprende un virus vaccinia recombinante puede administrarse por vía sistémica intraperitoneal, local, parenteral, subcutánea, intravenosa, intramuscular o intranasal. La vacuna se puede administrar con un adyuvante, tal como un adyuvante como se describe en la presente.

Otro aspecto de esta divulgación se refiere a un método para afectar una respuesta inmunitaria en un sujeto que comprende administrar al sujeto un virus vaccinia recombinante como se describe en la presente, una vacuna que comprende el mismo, o una composición farmacéutica/inmunogénica que comprende el virus vaccinia recombinante o las composiciones de la vacuna como se describen en la presente.

Un protocolo de inmunización puede incluir la inmunización con más de un antígeno juntos en una dosis única de la vacuna, dosis múltiples, y dosis múltiples con antígenos diferentes en cada dosis. En algunas modalidades, un protocolo de inmunización puede incluir la inmunización con un antígeno y un adyuvante. Los adyuvantes, en el contexto actual, pueden incluir citocinas y otras moléculas inmunomoduladoras, tales como los agonistas de TLR (receptor tipo Toll) y sus derivados que estimulan la respuesta inmune.

También se proporcionan en la presente métodos de tratamiento de una enfermedad, trastorno o afección mediante la administración de un virus vaccinia recombinante como se describe en la presente. En algunas modalidades, la cantidad de un virus vaccinia recombinante de esta divulgación administrada a un sujeto puede estar entre aproximadamente 10^3 y 10^{12} partículas virales infecciosas o unidades formadoras de placas (PFU, por sus siglas en inglés), o entre aproximadamente 10^5 y 10^{10} PFU, o entre aproximadamente 10^5 y 10^8 PFU, o entre aproximadamente 10^8 y 10^{10} PFU. En algunas modalidades, la cantidad de un virus vaccinia recombinante de esta divulgación administrada a un sujeto puede estar entre aproximadamente 10^3 y 10^{12} partículas virales o unidades formadoras de placas (PFU), o entre aproximadamente 10^5 y 10^{10} PFU, o entre

aproximadamente 10^5 y 10^8 PFU, o entre aproximadamente 10^8 y 10^{10} PFU. En algunas modalidades, un virus vaccinia recombinante de esta divulgación puede administrarse a una dosis que puede comprender de aproximadamente 10^3 PFU/dosis a aproximadamente 10^4 PFU/dosis, de aproximadamente 10^4 PFU/dosis a aproximadamente 10^5 PFU/dosis, de aproximadamente 10^5 PFU/dosis a aproximadamente 10^6 PFU/dosis, de aproximadamente 10^7 PFU/dosis a aproximadamente 10^8 PFU/dosis, de aproximadamente 10^9 PFU/dosis a aproximadamente 10^{10} PFU/dosis, de aproximadamente 10^{10} PFU/dosis a aproximadamente 10^{11} PFU/dosis, de aproximadamente 10^{11} PFU/dosis a aproximadamente 10^{12} PFU/dosis, de aproximadamente 10^{12} PFU/dosis a aproximadamente 10^{13} PFU/dosis, de aproximadamente 10^{13} PFU/dosis a aproximadamente 10^{14} PFU/dosis, o de aproximadamente 10^{14} PFU/dosis a aproximadamente 10^{15} PFU/dosis. En algunas modalidades, un virus vaccinia recombinante de esta divulgación puede administrarse a una dosis que puede comprender aproximadamente 2 x 10^3 PFU/dosis, 3 x 10^3 PFU/dosis, 4 x 10^3 PFU/dosis, 5 x 10^3 PFU/dosis, 6 x 10^3 PFU/dosis, 7 x 10^3 PFU/dosis, 8 x 10^3 PFU/dosis, 9 x 10^3 PFU/dosis, aproximadamente 10^4 PFU/dosis, aproximadamente 2 x 10^4 PFU/dosis, aproximadamente 3 x 10^4 PFU/dosis, aproximadamente 4 x 10^4 PFU/dosis, aproximadamente 5 x 10^4 PFU/dosis, aproximadamente 6 x 10^4 PFU/dosis, aproximadamente 7 x 10^4 PFU/dosis, aproximadamente 8 x 10^4 PFU/dosis, aproximadamente 9 x 10^4 PFU/dosis, aproximadamente 10^5 PFU/dosis, 2 x 10^5 PFU/dosis, 3 x 10^5 PFU/dosis, 4 x 10^5 PFU/dosis, 5 x 10^5 PFU/dosis, 6 x 10^5 PFU/dosis, 7 x 10^5 PFU/dosis, 8 x 10^5 PFU/dosis, 9 x 10^5 PFU/dosis, aproximadamente 10^6 PFU/dosis, aproximadamente 2 x 10^6 PFU/dosis, aproximadamente 3 x 10^6 PFU/dosis, aproximadamente 4 x 10^6 PFU/dosis, aproximadamente 5 x 10^6 PFU/dosis, aproximadamente 6 x 10^6 PFU/dosis, aproximadamente 7 x 10^6 PFU/dosis, aproximadamente 8 x 10^6 PFU/dosis, aproximadamente 9 x 10^6 PFU/dosis, aproximadamente 10^7 PFU/dosis, aproximadamente 2 x 10^7 PFU/dosis, aproximadamente 3 x 10^7 PFU/dosis, aproximadamente 4 x 10^7 PFU/dosis, aproximadamente 5 x 10^7 PFU/dosis, aproximadamente 6 x 10^7 PFU/dosis, aproximadamente 7 x 10^7 PFU/dosis, aproximadamente 8 x 10^7 PFU/dosis, aproximadamente 9 x 10^7 PFU/dosis, aproximadamente 10^8 PFU/dosis, aproximadamente 2 x 10^8 PFU/dosis, aproximadamente 3 x 10^8 PFU/dosis, aproximadamente 4 x 10^8 PFU/dosis, aproximadamente 5 x 10^8 PFU/dosis, aproximadamente 6 x 10^8 PFU/dosis, aproximadamente 7 x 10^8 PFU/dosis, aproximadamente 8 x 10^8 PFU/dosis, aproximadamente 9 x 10^8 PFU/dosis, aproximadamente 10^9 PFU/dosis, aproximadamente 2 x 10^9 PFU/dosis, aproximadamente 3 x 10^9 PFU/dosis, aproximadamente 4 x 10^9 PFU/dosis, aproximadamente 5 x 10^9 PFU/dosis, aproximadamente 6 x 10^9 PFU/dosis, aproximadamente 7 x 10^9 PFU/dosis, aproximadamente 8 x 10^9 PFU/dosis, aproximadamente 9 x 10^9 PFU/dosis, aproximadamente 10^{10} PFU/dosis, aproximadamente 2 x 10^{10} PFU/dosis, aproximadamente 3 x 10^{10} PFU/dosis,

aproximadamente 4 x 10^{10} PFU/dosis, aproximadamente 5 x 10^{10} PFU/dosis, aproximadamente 6 x 10^{10} PFU/dosis, aproximadamente 7 x 10^{10} PFU/dosis, aproximadamente 8 x 10^{10} PFU/dosis, aproximadamente 9 x 10^{10} PFU/dosis, aproximadamente 10^{10} PFU/dosis, aproximadamente 2 x 10^{10} PFU/dosis, aproximadamente 3 x 10^{10} PFU/dosis, aproximadamente 4 x 10^{10} PFU/dosis, aproximadamente 5 x 10^{10} PFU/dosis, aproximadamente 6 x 10^{10} PFU/dosis, aproximadamente 7 x 10^{10} PFU/dosis, aproximadamente 8 x 10^{10} PFU/dosis, aproximadamente 9 x 10^{10} PFU/dosis, aproximadamente 10^{11} PFU/dosis, aproximadamente 2 x 10^{11} PFU/dosis, aproximadamente 3 x 10^{11} PFU/dosis, aproximadamente 4 x 10^{11} PFU/dosis, aproximadamente 5 x 10^{11} PFU/dosis, aproximadamente 6 x 10^{11} PFU/dosis, aproximadamente 7 x 10^{11} PFU/dosis, aproximadamente 8 x 10^{11} PFU/dosis, aproximadamente 9 x 10^{11} PFU/dosis, o aproximadamente 10^{12} PFU/dosis, de aproximadamente 10^{12} PFU/dosis a aproximadamente 10^{13} PFU/dosis, de aproximadamente 10^{13} PFU/dosis a aproximadamente 10^{14} PFU/dosis, o de aproximadamente 10^{14} PFU/dosis a aproximadamente 10^{15} PFU/dosis. En algunas modalidades, se puede administrar un virus vaccinia recombinante de esta divulgación a una dosis que puede comprender 3 x 10^{9} UFP/dosis. En algunas modalidades, se puede administrar un virus vaccinia oncolítico modificado de esta divulgación a una dosis que puede comprender hasta 5 x 10^{9} UFP/dosis.

En algunas modalidades, un virus vaccinia recombinante de esta divulgación puede administrase a una dosis que puede comprender de aproximadamente 10^{3} partículas virales/dosis a aproximadamente 10^{4} partículas virales /dosis, de aproximadamente 10^{4} partículas virales /dosis a aproximadamente 10^{5} partículas virales /dosis, de aproximadamente 10^{5} partículas virales /dosis a aproximadamente 10^{6} partículas virales /dosis, de aproximadamente 10^{7} partículas virales /dosis a aproximadamente 10^{8} partículas virales /dosis, de aproximadamente 10^{9} partículas virales /dosis a aproximadamente 10^{10} partículas virales /dosis, de aproximadamente 10^{10} partículas virales /dosis a aproximadamente 10^{11} partículas virales /dosis, de aproximadamente 10^{11} partículas virales /dosis a aproximadamente 10^{12} partículas virales /dosis, de aproximadamente 10^{12} partículas virales /dosis a aproximadamente 10^{13} partículas virales /dosis, de aproximadamente 10^{13} partículas virales /dosis a aproximadamente 10^{14} partículas virales /dosis, o de aproximadamente 10^{14} partículas virales /dosis a aproximadamente 10^{15} partículas virales /dosis.

En algunas modalidades, un virus vaccinia recombinante de esta divulgación puede administrarse a una dosis que puede comprender de aproximadamente 10^{3} PFU/kg a aproximadamente 10^{4} PFU/kg, de aproximadamente 10^{4} PFU/kg a aproximadamente 10^{5}

PFU/kg, de aproximadamente 10^5 PFU/kg a aproximadamente 10^6 PFU/kg, de aproximadamente 10^7 PFU/kg a aproximadamente 10^8 PFU/kg, de aproximadamente 10^9 PFU/kg a aproximadamente 10^{10} PFU/kg, de aproximadamente 10^{10} PFU/kg a aproximadamente 10^{11} PFU/kg, de aproximadamente 10^{11} PFU/kg a aproximadamente 10^{12} PFU/kg, de aproximadamente 10^{12} PFU/kg a aproximadamente 10^{13} PFU/kg, de aproximadamente 10^{13} PFU/kg a aproximadamente 10^{14} PFU/kg, o de aproximadamente 10^{14} PFU/kg a aproximadamente 10^{15} PFU/kg. En algunas modalidades, un virus vaccinia oncolítico modificado de esta divulgación puede administrarse a una dosis que puede comprender aproximadamente 2 x 10^3 PFU/kg, 3 x 10^3 PFU/kg, 4 x 10^3 PFU/kg, 5 x 10^3 PFU/kg, 6 x 10^3 PFU/kg, 7 x 10^3 PFU/kg, 8 x 10^3 PFU/kg, 9 x 10^3 PFU/kg, aproximadamente 10^4 PFU/kg, aproximadamente 2 x 10^4 PFU/kg, aproximadamente 3 x 10^4 PFU/kg, aproximadamente 4 x 10^4 PFU/kg, aproximadamente 5 x 10^4 PFU/kg, aproximadamente 6 x 10^4 PFU/kg, aproximadamente 7 x 10^4 PFU/kg, aproximadamente 8 x 10^4 PFU/kg, aproximadamente 9 x 10^4 PFU/kg, aproximadamente 10^5 PFU/kg, 2 x 10^5 PFU/kg, 3 x 10^5 PFU/kg, 4 x 10^5 PFU/kg, 5 x 10^5 PFU/kg, 6 x 10^5 PFU/kg, 7 x 10^5 PFU/kg, 8 x 10^5 PFU/kg, 9 x 10^5 PFU/kg, aproximadamente 10^6 PFU/kg, aproximadamente 2 x 10^6 PFU/kg, aproximadamente 3 x 10^6 PFU/kg, aproximadamente 4 x 10^6 PFU/kg, aproximadamente 5 x 10^6 PFU/kg, aproximadamente 6 x 10^6 PFU/kg, aproximadamente 7 x 10^6 PFU/kg, aproximadamente 8 x 10^6 PFU/kg, aproximadamente 9 x 10^6 PFU/kg, aproximadamente 10^7 PFU/kg, aproximadamente 2 x 10^7 PFU/kg, aproximadamente 3 x 10^7 PFU/kg, aproximadamente 4 x 10^7 PFU/kg, aproximadamente 5 x 10^7 PFU/kg, aproximadamente 6 x 10^7 PFU/kg, aproximadamente 7 x 10^7 PFU/kg, aproximadamente 8 x 10^7 PFU/kg, aproximadamente 9 x 10^7 PFU/kg, aproximadamente 10^8 PFU/kg, aproximadamente 2 x 10^8 PFU/kg, aproximadamente 3 x 10^8 PFU/kg, aproximadamente 4 x 10^8 PFU/kg, aproximadamente 5 x 10^8 PFU/kg, aproximadamente 6 x 10^8 PFU/kg, aproximadamente 7 x 10^8 PFU/kg, aproximadamente 8 x 10^8 PFU/kg, aproximadamente 9 x 10^8 PFU/kg, aproximadamente 10^9 PFU/kg, aproximadamente 2 x 10^9 PFU/kg, aproximadamente 3 x 10^9 PFU/kg, aproximadamente 4 x 10^9 PFU/kg, aproximadamente 5 x 10^9 PFU/kg, aproximadamente 6 x 10^9 PFU/kg, aproximadamente 7 x 10^9 PFU/kg, aproximadamente 8 x 10^9 PFU/kg, aproximadamente 9 x 10^9 PFU/kg, aproximadamente 10^{10} PFU/kg, aproximadamente 2 x 10^{10} PFU/kg, aproximadamente 3 x 10^{10} PFU/kg, aproximadamente 4 x 10^{10} PFU/kg, aproximadamente 5 x 10^{10} PFU/kg, aproximadamente 6 x 10^{10} PFU/kg, aproximadamente 7 x 10^{10} PFU/kg, aproximadamente 8 x 10^{10} PFU/kg, aproximadamente 9 x 10^{10} PFU/kg, aproximadamente 10^{10} PFU/kg, aproximadamente 2 x 10^{10} PFU/kg, aproximadamente 3 x 10^{10} PFU/kg, aproximadamente 4 x 10^{10} PFU/kg, aproximadamente 5 x 10^{10} PFU/kg,

aproximadamente 6 x 10^{10} PFU/kg, aproximadamente 7 x 10^{10} PFU/kg, aproximadamente 8 x 10^{10} PFU/kg, aproximadamente 9 x 10^{10} PFU/kg, aproximadamente 10^{11} PFU/kg, aproximadamente 2 x 10^{11} PFU/kg, aproximadamente 3 x 10^{11} PFU/kg, aproximadamente 4 x 10^{11} PFU/kg, aproximadamente 5 x 10^{11} PFU/kg, aproximadamente 6 x 10^{11} PFU/kg, aproximadamente 7 x 10^{11} PFU/kg, aproximadamente 8 x 10^{11} PFU/kg, aproximadamente 9 x 10^{11} PFU/kg, o aproximadamente 10^{12} PFU/kg, de aproximadamente 10^{12} PFU/kg a aproximadamente 10^{13} PFU/kg, de aproximadamente 10^{13} PFU/kg a aproximadamente 10^{14} PFU/kg, o de aproximadamente 10^{14} PFU/kg a aproximadamente 10^{15} PFU/kg. En algunas modalidades, se puede administrar un virus vaccinia recombinante de esta divulgación a una dosis que puede comprender 3 x 10^{9} UFP/kg. En algunas modalidades, se puede administrar un virus vaccinia recombinante de esta divulgación a una dosis que puede comprender hasta 5 x 10^{9} UFP/kg.

En algunas modalidades, un virus vaccinia recombinante de esta divulgación puede administrarse a una dosis que puede comprender de aproximadamente 10^{3} partículas virales/kg a aproximadamente 10^{4} partículas virales/kg, de aproximadamente 10^{4} partículas virales/kg a aproximadamente 10^{5} partículas virales/kg, de aproximadamente 10^{5} partículas virales/kg a aproximadamente 10^{6} partículas virales/kg, de aproximadamente 10^{7} partículas virales/kg a aproximadamente 10^{8} partículas virales/kg, de aproximadamente 10^{9} partículas virales/kg a aproximadamente 10^{10} partículas virales/kg, de aproximadamente 10^{10} partículas virales/kg a aproximadamente 10^{11} partículas virales/kg, de aproximadamente 10^{11} partículas virales/kg a aproximadamente 10^{12} partículas virales/kg, de aproximadamente 10^{12} partículas virales/kg a aproximadamente 10^{13} partículas virales/kg, de aproximadamente 10^{13} partículas virales/kg a aproximadamente 10^{14} partículas virales/kg, o de aproximadamente 10^{14} partículas virales/kg a aproximadamente 10^{15} partículas virales/kg.

Una forma de dosificación líquida de un virus vaccinia recombinante como se describe en la presente puede comprender, en ciertas modalidades, una dosis viral de aproximadamente 10^{3} PFU/mL a aproximadamente 10^{4} PFU/mL, de aproximadamente 10^{4} PFU/mL a aproximadamente 10^{5} PFU/mL, de aproximadamente 10^{5} PFU/mL a aproximadamente 10^{6} PFU/mL, de aproximadamente 10^{7} PFU/mL a aproximadamente 10^{8} PFU/mL, de aproximadamente 10^{9} PFU/mL a aproximadamente 10^{10} PFU/mL, de aproximadamente 10^{10} PFU/mL a aproximadamente 10^{11} PFU/mL, de aproximadamente 10^{11} PFU/mL a aproximadamente 10^{12} PFU/mL, de aproximadamente 10^{12} PFU/mL a aproximadamente 10^{13} PFU/mL, de aproximadamente 10^{13} PFU/mL a aproximadamente 10^{14} PFU/mL, o de aproximadamente 10^{14} PFU/mL a aproximadamente 10^{15} PFU/mL. En algunas

modalidades, un virus vaccinia recombinante de esta divulgación puede administrarse a una dosis que puede comprender aproximadamente 2 x 10^3 PFU/mL, 3 x 10^3 PFU/mL, 4 x 10^3 PFU/mL, 5 x 10^3 PFU/mL, 6 x 10^3 PFU/mL, 7 x 10^3 PFU/mL, 8 x 10^3 PFU/mL, 9 x 10^3 PFU/mL, aproximadamente 10^4 PFU/mL, aproximadamente 2 x 10^4 PFU/mL, aproximadamente 3 x10^4 PFU/mL, aproximadamente 4 x 10^4 PFU/mL, aproximadamente 5 x 10^4 PFU/mL, aproximadamente 6 x 10^4 PFU/mL, aproximadamente 7 x 10^4 PFU/mL, aproximadamente 8 x 10^4 PFU/mL, aproximadamente 9 x 10^4 PFU/mL, aproximadamente 10^5 PFU/mL, 2 x 10^5 PFU/mL, 3 x 10^5 PFU/mL, 4 x 10^5 PFU/mL, 5 x 10^5 PFU/mL, 6 x 10^5 PFU/mL, 7 x 10^5 PFU/mL, 8 x 10^5 PFU/mL, 9 x 10^5 PFU/mL, aproximadamente 10^6 PFU/mL, aproximadamente 2 x 10^6 PFU/mL, aproximadamente 3 x 10^6 PFU/mL, aproximadamente 4 x 10^6 PFU/mL, aproximadamente 5 x 10^6 PFU/mL, aproximadamente 6 x 10^6 PFU/mL, aproximadamente 7 x 10^6 PFU/mL, aproximadamente 8 x 10^6 PFU/mL, aproximadamente 9 x 10^6 PFU/mL, aproximadamente 10^7 PFU/mL, aproximadamente 2 x 10^7 PFU/mL, aproximadamente 3 x 10^7 PFU/mL, aproximadamente 4 x 10^7 PFU/mL, aproximadamente 5 x 10^7 PFU/mL, aproximadamente 6 x 10^7 PFU/mL, aproximadamente 7 x 10^7 PFU/mL, aproximadamente 8 x 10^7 PFU/mL, aproximadamente 9 x 10^7 PFU/mL, aproximadamente 10^8 PFU/mL, aproximadamente 2 x 10^8 PFU/mL, aproximadamente 3 x 10^8 PFU/mL, aproximadamente 4 x 10^8 PFU/mL, aproximadamente 5 x 10^8 PFU/mL, aproximadamente 6 x 10^8 PFU/mL, aproximadamente 7 x 10^8 PFU/mL, aproximadamente 8 x 10^8 PFU/mL, aproximadamente 9 x 10^8 PFU/mL, aproximadamente 10^9 PFU/mL, aproximadamente 2 x 10^9 PFU/mL, aproximadamente 3 x 10^9 PFU/mL, aproximadamente 4 x 10^9 PFU/mL, aproximadamente 5 x 10^9 PFU/mL, aproximadamente 6 x 10^9 PFU/mL, aproximadamente 7 x 10^9 PFU/mL, aproximadamente 8 x 10^9 PFU/mL, aproximadamente 9 x 10^9 PFU/mL, aproximadamente 10^{10} PFU/mL, aproximadamente 2 x 10^{10} PFU/mL, aproximadamente 3 x 10^{10} PFU/mL, aproximadamente 4 x 10^{10} PFU/mL, aproximadamente 5 x10^{10} PFU/mL, aproximadamente 6 x 10^{10} PFU/mL, aproximadamente 7 x 10^{10} PFU/mL, aproximadamente 8 x 10^{10} PFU/mL, aproximadamente 9 x 10^{10} PFU/mL, aproximadamente 10^{10} PFU/mL, aproximadamente 2 x 10^{10} PFU/mL, aproximadamente 3 x 10^{10} PFU/mL, aproximadamente 4 x 10^{10} PFU/mL, aproximadamente 5 x 10^{10} PFU/mL, aproximadamente 6 x 10^{10} PFU/mL, aproximadamente 7 x 10^{10} PFU/mL, aproximadamente 8 x 10^{10} PFU/mL, aproximadamente 9 x 10^{10} PFU/mL, aproximadamente 10^{11} PFU/mL, aproximadamente 2 x 10^{11} PFU/mL, aproximadamente 3 x 10^{11} PFU/mL, aproximadamente 4 x 10^{11} PFU/mL, aproximadamente 5 x 10^{11} PFU/mL, aproximadamente 6 x 10^{11} PFU/mL, aproximadamente 7 x 10^{11} PFU/mL, aproximadamente 8 x 10^{11} PFU/mL, aproximadamente 9 x 10^{11} PFU/mL, o aproximadamente 10^{12} PFU/mL, de aproximadamente 10^{12} PFU/mL a aproximadamente 10^{13} PFU/mL, de aproximadamente 10^{13}

PFU/mL a aproximadamente 10^{14} PFU/mL, o de aproximadamente 10^{14} PFU/mL a aproximadamente 10^{15} PFU/mL. En algunas modalidades, se puede administrar un virus vaccinia recombinante de esta divulgación a una dosis que puede comprender 5 x 10^{9} UFP/mL. En algunas modalidades, se puede administrar un virus vaccinia recombinante de esta divulgación a una dosis que puede comprender hasta 5 x 10^{9} UFP/mL.

En algunos casos, en donde el virus vaccinia recombinante puede administrarse mediante una inyección, la dosificación puede comprender aproximadamente 10^{3} partículas virales por inyección, 10^{4} partículas virales por inyección, 10^{5} partículas virales por inyección, 10^{6} partículas virales por inyección, 10^{7} partículas virales por inyección, 10^{8} partículas virales por inyección, 10^{9} partículas virales por inyección, 10^{10} partículas virales por inyección, 10^{11} partículas virales por inyección, 10^{12} partículas virales por inyección, 2 x 10^{12} partículas virales por inyección, 10^{13} partículas virales por inyección, 10^{14} partículas virales por inyección, o 10^{15} partículas virales por inyección. En otros casos, en donde el virus vaccinia recombinante se administra mediante una inyección, la dosificación puede comprender aproximadamente 10^{3} partículas virales infecciosas por inyección, 10^{4} partículas virales infecciosas por inyección, 10^{5} partículas virales infecciosas por inyección, 10^{6} partículas virales infecciosas por inyección, 10^{7} partículas virales infecciosas por inyección, 10^{8} partículas virales infecciosas por inyección, 10^{9} partículas virales infecciosas por inyección, 10^{10} partículas virales infecciosas por inyección, 10^{11} partículas virales infecciosas por inyección, 10^{12} partículas virales infecciosas por inyección, 2 x 10^{12} partículas virales infecciosas por inyección, 10^{13} partículas virales infecciosas por inyección, 10^{14} partículas virales infecciosas por inyección, o 10^{15} partículas virales infecciosas por inyección. En modalidades adicionales, se puede administrar un virus vaccinia recombinante de esta divulgación a una dosis que puede ser de aproximadamente 10^{3} de dosis inhibitoria de cultivo tisular 50 % (UFP)/kg, 10^{4} UFP/kg, 10^{4} UFP/kg, 10^{4} UFP/kg, 10^{4} UFP/kg, 10^{4} UFP/kg, 10^{4} UFP/kg, 10^{4} UFP/kg, 10^{4} UFP/kg, 10^{4} UFP/kg, 10^{4} UFP/kg, 10^{4} UFP/kg, 3 x 10^{8} UFP/kg, 4x10^{8} UFP/kg, 5x10^{8} UFP/kg, 3 x 10^{9} UFP/kg, 4 x 10^{9} UFP/kg, 5 x 10^{9} UFP/kg, 3x10^{10} UFP/kg, 4x10^{10} UFP/kg, o 4x10^{10} UFP/kg. Se debe tener en cuenta que en la presente 10^{x} se expresa alternativamente como 1 eX. En ciertas modalidades, el virus vaccinia recombinante se puede administrar en una o más dosis. En ciertas modalidades, el virus puede administrarse en una cantidad suficiente para inducir la oncólisis en al menos aproximadamente 20 % de las células en un tumor, en al menos aproximadamente 30 % de las células en un tumor, en al menos aproximadamente 40 % de las células en un tumor, en al menos aproximadamente 50 % de las células de un tumor, en al menos aproximadamente 60 % de las células de un tumor, en al menos

aproximadamente 70 % de las células de un tumor, en al menos aproximadamente 80 % de las células de un tumor, o en al menos aproximadamente 90 % de las células en un tumor.

En ciertas modalidades, una dosis única del virus recombinante puede referirse a la cantidad administrada a un sujeto o a un tumor a lo largo de un período de 1, 2, 5, 10, 15, 20 o 24 horas. En ciertas modalidades, la dosis puede distribuirse a lo largo del tiempo o mediante una inyección separada. En ciertas modalidades, dosis múltiples (por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6 o más dosis) del virus vaccinia pueden administrarse al sujeto, por ejemplo, cuando un segundo tratamiento puede ocurrir dentro de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 días o semanas de un primer tratamiento. En ciertas modalidades, se pueden administrar múltiples dosis del virus oncolítico modificado al sujeto durante un período de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 o más días o semanas. En ciertas modalidades, el virus vaccinia recombinante o la composición farmacéutica como se describe en la presente se puede administrar durante un período de aproximadamente 1 semana a aproximadamente 2 semanas, aproximadamente 2 semanas a aproximadamente 3 semanas, aproximadamente 3 semanas a aproximadamente 4 semanas, aproximadamente 4 semanas a aproximadamente 5 semanas, aproximadamente 6 semanas a aproximadamente 7 semanas, aproximadamente 7 semanas a aproximadamente 8 semanas, aproximadamente 8 semanas a aproximadamente 9 semanas, aproximadamente 9 semanas a aproximadamente 10 semanas, aproximadamente 10 semanas a aproximadamente 11 semanas, aproximadamente 11 semanas a aproximadamente 12 semanas, aproximadamente 12 semanas a aproximadamente 24 semanas, aproximadamente 24 semanas a aproximadamente 48 semanas, aproximadamente 48 semanas o aproximadamente 52 semanas, o más. La frecuencia de administración del virus recombinante o de la composición farmacéutica descrita en la presente puede ser, en ciertos casos, una vez al día, dos veces al día, una vez a la semana, una vez cada tres semanas, una vez cada cuatro semanas (o una vez al mes), una vez cada 8 semanas (o una vez cada 2 meses), una vez cada 12 semanas (o una vez cada 3 meses), o una vez cada 24 semanas (una vez cada 6 meses). En algunas modalidades de los métodos divulgados en la presente, el virus vaccinia recombinante o la composición farmacéutica puede administrarse, independientemente, en una dosis inicial durante un primer período de tiempo, una dosis intermedia durante un segundo período de tiempo, y una dosis alta durante un tercer período de tiempo. En algunas modalidades, la dosis inicial puede ser más baja que la dosis intermedia y la dosis intermedia puede ser más baja que la dosis alta. En algunas modalidades de los métodos divulgados en la presente, el virus vaccinia recombinante o la composición farmacéutica puede administrarse, independientemente, en una dosis alta durante un primer período de tiempo, una dosis

intermedia durante un segundo período de tiempo, y una dosis baja durante un tercer período de tiempo. En algunas modalidades, la dosis inicial puede ser más alta que la dosis intermedia y la dosis intermedia puede ser más alta que la dosis baja. En algunas modalidades, el primer, segundo y tercer período de tiempo pueden ser, independientemente, aproximadamente 1 semana a aproximadamente 2 semanas, aproximadamente 2 semanas a aproximadamente 3 semanas, aproximadamente 3 semanas a aproximadamente 4 semanas, aproximadamente 4 semanas a aproximadamente 5 semanas, aproximadamente 6 semanas a aproximadamente 7 semanas, aproximadamente 7 semanas a aproximadamente 8 semanas, aproximadamente 8 semanas a aproximadamente 9 semanas, aproximadamente 9 semanas a aproximadamente 10 semanas, aproximadamente 10 semanas a aproximadamente 11 semanas, aproximadamente 11 semanas a aproximadamente 12 semanas, aproximadamente 12 semanas a aproximadamente 24 semanas, aproximadamente 24 semanas a aproximadamente 48 semanas, aproximadamente 48 semanas o aproximadamente 52 semanas, o más. En algunas modalidades, se puede administrar un virus vaccinia oncolítico recombinante como se describe en la presente mediante un régimen de sensibilización y refuerzo.

En algunos ejemplos, el sujeto puede ser puesto en una dieta reducida de carbohidratos, por ejemplo, una dieta cetogénica antes, concurrente con, y después de la administración del virus vaccinia oncolítico modificado o la composición farmacéutica que comprende el mismo, como se describe en la presente, de acuerdo con cualquiera de los métodos de tratamiento descritos en la presente. En ciertas modalidades, el sujeto puede ponerse en una dieta que puede comprender consumir menos de 500 gramos de carbohidratos por día, menos de 450 gramos de carbohidratos por día, menos de 450 gramos de carbohidratos por día, menos de 400 gramos de carbohidratos por día, menos de 350 gramos de carbohidratos por día, menos de 300 gramos de carbohidratos por día, menos de 250 gramos de carbohidratos por día, menos de 200 gramos de carbohidratos por día, menos de 150 gramos de carbohidratos por día, menos de 100 gramos de carbohidratos por día, menos de 90 gramos de carbohidratos por día, menos de 80 gramos de carbohidratos por día, menos de 70 gramos de carbohidratos por día, menos de 60 gramos de carbohidratos por día, menos de 50 gramos de carbohidratos por día, menos de 40 gramos de carbohidratos por día, menos de 30 gramos de carbohidratos por día, menos de 20 gramos de carbohidratos por día, o menos de 10 gramos de carbohidratos por día.

Un método ejemplar para el suministro de un virus vaccinia recombinante de la presente divulgación o una composición farmacéutica que comprende la misma, a células

cancerosas o tumorales puede ser a través de la inyección intratumoral. Sin embargo, también se pueden utilizar métodos alternativos de administración, por ejemplo, intravenosa, mediante infusión, parenteral, intravenosa, intradérmica, intramuscular, transdérmica, rectal, intrauretral, intravaginal, intranasal, intratecal o intraperitoneal. Las vías de administración pueden variar con la ubicación y la naturaleza del tumor. En ciertas modalidades, la vía de administración puede ser intradental, transdérmica, parenteral, intravenosa, intramuscular, intranasal, subcutánea, regional (por ejemplo, en la proximidad de un tumor, particularmente con la vasculatura o vasculatura adyacente de un tumor), percutánea, intratecal, intratraqueal, intraperitoneal, intraarterial, intravesical, intratumoral, por inhalación, perfusión, por lavado o por vía oral. Una dosis inyectable del virus vaccinia recombinante se puede administrar como una inyección de bolo o como una infusión lenta. En ciertas modalidades, el virus vaccinia oncolítico modificado se puede administrar al paciente desde una fuente implantada en el paciente. En ciertas modalidades, la administración del virus vaccinia oncolítico modificado puede ocurrir por infusión continua durante un período de tiempo seleccionado. En algunos casos, un virus vaccinia recombinante como se describe en la presente, o una composición farmacéutica que comprende el mismo puede administrarse en una dosis terapéuticamente eficaz por infusión durante un período de aproximadamente 15 minutos, aproximadamente 30 minutos, aproximadamente 45 minutos, aproximadamente 50 minutos, aproximadamente 55 minutos, aproximadamente 60 minutes, aproximadamente 75 minutos, aproximadamente 90 minutos, aproximadamente 100 minutos, o aproximadamente 120 minutos, o más. El virus vaccinia recombinante o la composición farmacéutica de la presente divulgación puede administrarse como una dosis líquida, en donde el volumen total de administración es de aproximadamente 1 mL a aproximadamente 5 mL, aproximadamente 5 mL a 10 mL, aproximadamente 15 mL a aproximadamente 20 mL, aproximadamente 25 mL a aproximadamente 30 mL, aproximadamente 30 mL a aproximadamente 50 mL, aproximadamente 50 mL a aproximadamente 100 mL, aproximadamente 100 mL a 150 mL, aproximadamente 150 mL a aproximadamente 200 mL, aproximadamente 200 mL a aproximadamente 250 mL, aproximadamente 250 mL a aproximadamente 300 mL, aproximadamente 300 mL a aproximadamente 350 mL, aproximadamente 350 mL a aproximadamente 400 mL, aproximadamente 400 mL a aproximadamente 450 mL, aproximadamente 450 mL a 500 mL, aproximadamente 500 mL a 750 mL, o aproximadamente 750 mL a 1000 mL.

Método de uso del virus oncolítico recombinante

Los virus oncolíticos recombinantes descritos en la presente o una composición

farmacéutica o una vacuna que comprende los mismos, como se describió anteriormente, pueden usarse para el cáncer, en inmunoterapia contra el cáncer y en el tratamiento de tumores. Los tumores pueden ser sólidos y líquidos, incluidos, entre otros, el melanoma, carcinoma hepatocelular, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer peritoneal, cáncer de próstata, cáncer de vejiga, cáncer de ovario, leucemia, linfoma, carcinoma de células renales, cáncer de páncreas, carcinoma epitelial, adenocarcinoma de la unión gástrica/GE, cáncer de cuello uterino, carcinoma de colon, cáncer colorrectal, cáncer duodenal, adenocarcinoma pancreático, adenoide quístico, sarcoma, mesotelioma, glioblastoma multiforme, astrocitoma, mieloma múltiple, carcinoma de próstata, carcinoma hepatocelular, colangiocarcinoma, adenocarcinoma pancreático, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, carcinoma cervical de células escamosas, osteosarcoma, carcinoma epitelial de ovario, linfoma linfoblástico agudo o neoplasias mieloproliferativas. Como tal, algunas modalidades de esta divulgación proporcionan un método de tratamiento de un cáncer, un tumor, una inmunoterapia contra el cáncer, mediante la administración de un virus oncolítico recombinante como se describe en la presente, o una composición farmacéutica o inmunogénica que comprende el mismo.

El virus vaccinia recombinante descrito en la presente o una composición farmacéutica o una vacuna que comprende los mismos, como se describió anteriormente, pueden usarse para tratar el cáncer, en inmunoterapia contra el cáncer y en el tratamiento de tumores. Los tumores pueden ser sólidos y líquidos, incluidos, entre otros, el melanoma, carcinoma hepatocelular, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer peritoneal, cáncer de próstata, cáncer de vejiga, cáncer de ovario, leucemia, linfoma, carcinoma de células renales, cáncer de páncreas, carcinoma epitelial, adenocarcinoma de la unión gástrica/GE, cáncer de cuello uterino, carcinoma de colon, cáncer colorrectal, cáncer duodenal, adenocarcinoma pancreático, adenoide quístico, sarcoma, mesotelioma, glioblastoma multiforme, astrocitoma, mieloma múltiple, carcinoma de próstata, carcinoma hepatocelular, colangiocarcinoma, adenocarcinoma pancreático, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, carcinoma cervical de células escamosas, osteosarcoma, carcinoma epitelial de ovario, linfoma linfoblástico agudo o neoplasias mieloproliferativas. Como tal, algunas modalidades de esta divulgación proporcionan un método de tratamiento de un cáncer, un tumor, una inmunoterapia contra el cáncer, mediante la administración de un virus vaccinia recombinante como se describe en la presente, o una composición farmacéutica o inmunogénica que comprende el mismo.

Las células cancerosas que pueden ser tratadas por los métodos de esta divulgación

incluyen las células de la vejiga, sangre, hueso, médula ósea, cerebro, mama, colon, esófago, gastrointestinales, encía, cabeza, riñón, hígado, pulmón, nasofaringe, cuello, ovario, próstata, piel, estómago, testículo, lengua o útero. Además, el cáncer puede ser específicamente del siguiente tipo histológico, aunque no se limita a estos: neoplasia maligna; carcinoma; carcinoma, indiferenciado; carcinoma de células gigantes y fusiformes; carcinoma de células pequeñas; carcinoma papilar; carcinoma de células escamosas; carcinoma linfoepitelial; carcinoma de células basales; carcinoma de pilomatrix; carcinoma de células de transición; carcinoma de células de transición papilar; adenocarcinoma; gastrinoma maligno; colangiocarcinoma; carcinoma hepatocelular; carcinoma hepatocelular combinado y colangiocarcinoma; adenocarcinoma trabecular; carcinoma quístico adenoide; adenocarcinoma en pólipo adenomatoso; adenocarcinoma, poliposis coli familiar; carcinoma sólido; tumor carcinoide, maligno; adenocarcinoma branquiolo-alveolar; adenocarcinoma papilar; carcinoma cromófobo; carcinoma acidófilo; adenocarcinoma oxífilo; carcinoma basófilo; adenocarcinoma de células claras; carcinoma de células granulares; adenocarcinoma folicular; adenocarcinoma papilar y folicular; carcinoma esclerosante no encapsulante; carcinoma cortical suprarrenal; carcinoma endometroideo; carcinoma de apéndice cutáneo; adenocarcinoma apocrino; adenocarcinoma sebáceo; adenocarcinoma ceruminoso; carcinoma mucoepidermoide; cistadenocarcinoma; cistadenocarcinoma papilar; cistadenocarcinoma seroso papilar; cistadenocarcinoma mucinoso; adenocarcinoma mucinoso; carcinoma de células de anillo de sello; carcinoma de conducto infiltrante; carcinoma medular; carcinoma lobular; carcinoma inflamatorio; enfermedad de Paget, mamaria; carcinoma de células acinares; carcinoma adenoscamoso; adenocarcinoma con metaplasia escamosa; timoma maligno; tumor estromal ovárico maligno; teoma, maligno; tumor de células granulosas, maligno; androblastoma, maligno; carcinoma de células de sertoli; tumor de células de leydig, maligno; tumor de células lipídicas, maligno; paraganglioma maligno; paraganglioma extramamario maligno; feocromocitoma; glomangiosarcoma; melanoma maligno; melanoma amelanótico; melanoma de diseminación superficial; melanoma maligno en nevo pigmentado gigante; melanoma de células epitelioides; nevo azul, maligno; sarcoma; fibrosarcoma; histiocitoma fibroso maligno; mixosarcoma; liposarcoma; leiomiosarcoma; rabdomiosarcoma; rabdomiosarcoma embrionario; rabdomiosarcoma alveolar; sarcoma estromal; tumor mixto, maligno; tumor mixto mulleriano; nefroblastoma; hepatoblastoma; carcinosarcoma; mesenquimoma maligno; tumor de brenner maligno; tumor filoides maligno; sarcoma sinovial; mesotelioma maligno; disgerminoma; carcinoma embrionario; teratoma maligno; struma ovarii, maligno; coriocarcinoma; mesonefroma maligno; hemangiosarcoma; hemangioendotelioma maligno; sarcoma de Kaposi;

hemangiopericitoma maligno; linfangiosarcoma; osteosarcoma; osteosarcoma yuxtacortical; condrosarcoma; condroblastoma, maligno; condrosarcoma mesenquimal; tumor de células gigantes de hueso; sarcoma de ewing; tumor odontogénico maligno; odontosarcoma ameloblástico; ameloblastoma maligno; fibrosarcoma ameloblástico; pinealoma maligno; cordoma; glioma maligno; ependimoma; astrocitoma; astrocitoma protoplásmico; astrocitoma fibrilar; astroblastoma; glioblastoma; oligodendroglioma; oligodendroblastoma; neuroectodérmico primitivo; sarcoma cerebeloso; ganglioneuroblastoma; neuroblastoma; retinoblastoma; tumor neurogénico olfativo; meningioma maligno; neurofibrosarcoma; neurilemmoma maligno; tumor de células granulares maligno; linfoma maligno; enfermedad de Hodgkin; enfermedad de Hodgkin; paragranuloma; linfoma maligno, linfocítico pequeño; linfoma maligno de células grandes, difuso; linfoma maligno folicular; micosis fungoides; otros linfomas no Hodgkin especificados; histiocitosis maligna; mieloma múltiple; sarcoma de mastocitos; enfermedad inmunoproliferativa del intestino delgado; leucemia; leucemia linfoide; leucemia de células plasmáticas; eritroleucemia; leucemia de células linfosarcoma; leucemia mieloide; leucemia basofílica; leucemia eosinofílica; leucemia monocítica; leucemia de mastocitos; leucemia megacarioblástica; sarcoma mieloide y leucemia de células pilosas. En algunos casos, los cánceres sólidos que son metastásicos se pueden tratar utilizando los virus oncolíticos recombinantes de esta divulgación, tal como un virus vaccinia oncolítico recombinante que es ventajoso para el suministro sistémico. En algunos casos, los cánceres sólidos que son inaccesibles o de difícil acceso, tal como para el propósito de suministro intratumoral de agentes terapéuticos, se pueden tratar utilizando los virus oncolíticos recombinantes de esta divulgación, tal como un virus oncolítico recombinante que es ventajoso para el suministro sistémico. Los cánceres que están asociados con una mayor expresión de ácidos grasos libres pueden, en algunos ejemplos, tratarse utilizando los virus oncolíticos recombinantes de esta divulgación, tal como un virus vaccinia oncolítico recombinante que es ventajoso para el suministro sistémico y forma cantidades aumentadas de EEV.

Terapias combinadas

Los métodos de esta divulgación comprenden, en algunos aspectos, la administración de un virus oncolítico recombinante como se divulga en la presente o una composición farmacéutica o inmunogénica que comprende el mismo, seguido de, precedido por o en combinación con una o más terapias adicionales. Los ejemplos de la terapia adicional pueden incluir, pero no se limitan a, quimioterapia, radiación, terapia viral oncolítica con un virus adicional, tratamiento con proteínas inmunomoduladoras, un agente anticancerígeno o

cualquier combinación de los mismos. La terapia adicional se puede administrar de forma simultánea o secuencial con respecto a la administración del virus modificado, tal como el virus vaccinia oncolítico. En ciertas modalidades, los métodos de esta divulgación pueden comprender la administración de un virus oncolítico modificado como se divulga en la presente, seguido de, precedido por, o en combinación con uno o más agentes anticancerígenos o terapias contra el cáncer. Los agentes anticancerígenos pueden incluir, pero no se limitan a, agentes quimioterapéuticos, agentes radioterapéuticos, citocinas, inhibidores de punto de control inmune, agentes antiangiogénicos, agentes inductores de apoptosis, anticuerpos anticancerígenos y/o agentes cinasa dependientes de anti-ciclina. En ciertas modalidades, las terapias contra el cáncer pueden incluir quimioterapia, terapia biológica, radioterapia, inmunoterapia, terapia hormonal, terapia antivascular, crioterapia, toxina y/o cirugía o combinaciones de las mismas. En ciertas modalidades, los métodos de esta divulgación pueden incluir la administración de un virus recombinante, divulgado en la presente, seguido de, precedido por o en combinación con un virus oncolítico modificado de esta divulgación.

En ciertas modalidades, el tratamiento con un virus oncolítico recombinante se puede usar solo o en combinación con uno o agentes inmunomoduladores. Un agente inmunomodulador puede incluir cualquier compuesto, molécula o sustancia capaz de suprimir la inmunidad antiviral asociada con un tumor o cáncer. En ciertas modalidades, el agente inmunomodulador puede ser capaz de suprimir la inmunidad innata o la inmunidad adaptativa al virus modificado. Entre los ejemplos no limitativos de agentes inmunomoduladores se incluyen el anticuerpo anti-CD33 o su región variable, un anticuerpo anti-CD11b o una región variable del mismo, un inhibidor de COX2, por ejemplo, celecoxib, citocinas, tales como IL-12, GM-CSF, IL-2 (que tienen una secuencia de aminoácidos como se establece en SEQ ID NO: 33 o 34), IFN3 y IFN-g, y quimiocinas, tales como MIP-1, MCP-1 y IL-8. En ciertas modalidades, el agente inmunomodulador puede incluir moduladores inmunitarios de punto de control, tales como, pero sin limitarse a, anti-CTLA4, anti-PD-1 y anti-PD-L1, y agonistas de TLR (por ejemplo, Poli I:C). En algunos ejemplos, el agente inmunomodulador puede incluir un inhibidor de punto de control inmune, tal como un antagonista de PD-1 (por ejemplo, un anticuerpo antagonista que se une a PD-1), un antagonista de PD-L1 (por ejemplo, un anticuerpo antagonista que se une a PD-L1), un antagonista de CTLA-4 (por ejemplo, un anticuerpo antagonista que se une a CTLA-4), un antagonista de A2AR (por ejemplo, un anticuerpo antagonista que se une a A2AR), un antagonista de B7-H3 (por ejemplo, un anticuerpo antagonista que se une a B7-H3), un antagonista de B7-H4 (por ejemplo, un

anticuerpo antagonista que se une a B7-H4), un antagonista de BTLA (por ejemplo, un anticuerpo antagonista que se une a BTLA), un antagonista de IDO (por ejemplo, un anticuerpo antagonista que se une a IDO), un antagonista de KIR (por ejemplo, un anticuerpo antagonista que se une a KIR), un antagonista de LAG3 (por ejemplo, un anticuerpo antagonista que se une a LAG3), un antagonista de TIM-3 (por ejemplo, un anticuerpo antagonista que se une a TIM3). En algunas modalidades, la terapia adicional puede comprende administrar un regulador de puntos de control inmunitarios. En un ejemplo, el regulador de puntos de control inmunitarios puede ser TGN1412. En un ejemplo, el regulador de puntos de control inmunitarios puede ser NKTR-214. En un ejemplo, el regulador de puntos de control inmunitarios puede ser MEDI0562. En un ejemplo, el regulador de puntos de control inmunitarios puede ser MEDI6469. En un ejemplo, el regulador de puntos de control inmunitarios puede ser MEDI6383. En un ejemplo, el regulador de puntos de control inmunitarios puede ser JTX-2011. En un ejemplo, el regulador de puntos de control inmunitarios puede ser pembrolizumab. En un ejemplo, el regulador de puntos de control inmunitarios puede ser nivolumab. En un ejemplo, el regulador de puntos de control inmunitarios puede ser ipilimumab. En un ejemplo, el regulador de puntos de control inmunitarios puede ser tremelimumab. En un ejemplo, el regulador de puntos de control inmunitarios puede ser atezolizumab. En un ejemplo, el regulador de puntos de control inmunitarios puede ser MGA271. En un ejemplo, el regulador de puntos de control inmunitarios puede ser indoximod. En un ejemplo, el regulador de puntos de control inmunitarios puede ser epacadostat. En un ejemplo, el regulador de puntos de control inmunitarios puede ser lirilumab. En un ejemplo, el regulador de puntos de control inmunitarios puede ser BMS-986016. En un ejemplo, el regulador de puntos de control inmunitarios puede ser MPDL3280A. En un ejemplo, el regulador de puntos de control inmunitarios puede ser avelumab. En un ejemplo, el regulador de puntos de control inmunitarios puede ser durvalumab. En un ejemplo, el regulador de puntos de control inmunitarios puede ser MEDI4736. En un ejemplo, el regulador de puntos de control inmunitarios puede ser MEDI4737. En un ejemplo, el regulador de puntos de control inmunitarios puede ser TRX518. En un ejemplo, el regulador de puntos de control inmunitarios puede ser MK-4166. En un ejemplo, el regulador de puntos de control inmunitarios puede ser urelumab (BMS-663513). En un ejemplo, el regulador de puntos de control inmunitarios puede ser PF-05082566 (PF-2566).

En algunos ejemplos, en donde la terapia adicional es la radiación, las dosis ejemplares pueden ser de 5.000 Rads (50 Gy) a 100.000 Rads (1000 Gy), o 50.000 Rads (500

Gy), u otras dosis apropiadas dentro de los rangos recitados. Alternativamente, la dosis de radiación puede ser de aproximadamente 30 a 60 Gy, aproximadamente 40 a aproximadamente 50 Gy, aproximadamente 40 a 48 Gy, o aproximadamente 44 Gy, u otras dosis apropiadas dentro de los rangos recitados, con la dosis determinada, por ejemplo, mediante un estudio de dosimetría como se describió anteriormente. Como se usa en la presente, “Gy” puede referirse a una unidad para una dosis absorbida específica de radiación igual a 100 Rads. Gy es la abreviatura de “Gray”.

En algunos ejemplos, donde la terapia adicional es la quimioterapia, los agentes quimioterapéuticos ejemplares pueden incluir, sin limitación, agentes alquilantes (por ejemplo, derivados de la mostaza nitrogenada, etileniminas, alquilsulfonatos, hidrazinas y triazinas, nitrosureas y sales metálicas), alcaloides vegetales (por ejemplo, alcaloides de la vinca, taxanos, podofilotoxinas y análogos del camptotecano), antibióticos antitumorales (por ejemplo, antraciclinas, cromomicinas, y similares), antimetabolitos (por ejemplo, antagonistas del ácido fólico, antagonistas de las pirimidinas, antagonistas de las purinas, e inhibidores de la adenosina deaminasa), inhibidores de la topoisomerasa I, inhibidores de la topoisomerasa II, y antineoplásicos varios (por ejemplo, inhibidores de la ribonucleótido reductasa, inhibidores de los esteroides corticosuprarrenales, enzimas, agentes antimicrotúbulos, y retinoides). Los agentes quimioterapéuticos ejemplares pueden incluir, sin limitación, anastrozol, bicalutamida, sulfato de bleomicina, busulfán, busulfán inyectable, capecitabina, N4-pentoxicarbonil-5-deoxi-5-fluorocitidina, carboplatino, carmustina, clorambucilo, cisplatino, cladribina, ciclofosfamida, citarabina, arabinósido de citosina, inyección liposomal de citarabina, dacarbazina, dactinomicina, clorhidrato de daunorubicina, inyección liposomal de citrato de daunorubicina, dexametasona, docetaxel, clorhidrato de doxorrubicina, etopósido, fosfato de fludarabina, 5-fluorouracilo, flutamida, tezacitibina, gemcitabina (difluorodeoxicitidina), hidroxiurea, Idarubicina, ifosfamida, irinotecán, L-asparaginasa, leucovorina de calcio, melfalán, 6-mercaptopurina, metotrexato, mitoxantrona, mylotarg, paclitaxel, fénix, pentostatina, polifeprosan 20 con implante de carmustina, citrato de tamoxifeno, tenipósido, 6-tioguanina, tiotepa, tirapazamina, clorhidrato de topotecán inyectable, vinblastina, vincristina, y vinorelbina, ibrutinib, idelalisib, y brentuximab vedotin.

Los agentes alquilantes ejemplares pueden incluir, sin limitación, mostazas nitrogenadas, derivados de etilenimina, alquil sulfonatos, nitrosoureas y triazenos como: uracilo mostaza clormetina, ciclofosfamida, ifosfamida, melfalán, clorambucil, pipobroman, trietilenemelamina, trietilenotiofosforamina, Temozolomida, tiotepa, busulfán y dacarbazina. Otros agentes alquilantes ejemplares incluyen, sin limitación, oxaliplatino, temozolomida,

dactinomicina, L-PAM, L-sarcolisina, hexametilmelamina, carmustina, bendamustina, busulfán; carboplatino, lomustina, cisplatino, clorambucilo, ciclofosfamida, dacarbazina, altretamina, ifosfamida, prednumustina, procarbazina, mecloretamina, estreptozocina, tiotepa, ciclofosfamida; y bendamustina HCl.

Las antraciclinas ejemplares pueden incluir, sin limitación, por ejemplo, doxorrubicina, bleomicina, daunorrubicina, daunomicina, clorhidrato de rubidomicina, mitoxantrona, epirrubicina, idarrubicina, mitomicina C, geldanamicina, herbimicina, ravidomicina y desacetilravidomicina.

Los alcaloides de vinca ejemplares pueden incluir, pero no se limitan a, tartrato de vinorelbina, vincristina, vindesina, vinblastina; y vinorelbina.

Los inhibidores ejemplares del proteasoma pueden, pero no se limitan a, bortezomib; carfilzomib (PX-171-007, (S)-4-metil-N—((S)-1-(((S)-4-metil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopentan-2-il)amino)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)-2-((S)-2-(2-morfolinoac-etamido)-4-fenilbutanamido)-pentanamida), marizomib (NPI-0052), citrato de ixazomib, delanzomib, y O-metil-N-[(2-metil-5-tiazolil)carbonil]-L-seril-O-metil-N-[(1S)-2-[(2R)-2-metil-2-oxiranil]-2-oxo-1-(fenilmetil)etil]-L-serinamida.

Como se usa en la presente, “en combinación con” puede significar que el virus recombinante, tal como un virus vaccinia oncolítico como se describe en la presente o una composición farmacéutica que comprende el mismo, y la terapia adicional, tal como una terapia adicional que incluye uno o más agentes, se administra a un sujeto como parte de un régimen o plan de tratamiento. En ciertas modalidades, el uso combinado puede no requerir que el virus recombinante y uno o más agentes se combinen físicamente antes de la administración o que se administren durante el mismo período de tiempo. Por ejemplo, y no a modo de limitación, el virus recombinante y uno o más agentes pueden administrarse simultáneamente al sujeto que se está tratando, o pueden administrarse al mismo tiempo o secuencialmente en cualquier orden o en diferentes momentos.

La terapia adicional se puede administrar, en varias modalidades, una forma farmacéutica líquida, una forma farmacéutica sólida, un supositorio, una forma farmacéutica inhalable, una forma farmacéutica intranasal, una formulación liposomal, una forma farmacéutica que contenga nanopartículas, una forma farmacéutica con micropartículas, una forma farmacéutica polimérica, o cualquier combinación de las mismas. En ciertas modalidades, la terapia adicional se administra durante un período de aproximadamente 1

semana a aproximadamente 2 semanas, aproximadamente 2 semanas a aproximadamente 3 semanas, aproximadamente 3 semanas a aproximadamente 4 semanas, aproximadamente 4 semanas a aproximadamente 5 semanas, aproximadamente 6 semanas a aproximadamente 7 semanas, aproximadamente 7 semanas a aproximadamente 8 semanas, aproximadamente 8 semanas a aproximadamente 9 semanas, aproximadamente 9 semanas a aproximadamente 10 semanas, aproximadamente 10 semanas a aproximadamente 11 semanas, aproximadamente 11 semanas a aproximadamente 12 semanas, aproximadamente 12 semanas a aproximadamente 24 semanas, aproximadamente 24 semanas a aproximadamente 48 semanas, aproximadamente 48 semanas o aproximadamente 52 semanas, o más. La frecuencia de administración de la terapia adicional puede ser, en ciertos casos, una vez al día, dos veces al día, una vez a la semana, una vez cada tres semanas, una vez cada cuatro semanas (o una vez al mes), una vez cada 8 semanas (o una vez cada 2 meses), una vez cada 12 semanas (o una vez cada 3 meses), o una vez cada 24 semanas (una vez cada 6 meses). En ciertas modalidades, un método para tratar a un sujeto que tiene un cáncer puede incluir la administración, al sujeto, de una cantidad eficaz de un virus recombinante, por ejemplo, un virus vaccinia recombinante, de esta divulgación. En ciertas modalidades, los métodos de esta divulgación pueden incluir la administración al sujeto de una cantidad eficaz de uno o más agentes. Por ejemplo, y no a modo de limitación, el agente puede ser un agente anticancerígeno, un agente inmunomodulador, o cualquier combinación de los mismos, como se describió anteriormente. Un “agente anticancerígeno”, como se usa en la presente, puede ser cualquier molécula, compuesto, sustancia química o composición que tenga un efecto anticancerígeno. Los agentes anticancerígenos incluyen, pero no se limitan a, agentes quimioterapéuticos, agentes radioterapéuticos, citocinas, inhibidores de punto de control inmune, agentes antiangiogénicos, agentes inductores de apoptosis, anticuerpos anticancerígenos y/o agentes cinasa dependientes de anti-ciclina.

Modalidades adicionales

En la presente se proporcionan virus oncolíticos recombinantes que comprendan una modificación en el genoma viral en donde dicha modificación comprende al menos uno de: una deleción o deleción funcional de un ácido nucleico endógeno que codifica un inhibidor de MHC clase II; una inserción de un ácido nucleico exógeno que causa la activación o activación potenciada de la presentación de MHC clase II; y una inserción de un ácido nucleico exógeno que codifica un inhibidor de MHC clase I que actúa completa o principalmente dentro de la célula infectada. Además, en la presente se proporcionan virus oncolíticos recombinantes que comprenden la deleción o deleción funcional de un ácido nucleico endógeno que codifica el

inhibidor de MHC clase II, en donde la deleción o deleción funcional da como resultado un aumento de la presentación de MHC clase II, y en donde el virus oncolítico es un virus vaccinia. Además, en la presente se proporcionan virus oncolíticos recombinantes que comprenden la deleción o deleción funcional del ácido nucleico endógeno que codifica el inhibidor de MHC clase I, en donde la deleción o deleción funcional del ácido nucleico endógeno que codifica el inhibidor de MHC clase II comprende una deleción de un gen que codifica la proteína A35 de un virus vaccinia. Además, en la presente se proporcionan virus oncolíticos recombinantes, en donde la deleción o deleción funcional del gen que codifica una proteína A35 del virus vaccinia es una deleción o deleción funcional del gen WR158. Además, en la presente se proporcionan virus oncolíticos recombinantes en donde la modificación comprende la inserción de un ácido nucleico exógeno que causa la activación o activación potenciada de la presentación de MHC clase II, y en donde el ácido nucleico exógeno codifica: una proteína inhibidora de la apoptosis; o una proteína activadora de la muerte celular necrótica; una proteína potenciadora de la autofagia; una asparaginil endopeptidasa; un transactivador de clase II; un interferón-gamma; un activador del receptor tipo Toll; o un activador de la maduración de células dendríticas. Además, en la presente se proporcionan virus oncolíticos recombinantes que comprenden la proteína potenciadora de la autofagia, en donde la proteína potenciadora de la autofagia es HMGB1 o un dominio funcional o una variante de la misma. Además, en la presente se proporcionan virus oncolíticos recombinantes que comprenden el activador de la maduración de células dendríticas, en donde el activador de la maduración de células dendríticas comprende osteopontina, o TNF-alfa, o fragmentos funcionales o variantes de los mismos. Además, en la presente se proporcionan virus oncolíticos recombinantes, en donde la proteína de regulación al alza de MHC II codificada se fusiona con una secuencia de secreción de un dominio de permeabilización celular o una combinación de los mismos, para lograr una regulación al alza de MHC II en todo el tumor. Además, en la presente se proporcionan virus oncolíticos recombinantes, en donde la modificación comprende la inserción del ácido nucleico exógeno que codifica el inhibidor de MHC clase I, y en donde la inserción causa una inhibición o inhibición parcial de la presentación de MHC clase I. Además, en la presente se proporcionan virus oncolíticos recombinantes, en donde la inserción del ácido nucleico exógeno que codifica el inhibidor de MHC clase I comprende la inserción de un gen que codifica una o más proteínas del virus de la viruela vacuna. Además, en la presente se proporcionan virus oncolíticos recombinantes, en donde la inserción de un ácido nucleico exógeno que codifica el inhibidor clase I de MHC comprende la inserción de un gen que codifica la proteína CPXV012 de la viruela vacuna, o un fragmento funcional o una variante de la misma. Además, en la presente se proporcionan

virus oncolíticos recombinantes, en donde la inserción de un ácido nucleico exógeno que codifica el inhibidor clase I de MHC comprende la inserción de un gen que codifica la proteína CPXV203 de la viruela vacuna, o un fragmento funcional o una variante de la misma. Además, en la presente se proporcionan virus oncolíticos recombinantes, en donde la inserción de un ácido nucleico exógeno que codifica el inhibidor de MHC clase I comprende la inserción de un gen que codifica al menos uno de los siguientes: Proteína del antígeno nuclear 1 codificada por el virus de Epstein-Barr; proteína ICP47 codificada por el virus del herpes simple; proteína UL49,5 codificada por el virus del herpes simple; proteína US6, US2, US3, US11 o gp48 codificada por el citomegalovirus; proteína BNLF2a codificada por el virus de Epstein-Barr; proteína E3-19K codificada por adenovirus; proteína Nef codificada por el virus de la inmunodeficiencia humana o el virus de la inmunodeficiencia en simios; proteína kK3, vIRF3 o kK5 codificada por el herpesvirus asociado al sarcoma de Kaposi; o una forma dominante negativa de IRF7 o IRF3. Además, en la presente se proporcionan virus oncolíticos recombinantes, en donde el inhibidor de MHC clase I comprende un inhibidor de TAP. Además, en la presente se proporcionan virus oncolíticos recombinantes en donde el inhibidor de TAP actúa completa o principalmente dentro de las células infectadas. Además, en la presente se proporcionan virus oncolíticos recombinantes en donde la modificación en el genoma viral reduce una respuesta inmunitaria dirigida a una célula tumoral infectada por virus y aumenta una respuesta inmunitaria dirigida a las células que rodean a la célula tumoral infectada por virus. Además, en la presente se proporcionan virus oncolíticos recombinantes en donde un gen de timidina cinasa se elimina del genoma viral. Además, en la presente se proporcionan virus oncolíticos recombinantes que comprenden además un ácido nucleico exógeno que codifica una hialuronidasa. Además, en la presente se proporcionan virus oncolíticos recombinantes en donde la hialuronidasa es PH-20 o HysA. Además, en la presente se proporcionan virus oncolíticos recombinantes, en donde el virus oncolítico es un virus vaccinia, y el virus vaccinia es un virus Vaccinia de la cepa Western Reserve (ATCC VR-1354), una cepa Copenhagen, una cepa IHD, una cepa Wyeth (ATCC VR-325), una cepa NYCBOH, una cepa Tian Tan, una cepa Lister, una cepa Ankara (ATCC VR-1508 o ATTC VR1566), una cepa URSS, o una cepa ACAM2000.

En la presente se proporcionan virus oncolíticos recombinantes que comprendan una modificación en el genoma viral, en donde la modificación comprende una deleción o deleción funcional de un gen del virus vaccinia que codifica la proteína A35, y la inserción de un gen exógeno que codifica la proteína de la viruela vacuna CPXV012 o la proteína de la viruela vacuna CPXV203. En donde la modificación es tal que la inserción del gen exógeno que

codifica la proteína de la viruela vacuna CPXV012 se encuentra en el locus del gen que codifica la proteína A35 de un virus vaccinia. Además, en la presente se proporcionan virus oncolíticos recombinantes, en donde la modificación es tal que la inserción del gen exógeno que codifica la proteína de la viruela vacuna CPXV203 se encuentra en el locus del gen que codifica la proteína A35 de un virus vaccinia. Además, en la presente se proporcionan virus oncolíticos recombinantes que comprenden una modificación adicional en el genoma viral. Además, en la presente se proporcionan virus oncolíticos recombinantes en donde la modificación adicional comprende al menos una de: una inserción de un ácido nucleico exógeno que codifica un receptor de quimiocina o un dominio funcional, o una variante del mismo; o una inserción de un ácido nucleico exógeno que codifica para citoquinas o un dominio funcional, o una variante del mismo. Además, en la presente se proporcionan virus oncolíticos recombinantes que comprenden el ácido nucleico exógeno que codifica una citocina o un dominio funcional o una variante del mismo, en donde la citocina comprende al menos uno de: interleucina-2 (IL-2), interleucina-15/interleucina-15Ra (IL15/IL15Ra), interleucina-7 (IL-7), o un dominio funcional o una variante de las mismas. Además, en la presente se proporcionan virus oncolíticos recombinantes, en donde la modificación adicional comprende la inserción de un ácido nucleico exógeno que codifica una proteína de fusión que comprende una citocina y una proteína moduladora metabólica. Además, en la presente se proporcionan virus oncolíticos recombinantes que comprenden el ácido nucleico exógeno que codifica el receptor de quimiocina o un dominio funcional o una variante del mismo, en donde el receptor de quimiocina comprende al menos uno de los siguientes: CXCR4, CCR2, o dominios funcionales o variantes de los mismos. Además, en la presente se proporcionan virus oncolíticos recombinantes en donde el receptor de quimiocina comprende el CXCR4 o un dominio funcional o una variante del mismo. Además, en la presente se proporcionan virus oncolíticos recombinantes, en donde el receptor de quimiocina comprende el CCR2 o un dominio funcional o una variante del mismo, en donde el CCR2 comprende un CCR2 de tipo silvestre o un CCR2 mutado. Además, en la presente se proporcionan virus oncolíticos recombinantes en donde el ácido nucleico exógeno que codifica el receptor de quimiocina o un dominio funcional o una variante del mismo comprende una secuencia optimizada por codones. Además, en la presente se proporcionan virus oncolíticos recombinantes, en donde el ácido nucleico exógeno que codifica el receptor de quimiocina o un dominio funcional o una variante del mismo comprende una secuencia no optimizada por codones. Además, en la presente se proporcionan virus oncolíticos recombinantes, en donde la modificación adicional comprende una mutación o una deleción completa o parcial de un gen viral que comprende al menos uno de los siguientes: A52R, B15R, K7R, A46R, N1L, E3L, K1L, M2L, C16, N2R, B8R,

B18R, VH1 de un virus vaccinia, o un dominio funcional, fragmento o variante del mismo, o cualquier combinación de los mismos. Además, en la presente se proporcionan virus oncolíticos recombinantes en donde un gen de timidina cinasa se elimina del genoma viral. Además, en la presente se proporcionan virus oncolíticos recombinantes que comprenden además un ácido nucleico exógeno que codifica una hialuronidasa. Además, en la presente se proporcionan virus oncolíticos recombinantes en donde la hialuronidasa es PH-20 o HysA. Además, en la presente se proporcionan virus oncolíticos recombinantes, en donde el virus oncolítico es un virus vaccinia, y el virus vaccinia es un virus Vaccinia de la cepa Western Reserve (ATCC VR-1354), una cepa Copenhagen, una cepa IHD, una cepa Wyeth (ATCC VR-325), una cepa NYCBOH, una cepa Tian Tan, una cepa Lister, una cepa Ankara (ATCC VR-1508 o ATTC VR1566), una cepa URSS, o una cepa ACAM2000.

En la presente se proporcionan composiciones inmunogénicas que comprenden un virus oncolítico recombinante de acuerdo con cualquier modalidad, tal como se describe en la presente.

En la presente se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden un virus oncolítico recombinante o una composición inmunogénica de acuerdo con cualquier modalidad como se describe en la presente y al menos uno de: un agente solubilizante, un excipiente o un portador farmacéuticamente aceptable. Además, en la presente se proporcionan composiciones farmacéuticas, en donde el excipiente comprende uno o más de un agente amortiguador, un estabilizador, un antioxidante, un aglutinante, un diluyente, un agente dispersante, un agente de control de velocidad, un lubricante, un deslizante, un desintegrante, un plastificante, un conservante o cualquier combinación de los mismos. Además, en la presente se proporcionan composiciones farmacéuticas, en donde el excipiente comprende dihidrógeno fosfato disódico dihidrato, dihidrógeno fosfato de sodio dihidrato, cloruro sódico, mio-inositol, sorbitol, o cualquier combinación de los mismos. Además, en la presente se proporcionan composiciones farmacéuticas, en donde la composición farmacéutica no comprende un conservante. Además, en la presente se proporcionan composiciones farmacéuticas, que comprenden además uno o más de un conservante, un diluyente y un portador. Además, en la presente se proporcionan composiciones farmacéuticas, que comprenden además un principio activo adicional o una sal del mismo. Además, en la presente se proporcionan composiciones farmacéuticas, en donde el agente solubilizante es agua estéril. Además, en la presente se proporcionan composiciones farmacéuticas, que comprenden además un principio activo adicional, en donde el principio activo adicional es un agente anticancerígeno o un virus oncolítico adicional.

En la presente se proporcionan métodos para reducir el crecimiento de un célula cancerosa, métodos ejemplares que comprenden la administración a la célula cancerosa de una cantidad eficaz del virus oncolítico recombinante, la composición inmunogénica o la composición farmacéutica de acuerdo con cualquier modalidad como se describe en la presente.

En la presente se proporcionan métodos de regresión del crecimiento de un tumor, métodos ejemplares que comprenden administrar al tumor una cantidad eficaz del virus oncolítico recombinante, la composición inmunogénica o la composición farmacéutica de acuerdo con cualquier modalidad como se describe en la presente. Además, en la presente se proporcionan métodos, en donde el tumor está en un sujeto y la administración comprende la administración al sujeto. Además, en la presente se proporcionan métodos que comprenden la administración de una terapia adicional, en donde la terapia adicional comprende quimioterapia, radiación, terapia viral oncolítica con un virus adicional, tratamiento con proteínas inmunomoduladoras, terapia celular con T CAR, un agente anticancerígeno o cualquier combinación de los mismos. En la presente, se proporcionan además métodos en donde la terapia adicional comprende la administración de un agente inmunomodulador que comprende un anticuerpo anti-CD33 y la región variable del mismo, un anticuerpo anti-CD11b y la región variable del mismo, un inhibidor COX2, una citocina, una quimiocina, un anticuerpo anti-CTLA4 o un fragmento de unión a antígeno del mismo, un anticuerpo anti-PD-1 o un fragmento de unión a antígeno del mismo, un anticuerpo anti-PD-L1, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o un agonista de TLR.

Un método de tratamiento que comprende administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de un virus oncolítico recombinante, la composición inmunogénica o una composición farmacéutica de acuerdo con cualquier modalidad descrita en la presente. Además, en la presente se proporcionan métodos, en donde la administración comprende una administración intratumoral. Además, en la presente se proporcionan métodos, en donde la administración comprende una administración sistémica. Además, en la presente se proporcionan métodos, en donde la administración sistémica comprende al menos uno de: una administración intraperitoneal, una administración oral, una administración intravenosa, una administración intranasal, una administración sublingual, una administración rectal, una administración transdérmica o cualquier combinación de las mismas. Además, en la presente se proporcionan métodos, en donde el sujeto tiene un cáncer, y en donde el cáncer es al menos uno de: un melanoma, un carcinoma hepatocelular, un cáncer de mama, un cáncer de pulmón, un cáncer de pulmón de células no pequeñas, un cáncer peritoneal, un cáncer de

próstata, un cáncer de vejiga, un cáncer de ovario, un leucemia, un linfoma, un carcinoma de células renales, un cáncer de páncreas, un carcinoma epitelial, un adenocarcinoma de la unión gástrica/GE, un cáncer de cuello uterino, un carcinoma de colon, un cáncer colorrectal, un cáncer duodenal, un adenocarcinoma pancreático, un adenoide quístico, un sarcoma, un mesotelioma, un glioblastoma multiforme, un astrocitoma, un mieloma múltiple, un carcinoma de próstata, un carcinoma hepatocelular, un colangiocarcinoma, un carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, un carcinoma cervical de células escamosas, un osteosarcoma, un carcinoma epitelial de ovario, un linfoma linfoblástico agudo o una neoplasia mieloproliferativa, o cualquier combinación de los mismos. Además, en la presente se proporcionan métodos, en donde el virus oncolítico recombinante, la composición inmunogénica o la composición farmacéutica se administran en un dosificación que comprende desde aproximadamente 10^6 UPF/mL hasta aproximadamente 10^{10} UPF/mL del virus vaccinia recombinante. Además, en la presente se proporcionan métodos, en donde el virus oncolítico recombinante o la composición farmacéutica, se administra en un dosificación que comprende aproximadamente 3 x 10^9 UFP/mL del virus vaccinia recombinante. Además, en la presente se proporcionan métodos, en donde el virus oncolítico recombinante, la composición inmunogénica o la composición farmacéutica se administran, de forma independiente, en una dosis inicial durante un primer período de tiempo, una dosis intermedia durante un segundo período de tiempo y una dosis alta durante un tercer período de tiempo. En la presente se proporcionan métodos, que comprenden la administración de la dosis inicial, la intermedia y la alta, independientemente, en donde la dosis inicial es más baja que la dosis intermedia y la dosis intermedia es más baja que la dosis alta. Además, en la presente se proporcionan métodos, en donde el virus oncolítico recombinante, la composición inmunogénica o la composición farmacéutica se administran, de forma independiente, en una dosis alta durante un primer período de tiempo, una dosis intermedia durante un segundo período de tiempo y una dosis baja durante un tercer período de tiempo. En la presente se proporcionan métodos, que comprenden la administración de la dosis inicial, la intermedia y la baja, independientemente, en donde la dosis inicial es más alta que la dosis intermedia y la dosis intermedia es más alta que la dosis baja. Además en la presente se proporcionan métodos, en donde el primer, segundo, y tercer periodo de tiempo son cada uno de aproximadamente 1 día, aproximadamente 2 días, aproximadamente 3 días, aproximadamente 4 días, aproximadamente 5 días, aproximadamente 6 días, aproximadamente 1 semana, aproximadamente 2 semana, aproximadamente 3 semanas, aproximadamente 4 semanas, aproximadamente 6 semanas, aproximadamente 7 semanas, aproximadamente 8 semanas, aproximadamente 9 semanas, aproximadamente 10, semanas,

aproximadamente 12 semanas, aproximadamente 4 meses, aproximadamente 5 meses, aproximadamente 6 meses, aproximadamente 7 meses, aproximadamente 8 meses, aproximadamente 9 meses, aproximadamente 10 meses, aproximadamente 11 meses o aproximadamente 1 año. Además en la presente se proporcionan métodos, en donde el virus oncolítico recombinante, la composición inmunogénica, o la composición farmacéutica comprende independientemente una forma de dosificación líquida que se administra a un volumen de aproximadamente 1 mL a aproximadamente 5 mL, de aproximadamente 5 mL a 10 mL, de aproximadamente 15 mL a aproximadamente 20 mL, de aproximadamente 25 mL a aproximadamente 30 mL, de aproximadamente 30 mL a aproximadamente 50 mL, de aproximadamente 50 mL a aproximadamente 100 mL, de aproximadamente 100 mL a 150 mL, de aproximadamente 150 mL a aproximadamente 200 mL, de aproximadamente 200 mL a aproximadamente 250 mL, de aproximadamente 250 mL a aproximadamente 300 mL, de aproximadamente 300 mL a aproximadamente 350 mL, de aproximadamente 350 mL a aproximadamente 400 mL, de aproximadamente 400 mL a aproximadamente 450 mL, de aproximadamente 450 mL a 500 mL, de aproximadamente 500 mL a 750 mL, o de aproximadamente 750 mL a 1000 mL. Además, en la presente se proporcionan métodos, en donde el virus oncolítico recombinante, la composición inmunogénica, o la composición farmacéutica se administra en una forma farmacéutica líquida, una forma farmacéutica sólida, una forma farmacéutica inhalable, una forma farmacéutica intranasal, una formulación liposomal, una forma farmacéutica que contenga nanopartículas, una forma farmacéutica con micropartículas, una forma farmacéutica polimérica, o cualquier combinación de las mismas. Además en la presente se proporcionan métodos, en donde el virus oncolítico recombinante, la composición inmunogénica, o la composición farmacéutica se administra durante una duración de aproximadamente 1 día, aproximadamente 2 días, aproximadamente 3 días, aproximadamente 4 días, aproximadamente 5 días, aproximadamente 6 días, aproximadamente 1 semana, aproximadamente 2 semana, aproximadamente 3 semanas, aproximadamente 4 semanas, aproximadamente 6 semanas, aproximadamente 7 semanas, aproximadamente 8 semanas, aproximadamente 9 semanas, aproximadamente 10, semanas, aproximadamente 12 semanas, aproximadamente 4 meses, aproximadamente 5 meses, aproximadamente 6 meses, aproximadamente 7 meses, aproximadamente 8 meses, aproximadamente 9 meses, aproximadamente 10 meses, aproximadamente 11 meses, o aproximadamente 1 año. Además, en la presente se proporcionan métodos, en donde el virus oncolítico recombinante, la composición inmunogénica o la composición farmacéutica se administran una vez al día, dos veces al día, una vez a la semana, una vez cada dos semanas o una vez cada tres semanas. Además, en la presente se proporcionan métodos, en donde el

virus oncolítico recombinante, la composición inmunogénica o la composición farmacéutica se administran como una inyección de bolo o una infusión lenta. Además, en la presente se proporcionan métodos, en donde la administración del virus oncolítico recombinante, la composición inmunogénica o la composición farmacéutica da como resultado un primer pico de carga viral después de aproximadamente 1 hora a aproximadamente 3 días, y un segundo pico de carga viral después de aproximadamente 3 días a aproximadamente 10 días de la administración de una primera dosis. Además en la presente se proporcionan métodos, que comprenden la administración de una terapia adicional, en donde la terapia adicional se administra durante una duración de aproximadamente 1 día, aproximadamente 2 días, aproximadamente 3 días, aproximadamente 4 días, aproximadamente 5 días, aproximadamente 6 días, aproximadamente 1 semana, aproximadamente 2 semanas, aproximadamente 3 semanas, aproximadamente 4 semanas, aproximadamente 6 semanas, aproximadamente 7 semanas, aproximadamente 8 semanas, aproximadamente 9 semanas, aproximadamente 10, semanas, o aproximadamente 12 semanas. Además en la presente se proporcionan métodos, en donde la terapia adicional se administra una vez al día, dos veces al día, una vez cada 1 día, una vez cada 2 días, una vez cada 3 días, una vez cada 4 días, una vez cada 5 días, una vez cada 6 días, una vez cada 1 semana, una vez cada 2 semanas, una vez cada 3 semanas, una vez cada 4 semanas, una vez cada 6 semanas, una vez cada 7 semanas, una vez cada 8 semanas, una vez cada 9 semanas, una vez cada 10, semanas, una vez cada 12 semanas, una vez cada 4 meses, una vez cada 5 meses, una vez cada 6 meses, una vez cada 7 meses, una vez cada 8 meses, una vez cada 9 meses, una vez cada 10 meses, una vez cada 11 meses, o una vez cada 1 año. Además, en la presente se proporcionan métodos, en donde la terapia adicional se administra en una forma farmacéutica líquida, una forma farmacéutica sólida, una forma farmacéutica inhalable, una forma farmacéutica intranasal, una formulación liposomal, una forma farmacéutica que contenga nanopartículas, una forma farmacéutica con micropartículas, una forma farmacéutica polimérica, o cualquier combinación de las mismas. Además, en la presente se proporcionan métodos, en donde la terapia adicional se administra en una forma farmacéutica líquida, una forma farmacéutica sólida, una forma farmacéutica inhalable, una forma farmacéutica intranasal, una formulación liposomal, una forma farmacéutica que contenga nanopartículas, una forma farmacéutica con micropartículas, una forma farmacéutica polimérica, o cualquier combinación de las mismas. Además, en la presente se proporcionan métodos, en donde la terapia adicional se administra por vía oral, por vía intravenosa, por inyección intratumoral, por inyección intraperitoneal o por radiación. Además, en la presente se proporcionan métodos, en donde la terapia adicional comprende quimioterapia, radiación, terapia viral

oncolítica con un virus adicional, tratamiento con proteínas inmunomoduladoras, terapia celular con T CAR, un agente anticancerígeno o cualquier combinación de los mismos. En la presente, se proporcionan además métodos en donde la terapia adicional comprende la administración de un agente inmunomodulador que comprende un anticuerpo anti-CD33 y la región variable del mismo, un anticuerpo anti-CD11b y la región variable del mismo, un inhibidor COX2, una citocina, una quimiocina, un anticuerpo anti-CTLA4 o un fragmento de unión a antígeno del mismo, un anticuerpo anti-PD-1 o un fragmento de unión a antígeno del mismo, un anticuerpo anti-PD-L1, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o un agonista de TLR. Además, en la presente se proporcionan métodos, en donde la terapia adicional comprende la administración del agente anticancerígeno, en donde el agente anticancerígeno es un agente quimioterapéutico. Además, en la presente se proporcionan métodos, en donde el sujeto es humano.

EJEMPLOS

Los ejemplos a continuación ilustran más a fondo las modalidades descritas sin limitar el alcance de esta divulgación.

Ejemplo 1: Modelo tumoral

Se analizó el virus vaccinia recombinante en comparación con la misma cepa del virus sin la modificación descrita en la presente en un sistema de modelo tumoral. La siguiente tabla enumera los virus para las pruebas y las modificaciones en el genoma viral para las mismas:

Tabla 1

MODELO	Identificador único UID	DESCRIPCIÓN
Modelo de tumor B16	WO0416N	A52R- mut CXCR4 TK-
	WO0434N	A52R- mut CXCR4 TK- 158- cpx012+
	HCCTKM	WR.TK-
	VFB	Disolución amortiguadora formulada en vehículo

La Tabla 1 anterior muestra que los virus utilizados en el estudio fueron el virus vaccinia recombinante WO0434N (mostrado como A52R- mutCXCR4 TK- 158- cpx012+) y el virus vaccinia de referencia WO0416N (A52R- mutCXCR4 TK-). La modificación a WO0434N fue por deleción del gen TK y la sustitución del gen A52 por el mutante CXCR4 impulsado por P7,5 y la sustitución del gen A35 (WR158) por el gen CPXV012 del virus de la viruela vacuna. El virus vaccinia de referencia WO0416N tenía una deleción del gen TK y la sustitución del gen A52 por el mutante CXCR4 impulsado por P7,5. Los controles fueron el virus vaccinia de la cepa Reserva Occidental negativo de timidina cinasa (WR.TK-) (HCCTKM) y la disolución amortiguadora formulada en vehículo (VFB). La secuencia de ácidos nucleicos del promotor P7,5 se define mediante SEQ ID NO: 1. La secuencia de ácidos nucleicos del gen CXCR4 mutante se define mediante SEQ ID NO: 15. La secuencia de ácidos nucleicos del CPXV012 se define mediante SEQ ID NO: 2. El estudio se realizó en el modelo de tumor B16. Los volúmenes tumorales se midieron 17 días después de la administración del virus para cada grupo y controles. Los resultados como se muestra en la FIGURA 1 indican una mejora en la actividad terapéutica con el virus WO0434N en comparación con el virus de referencia WO0416N o los controles HCCTKM y VFB.

Ejemplo 2: Caracterización de cepas

Para evaluar si un virus determinado es compatible con la replicación o defectuoso en la replicación en un tipo de célula, se evalúa la capacidad de replicación de un virus vaccinia recombinante mediante el ensayo PCR utilizando sueros de un mamífero o un roedor infectado con el virus recombinante, una placa viral ensayo o cualquier combinación de los mismos. Para los ensayos de placa viral, las monocapas confluentes de células susceptibles en matraces de cultivo tisular están infectadas con el virus vaccinia. Después de la incubación, los efectos citopáticos (CPE) se observan y visualizan mediante la formación de un halo o limpieza circular de la monocapa celular. Los medios de cultivo celular se sustituyen por una disolución que aumenta la viscosidad. La disolución reemplazada incluye gelatina o carboximetilcelulosa. Los ensayos de placa viral se visualizan mediante tinción con un agente que aumenta el contraste celular a simple vista o por microscopía. La incubación después de la infección puede ser de 4 a 48 horas antes de que se pueda observar la placa. El agente de tinción es Cristal Violeta. Para los ensayos basados en PCR, el contenido del virus vaccinia se cuantifica mediante métodos basados en qPCR.

Ejemplo 3: Inhibición del crecimiento tumoral

Se realizaron ensayos en animales en modelos de cáncer de ratón para evaluar el impacto del crecimiento tumoral de las composiciones descritas en la presente. Brevemente, se inyectaron intratumoralmente (IT) los virus vaccinia modificados en ratones con tumores Renca y EMT6.

Se evaluaron los virus vaccinia modificados en comparación con una disolución amortiguadora formulada en vehículo (VFB). El grupo 1 fue tratado con un virus vaccinia modificado que comprende una deleción de gen TK, inserción de ácido nucleico que codifica la proteína V012 del virus de la viruela vacuna (CPXV012) (SEQ ID NO: 2), un promotor P7,5 (SEQ ID NO: 1) y una secuencia loxP (SEQ ID NO: 35). El grupo 2 fue tratado con un virus vaccinia modificado que comprendía una deleción de gen WR158, inserción de ácido nucleico que codifica la proteína CPXV012 (SEQ ID NO: 2), un promotor P7,5 (SEQ ID NO: 1), y una secuencia loxP (SEQ ID NO: 35). El grupo 3 fue tratado con un virus vaccinia que comprende una deleción de gen TK y la inserción de ácido nucleico que codifica el factor regulador de interferón negativo dominante 7 (dnIRF7, SEQ ID NO: 36). El grupo 4 fue tratado con un virus vaccinia modificado que comprendía una deleción de gen TK y la inserción de ácido nucleico que codifica el factor regulador del interferón viral 3 (vIRF3, SEQ ID NO: 38).

Los ratones BALB/c se implantaron subcutáneamente con tumores de células RENCA o de células EMT6. Los ratones se dividieron en grupos de 10. Los tumores se inyectaron con una dosis única de $1x10^7$ UFP de virus vaccinia modificado o vehículo de control.

Los volúmenes tumorales en ratones con tumores Renca se midieron después de 23 días, como se muestra en la FIGURA 2A). Los grupos tratados con virus que expresaban el virus de la viruela vacuna V012 y vIRF3 mostraron la reducción más efectiva del volumen tumoral de Renca.

Los volúmenes tumorales en ratones con tumores EMT6 se midieron después de 27 días, como se muestra en la FIGURA 2B. Los grupos tratados con virus que expresaban el virus de la viruela vacuna V012 y dnIRF7 mostraron la reducción más efectiva del volumen tumoral de EMT6.

Aunque en la presente se han mostrado y descrito diversas modalidades preferidas de la presente invención, quedará claro para los expertos en la técnica que dichas modalidades se proporcionan únicamente a modo de ejemplo. A los expertos en la técnica se les podría ocurrir numerosas variaciones, cambios y sustituciones sin apartarse de la invención. Debe entenderse que en la práctica de la invención pueden emplearse diversas alternativas a las modalidades de la invención descrita en la presente. Se propone que las siguientes reivindicaciones definan el alcance de la invención y que por lo tanto se cubran los métodos y estructuras dentro del alcance de estas reivindicaciones y sus equivalentes.

Tabla 2: Secuencias

SEQ ID NO:	NOMBRE DE LA PROTEÍNA/ÁCIDO NUCLEICO	SECUENCIAS
1	Promotor P7,5 (ADN)	TCACTAATTCCAAACCCACCCGCTTTTTATAGTAAGTTTTTCACCCATAAATAATAAATACAATAATTAATTTCTCGTAAAAGTAGAAAATATATTCTAATTTATTGCACGGTAAGGAAGTAGATCATAA
2	CPXV012 (DNA)	ATGTTCATCATGCGCGAGAGCATTTACCGCGTGATGATTGTCATTTT

SEQ ID NO:	NOMBRE DE LA PROTEÍNA/ÁCIDO NUCLEICO	SECUENCIAS
		GTATTTGAGCTTGATTTCTTCGTT TTTGGTTATCTGCTCTATGGAGCA CGGCTACTTCCAGGAGGGCATCA GCCGCTTCAAGATTTGTCCCTAT CATTGGTATAAACAACACATGAGT TTATTGTTTCGTCGTTACTATCAC AAGCTGGATAGTATCATCTAG
3	CPXV012 (polipéptido)	MFIMRESIYRVMIVILYLSLISSFLVI CSMEHGYFQEGISRFKICPYHWYK QHMSLLFRRYYHKLDSII
4	HMGB1 (humano, mutante, ADN)	GGCAAAGGAGATCCTAAGAAGCC GAGAGGCAAAATGTCATCATATG CATTCTTCGTGCAAACTTGTCGG GAGGAGCATAAGAAGAAGCACCC AGATGCTGCAGTCAACTTCGCTG AGTTTGCAAAGAAGTGCGCTGAG AGGTGGAAGACCATGGCAGCTAA AGAGAAAGGAAAATTTGAAGATA TGGCAAAAGCGGACAAGGCCCG TTATGAAAGAGAAATGAAAACCTA TATCCCTCCCAAAGGGGAGACAA AAAAGAAGTTCAAGGACCCCAAT GCACCCAAGAGGCCTCCTTCGG CCTTCTTCCTCTTCTGCTCTGAGT ATCGCCCAAAAATCAAAGGAGAA CATCCTGGCCTGTCCATTGGTGA TGTTGCGAAGAAACTGGGAGAGA TGTGGAATAACACTGCTGCAGAT GACAAGCAGCCTTATGAAAAGAA GGCTGCGAAGCTGAAGGAAAAAT ATGAAAAGGATATTGCTGCATATC

SEQ ID NO:	NOMBRE DE LA PROTEÍNA/ÁCIDO NUCLEICO	SECUENCIAS
		GAGCTAAAGGAAAGCCTGATGCAGCAAAAAAGGGAGTTGTCAAGGCTGAAAAAGCGAAGAAAAAGAAGGAAGAGGAGGAAGATGAGGAAGATGAAGAGGATGAGGAGGAGGAGGAAGATGAAGAAGATGAAGATGAAGAAGAAGATGATGATGATGAATAA
5	HMGB1 (humana, mutante, proteína)	GKGDPKKPRGKMSSYAFFVQTCREEHKKKHPDAAVNFAEFAKKCAERWKTMAAKEKGKFEDMAKADKARYEREMKTYIPPKGETKKKFKDPNAPKRPPSAFFLFCSEYRPKIKGEHPGLSIGDVAKKLGEMWNNTAADDKQPYEKKAAKLKEKYEKDIAAYRAKGKPDAAKKGVVKAEKAKKKKEEEEDEEDEEDEEEEDEEDEDEEEDDDDE
6	Secuencia señal derivada de IgE (ADN)	ATGGACTGGACATGGATTCTCTTTCTAGTGGCCGCAGCCACAAGGGTCCACTCC
7	Secuencia señal derivada de IgE (polipéptido)	MDWTWILFLVAAATRVHS
8	HMGB1 con secuencia señal derivada de IgE (humano, mutante, ADN)	ATGGACTGGACATGGATTCTCTTTCTAGTGGCCGCAGCCACAAGGGTCCACTCCGGCAAAGGAGATCCTAAGAAGCCGAGAGGCAAAATGTCATCATATGCATTCTTCGTGCAAACTTGTCGGGAGGAGCATAAGAAGAAGCACCCAGATGCTGCAGTCAACTTCGCTGAGTTTGCAAAGAAGT

SEQ ID NO:	NOMBRE DE LA PROTEÍNA/ÁCIDO NUCLEICO	SECUENCIAS
		GCGCTGAGAGGTGGAAGACCAT GGCAGCTAAAGAGAAAGGAAAAT TTGAAGATATGGCAAAAGCGGAC AAGGCCCGTTATGAAAGAGAAAT GAAAACCTATATCCCTCCCAAAG GGGAGACAAAAAAGAAGTTCAAG GACCCCAATGCACCCAAGAGGC CTCCTTCGGCCTTCTTCCTCTTCT GCTCTGAGTATCGCCCAAAAATC AAAGGAGAACATCCTGGCCTGTC CATTGGTGATGTTGCGAAGAAAC TGGGAGAGATGTGGAATAACACT GCTGCAGATGACAAGCAGCCTTA TGAAAAGAAGGCTGCGAAGCTGA AGGAAAAATATGAAAAGGATATT GCTGCATATCGAGCTAAAGGAAA GCCTGATGCAGCAAAAAAGGGAG TTGTCAAGGCTGAAAAAGCGAAG AAAAAGAAGGAAGAGGAGGAAGA TGAGGAAGATGAAGAGGATGAG GAGGAGGAGGAAGATGAAGAAG ATGAAGATGAAGAAGAAGATGAT GATGATGAATAA
9	HMGB1 con secuencia señal derivada de IgE (humano, mutante, polipéptido)	MDWTWILFLVAAATRVHSGKGDP KKPRGKMSSYAFFVQTCREEHKK KHPDAAVNFAEFAKKCAERWKTM AAKEKGKFEDMAKADKARYEREM KTYIPPKGETKKKFKDPNAPKRPP SAFFLFCSEYRPKIKGEHPGLSIGD VAKKLGEMWNNTAADDKQPYEKK AAKLKEKYEKDIAAYRAKGKPDAA KKGVVKAEKAKKKKEEEEDEEDEE

SEQ ID NO:	NOMBRE DE LA PROTEÍNA/ÁCIDO NUCLEICO	SECUENCIAS
		DEEEEEDEEDEDEEEDDDDE
10	IL15 (humano, polipéptido)	MRISKPHLRSISIQCYLCLLLNSHFL TEAGIHVFILGCFSAGLPKTEANWV NVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTES DVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLES GDASIHDTVENLIILANNSLSSNGN VTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFV HIVQMFINTS
11	IL-7 (ratón, ADN)	ATGTTCCATGTTTCTTTTAGATAT ATCTTTGGAATTCCTCCACTGATC CTTGTTCTGCTGCCTGTCACATC ATCTGAGTGCCACATTAAAGACA AAGAAGGTAAAGCATATGAGAGT GTACTGATGATCAGCATCGATGA ATTGGACAAAATGACAGGAACTG ATAGTAATTGCCCGAATAATGAAC CAAACTTTTTTAGAAAACATGTAT GTGATGATACAAAGGAAGCTGCT TTTCTAAATCGTGCTGCTCGCAA GTTGAAGCAATTTCTTAAAATGAA TATCAGTGAAGAATTCAATGTCCA CTTACTAACAGTATCACAAGGCA CACAAACACTGGTGAACTGCACA AGTAAGGAAGAAAAAAACGTAAA GGAACAGAAAAAGAATGATGCAT GTTTCCTAAAGAGACTACTGAGA GAAATAAAAACTTGTTGGAATAAA ATTTTGAAGGGCAGTATATAA
12	IL-7 (humano, ADN)	ATGTTCCATGTTTCTTTTAGGTAT ATCTTTGGACTTCCTCCCCTGATC

SEQ ID NO:	NOMBRE DE LA PROTEÍNA/ÁCIDO NUCLEICO	SECUENCIAS
		CTTGTTCTGTTGCCAGTAGCATC ATCTGATTGTGATATTGAAGGTAA AGATGGCAAACAATATGAGAGTG TTCTAATGGTCAGCATCGATCAAT TATTGGACAGCATGAAAGAAATT GGTAGCAATTGCCTGAATAATGA ATTTAACTTTTTTAAAAGACATATC TGTGATGCTAATAAGGAAGGTAT GTTTTTATTCCGTGCTGCTCGCAA GTTGAGGCAATTTCTTAAAATGAA TAGCACTGGTGATTTTGATCTCCA CTTATTAAAAGTTTCAGAAGGCAC AACAATACTGTTGAACTGCACTG GCCAGGTTAAAGGAAGAAAACCA GCTGCCCTGGGTGAAGCCCAAC CAACAAAGAGTTTGGAAGAAAAT AAATCTTTAAAGGAACAGAAAAAA CTGAATGACTTGTGTTTCCTAAAG AGACTATTACAAGAGATAAAAACT TGTTGGAATAAAATTTTGATGGGC ACTAAAGAACACTGA
13	IL-7 (ratón, proteína)	MFHVSFRYIFGIPPLILVLLPVTSSE CHIKDKEGKAYESVLMISIDELDKM TGTDSNCPNNEPNFFRKHVCDDT KEAAFLNRAARKLKQFLKMNISEEF NVHLLTVSQGTQTLVNCTSKEEKN VKEQKKNDACFLKRLLREIKTCWN KILKGSI
14	IL-7 (humana, proteína)	MFHVSFRYIFGLPPLILVLLPVASSD CDIEGKDGKQYESVLMVSIDQLLD SMKEIGSNCLNNEFNFFKRHICDA

SEQ ID NO:	NOMBRE DE LA PROTEÍNA/ÁCIDO NUCLEICO	SECUENCIAS
		NKEGMFLFRAARKLRQFLKMNST GDFDLHLLKVSEGTTILLNCTGQVK GRKPAALGEAQPTKSLEENKSLKE QKKLNDLCFLKRLLQEIKTCWNKIL MGTKEH
15	CXCR4 (Y157A, humano, ADN)	ATGGAGGGGATCAGTATATACAC TTCAGATAACTACACCGAGGAAA TGGGCTCAGGGGACTATGACTCC ATGAAGGAACCCTGTTTCCGTGA AGAAAATGCTAATTTCAATAAAAT CTTCCTGCCCACCATCTACTCCA TCATCTTCTTAACTGGCATTGTGG GCAATGGATTGGTCATCCTGGTC ATGGGTTACCAGAAGAAACTGAG AAGCATGACGGACAAGTACAGGC TGCACCTGTCAGTGGCCGACCTC CTCTTTGTCATCACGCTTCCCTTC TGGGCAGTTGATGCCGTGGCAAA CTGGTACTTTGGGAACTTCCTAT GCAAGGCAGTCCATGTCATCTAC ACAGTCAACCTCTACAGCAGTGT CCTCATCCTGGCCTTCATCAGTC TGGACCGCTACCTGGCCATCGTC CACGCCACCAACAGTCAGAGGC CAAGGAAGCTGTTGGCTGAAAAG GTGGTCGCTGTTGGCGTCTGGAT CCCTGCCCTCCTGCTGACTATTC CCGACTTCATCTTTGCCAACGTC AGTGAGGCAGATGACAGATATAT CTGTGACCGCTTCTACCCCAATG ACTTGTGGGTGGTTGTGTTCCAG TTTCAGCACATCATGGTTGGCCT

SEQ ID NO:	NOMBRE DE LA PROTEÍNA/ÁCIDO NUCLEICO	SECUENCIAS
		TATCCTGCCTGGTATTGTCATCCT GTCCTGCTATTGCATTATCATCTC CAAGCTGTCACACTCCAAGGGCC ACCAGAAGCGCAAGGCCCTCAA GACCACAGTCATCCTCATCCTGG CTTTCTTCGCCTGTTGGCTGCCT TACTACATTGGGATCAGCATCGA CTCCTTCATCCTCCTGGAAATCAT CAAGCAAGGGTGTGAGTTTGAGA ACACTGTGCACAAGTGGATTTCC ATCACCGAGGCCCTAGCTTTCTT CCACTGTTGTCTGAACCCCATCC TCTATGCTTTCCTTGGAGCCAAAT TTAAAACCTCTGCCCAGCACGCA CTCACCTCTGTGAGCAGAGGGTC CAGCCTCAAGATCCTCTCCAAAG GAAAGCGAGGTGGACATTCATCT GTTTCCACTGAGTCTGAGTCTTC AAGTTTTCACTCCAGCTAA
16	CXCR4 (Y159A, ratón, ADN)	ATGGAACCGATCAGTGTGAGTAT ATACACTTCTGATAACTACTCTGA AGAAGTGGGTTCTGGAGACTATG ACTCCAACAAGGAACCCTGCTTC CGGGATGAAAACGTCCATTTCAA TAGGATCTTCCTGCCCACCATCT ACTTCATCATCTTCTTGACTGGCA TAGTCGGCAATGGATTGGTGATC CTGGTCATGGGTTACCAGAAGAA GCTAAGGAGCATGACGGACAAGT ACCGGCTGCACCTGTCAGTGGCT GACCTCCTCTTTGTCATCACACTC CCCTTCTGGGCAGTTGATGCCAT

SEQ ID NO:	NOMBRE DE LA PROTEÍNA/ÁCIDO NUCLEICO	SECUENCIAS
		GGCTGACTGGTACTTTGGGAAAT TTTTGTGTAAGGCTGTCCATATCA TCTACACTGTCAACCTCTACAGC AGCGTTCTCATCCTGGCCTTCAT CAGCCTGGACCGATACCTCGCTA TTGTCCACGCCACCAACAGTCAG AGGCCAAGGAAACTGCTGGCTGA AAAGGCAGTCGCTGTGGGCGTCT GGATCCCAGCCCTCCTCCTGACT ATACCTGACTTCATCTTTGCCGAC GTCAGCCAGGGGGACATCAGTC AGGGGGATGACAGGTACATCTGT GACCGCCTTTACCCCGATAGCCT GTGGATGGTGGTGTTTCAATTCC AGCATATAATGGTGGGTCTCGTC CTGCCCGGCATCGTCATCCTCTC CTGTTACTGCATCATCATCTCTAA GCTGTCACACTCCAAGGGCCACC AGAAGCGCAAGGCCCTCAAGAC GACAGTCATCCTCATCCTAGCTTT CTTTGCCTGCTGGCTGCCATATT ATGTGGGGATCAGCATCGACTCC TTCATCCTTTTGGGGGTCATCAA GCAAGGATGTGACTTCGAGAGCA TCGTGCACAAGTGGATCTCCATC ACAGAGGCCCTCGCCTTCTTCCA CTGTTGCCTGAACCCCATCCTCT ATGCCTTCCTCGGGGCCAAGTTC AAAAGCTCTGCCCAGCATGCACT CAACTCCATGAGCAGAGGCTCCA GCCTCAAGATCCTTTCCAAAGGA AAGCGGGGTGGACACTCTTCCGT CTCCACGGAGTCAGAATCCTCCA

SEQ ID NO:	NOMBRE DE LA PROTEÍNA/ÁCIDO NUCLEICO	SECUENCIAS
		GTTTTCACTCCAGCTAA
17	CXCR4 (tipo silvestre, humano, ADN)	ATGGAGGGGATCAGTATATACAC TTCAGATAACTACACCGAGGAAA TGGGCTCAGGGGACTATGACTCC ATGAAGGAACCCTGTTTCCGTGA AGAAAATGCTAATTTCAATAAAAT CTTCCTGCCCACCATCTACTCCA TCATCTTCTTAACTGGCATTGTGG GCAATGGATTGGTCATCCTGGTC ATGGGTTACCAGAAGAAACTGAG AAGCATGACGGACAAGTACAGGC TGCACCTGTCAGTGGCCGACCTC CTCTTTGTCATCACGCTTCCCTTC TGGGCAGTTGATGCCGTGGCAAA CTGGTACTTTGGGAACTTCCTAT GCAAGGCAGTCCATGTCATCTAC ACAGTCAACCTCTACAGCAGTGT CCTCATCCTGGCCTTCATCAGTC TGGACCGCTACCTGGCCATCGTC CACGCCACCAACAGTCAGAGGC CAAGGAAGCTGTTGGCTGAAAAG GTGGTCTATGTTGGCGTCTGGAT CCCTGCCCTCCTGCTGACTATTC CCGACTTCATCTTTGCCAACGTC AGTGAGGCAGATGACAGATATAT CTGTGACCGCTTCTACCCCAATG ACTTGTGGGTGGTTGTGTTCCAG TTTCAGCACATCATGGTTGGCCT TATCCTGCCTGGTATTGTCATCCT GTCCTGCTATTGCATTATCATCTC CAAGCTGTCACACTCCAAGGGCC ACCAGAAGCGCAAGGCCCTCAA

SEQ ID NO:	NOMBRE DE LA PROTEÍNA/ÁCIDO NUCLEICO	SECUENCIAS
		GACCACAGTCATCCTCATCCTGG CTTTCTTCGCCTGTTGGCTGCCT TACTACATTGGGATCAGCATCGA CTCCTTCATCCTCCTGGAAATCAT CAAGCAAGGGTGTGAGTTTGAGA ACACTGTGCACAAGTGGATTTCC ATCACCGAGGCCCTAGCTTTCTT CCACTGTTGTCTGAACCCCATCC TCTATGCTTTCCTTGGAGCCAAAT TTAAAACCTCTGCCCAGCACGCA CTCACCTCTGTGAGCAGAGGGTC CAGCCTCAAGATCCTCTCCAAAG GAAAGCGAGGTGGACATTCATCT GTTTCCACTGAGTCTGAGTCTTC AAGTTTTCACTCCAGCTAA
18	CXCR4 (Y157A, humano) (polipéptido)	MEGISIYTSDNYTEEMGSGDYDSM KEPCFREENANFNKIFLPTIYSIIFLT GIVGNGLVILVMGYQKKLRSMTDK YRLHLSVADLLFVITLPFWAVDAVA NWYFGNFLCKAVHVIYTVNLYSSV LILAFISLDRYLAIVHATNSQRPRKL LAEKVVAVGVWIPALLLTIPDFIFAN VSEADDRYICDRFYPNDLWVVVFQ FQHIMVGLILPGIVILSCYCIIISKLSH SKGHQKRKALKTTVILILAFFACWL PYYIGISIDSFILLEIIKQGCEFENTV HKWISITEALAFFHCCLNPILYAFLG AKFKTSAQHALTSVSRGSSLKILSK GKRGGHSSVSTESESSSFHSS
19	CXCR4 (Y159A, ratón) (polipéptido)	MEPISVSIYTSDNYSEEVGSGDYD SNKEPCFRDENVHFNRIFLPTIYFII

SEQ ID NO:	NOMBRE DE LA PROTEÍNA/ÁCIDO NUCLEICO	SECUENCIAS
		FLTGIVGNGLVILVMGYQKKLRSMTDKYRLHLSVADLLFVITLPFWAVDAMADWYFGKFLCKAVHIIYTVNLYSSVLILAFISLDRYLAIVHATNSQRPRKLLAEKAVAVGVWIPALLLTIPDFIFADVSQGDISQGDDRYICDRLYPDSLWMVVFQFQHIMVGLVLPGIVILSCYCIIISKLSHSKGHQKRKALKTTVILILAFFACWLPYYVGISIDSFILLGVIKQGCDFESIVHKWISITEALAFFHCCLNPILYAFLGAKFKSSAQHALNSMSRGSSLKILSKGKRGGHSSVSTESESSSFHSS
20	CXCR4 (tipo silvestre, humano, polipéptido)	MEGISIYTSDNYTEEMGSGDYDSMKEPCFREENANFNKIFLPTIYSIIFLTGIVGNGLVILVMGYQKKLRSMTDKYRLHLSVADLLFVITLPFWAVDAVANWYFGNFLCKAVHVIYTVNLYSSVLILAFISLDRYLAIVHATNSQRPRKLLAEKVVYVGVWIPALLLTIPDFIFANVSEADDRYICDRFYPNDLWVVVFQFQHIMVGLILPGIVILSCYCIIISKLSHSKGHQKRKALKTTVILILAFFACWLPYYIGISIDSFILLEIIKQGCEFENTVHKWISITEALAFFHCCLNPILYAFLGAKFKTSAQHALTSVSRGSSLKILSKGKRGGHSSVSTESESSSFHSS
21	CCR2 (Humano, ADN)	ATGCTGTCCACATCTCGTTCTCGGTTTATCAGAAATACCAACGAGAGCGGTGAAGAAGTCACCACCTTTTTTGATTATGATTACGGTGCTCCC

SEQ ID NO:	NOMBRE DE LA PROTEÍNA/ÁCIDO NUCLEICO	SECUENCIAS
		TGTCATAAATTTGACGTGAAGCAA ATTGGGGCCCAACTCCTGCCTCC GCTCTACTCGCTGGTGTTCATCT TTGGTTTTGTGGGCAACATGCTG GTCGTCCTCATCTTAATAAACTGC AAAAAGCTGAAGTGCTTGACTGA CATTTACCTGCTCAACCTGGCCA TCTCTGATCTGCTTTTTCTTATTA CTCTCCCATTGTGGGCTCACTCT GCTGCAAATGAGTGGGTCTTTGG GAATGCAATGTGCAAATTATTCAC AGGGCTGTATCACATCGGTTATT TTGGCGGAATCTTCTTCATCATCC TCCTGACAATCGATAGATACCTG GCTATTGTCCATGCTGTGTTTGCT TTAAAAGCCAGGACGGTCACCTT TGGGGTGGTGACAAGTGTGATCA CCTGGTTGGTGGCTGTGTTTGCT TCTGTCCCAGGAATCATCTTTACT AAATGCCAGAAAGAAGATTCTGT TTATGTCTGTGGCCCTTATTTTCC ACGAGGATGGAATAATTTCCACA CAATAATGAGGAACATTTTGGGG CTGGTCCTGCCGCTGCTCATCAT GGTCATCTGCTACTCGGGAATCC TGAAAACCCTGCTTCGGTGTCGA AACGAGAAGAAGAGGCATAGGG CAGTGAGAGTCATCTTCACCATC ATGATTGTTTACTTTCTCTTCTGG ACTCCCTATAATATTGTCATTCTC CTGAACACCTTCCAGGAATTCTT CGGCCTGAGTAACTGTGAAAGCA CCAGTCAACTGGACCAAGCCACG

SEQ ID NO:	NOMBRE DE LA PROTEÍNA/ÁCIDO NUCLEICO	SECUENCIAS
		CAGGTGACAGAGACTCTTGGGAT GACTCACTGCTGCATCAATCCCA TCATCTATGCCTTCGTTGGGGAG AAGTTCAGAAGCCTTTTTCACATA GCTCTTGGCTGTAGGATTGCCCC ACTCCAAAAACCAGTGTGTGGAG GTCCAGGAGTGAGACCAGGAAA GAATGTGAAAGTGACTACACAAG GACTCCTCGATGGTCGTGGAAAA GGAAAGTCAATTGGCAGAGCCCC TGAAGCCAGTCTTCAGGACAAAG AAGGAGCCTAG
22	CCR2 (Ratón, ADN)	ATGGAAGACAATAATATGTTACCT CAGTTCATCCACGGCATACTATC AACATCTCATTCTCTATTTACACG AAGTATCCAAGAGCTTGATGAAG GGGCCACCACACCGTATGACTAC GATGATGGTGAGCCTTGTCATAA AACCAGTGTGAAGCAAATTGGAG CTTGGATCCTGCCTCCACTCTAC TCCCTGGTATTCATCTTTGGTTTT GTGGGCAACATGTTGGTCATTAT AATTCTGATAGGCTGTAAAAAGCT GAAGAGCATGACTGATATCTATC TGCTCAACTTGGCCATCTCTGAC CTGCTCTTCCTGCTCACATTACCA TTCTGGGCTCACTATGCTGCAAA TGAGTGGGTCTTTGGGAATATAA TGTGTAAAGTATTCACAGGGCTC TATCACATTGGTTATTTTGGTGGA ATCTTTTTCATTATCCTCCTGACA ATTGATAGGTACTTGGCTATTGTT

SEQ ID NO:	NOMBRE DE LA PROTEÍNA/ÁCIDO NUCLEICO	SECUENCIAS
		CATGCTGTGTTTGCTTTAAAAGCC AGGACAGTTACCTTTGGGGTGAT AACAAGTGTAGTCACTTGGGTGG TGGCTGTGTTTGCCTCTCTACCA GGAATCATATTTACTAAATCCAAA CAAGATGATCACCATTACACCTG TGGCCCTTATTTTACACAACTATG GAAGAATTTCCAAACAATAATGAG AAATATCTTGAGCCTGATCCTGC CTCTACTTGTCATGGTCATCTGCT ACTCAGGAATTCTCCACACCCTG TTTCGCTGTAGGAATGAGAAGAA GAGGCACAGGGCTGTGAGGCTC ATCTTTGCCATCATGATTGTCTAC TTTCTCTTCTGGACTCCATACAAT ATTGTTCTCTTCTTGACCACCTTC CAGGAATCCTTGGGAATGAGTAA CTGTGTGATTGACAAGCACTTAG ACCAGGCCATGCAGGTGACAGA GACTCTTGGAATGACACACTGCT GCATTAATCCTGTCATTTATGCCT TTGTTGGAGAGAAGTTCCGAAGG TATCTCTCCATATTTTTCAGAAAG CACATTGCTAAACGTCTCTGCAA ACAGTGCCCAGTTTTCTATAGGG AGACAGCAGATCGAGTAAGCTCT ACATTCACTCCTTCCACTGGGGA GCAAGAGGTCTCGGTTGGGTTGT AA
23	CCR2 (Humana, proteína)	MLSTSRSRFIRNTNESGEEVTTFF DYDYGAPCHKFDVKQIGAQLLPPL YSLVFIFGFVGNMLVVLILINCKKLK

SEQ ID NO:	NOMBRE DE LA PROTEÍNA/ÁCIDO NUCLEICO	SECUENCIAS
		CLTDIYLLNLAISDLLFLITLPLWAHS AANEWVFGNAMCKLFTGLYHIGYF GGIFFIILLTIDRYLAIVHAVFALKAR TVTFGVVTSVITWLVAVFASVPGIIF TKCQKEDSVYVCGPYFPRGWNNF HTIMRNILGLVLPLLIMVICYSGILKT LLRCRNEKKRHRAVRVIFTIMIVYFL FWTPYNIVILLNTFQEFFGLSNCES TSQLDQATQVTETLGMTHCCINPII YAFVGEKFRSLFHIALGCRIAPLQK PVCGGPGVRPGKNVKVTTQGLLD GRGKGKSIGRAPEASLQDKEGA
24	CCR2 (Ratón, proteína)	MEDNNMLPQFIHGILSTSHSLFTRS IQELDEGATTPYDYDDGEPCHKTS VKQIGAWILPPLYSLVFIFGFVGNM LVIIILIGCKKLKSMTDIYLLNLAISDL LFLLTLPFWAHYAANEWVFGNIMC KVFTGLYHIGYFGGIFFIILLTIDRYL AIVHAVFALKARTVTFGVITSVVTW VVAVFASLPGIIFTKSKQDDHHYTC GPYFTQLWKNFQTIMRNILSLILPLL VMVICYSGILHTLFRCRNEKKRHRA VRLIFAIMIVYFLFWTPYNIVLFLTTF QESLGMSNCVIDKHLDQAMQVTET LGMTHCCINPVIYAFVGEKFRRYLS IFFRKHIAKRLCKQCPVFYRETADR VSSTFTPSTGEQEVSVGL
25	PH-20 (humano, longitud completa) (ADN)	ATGGGAGTGCTAAAATTCAAGCA CATCTTTTTCAGAAGCTTTGTTAA ATCAAGTGGAGTATCCCAGATAG TTTTCACCTTCCTTCTGATTCCAT

SEQ ID NO:	NOMBRE DE LA PROTEÍNA/ÁCIDO NUCLEICO	SECUENCIAS
		GTTGCTTGACTCTGAATTTCAGA GCACCTCCTGTTATTCCAAATGT GCCTTTCCTCTGGGCCTGGAATG CCCCAAGTGAATTTTGTCTTGGA AAATTTGATGAGCCACTAGATATG AGCCTCTTCTCTTTCATAGGAAG CCCCCGAATAAACGCCACCGGG CAAGGTGTTACAATATTTTATGTT GATAGACTTGGCTACTATCCTTAC ATAGATTCAATCACAGGAGTAACT GTGAATGGAGGAATCCCCCAGAA GATTTCCTTACAAGACCATCTGG ACAAAGCTAAGAAAGACATTACAT TTTATATGCCAGTAGACAATTTGG GAATGGCTGTTATTGACTGGGAA GAATGGAGACCCACTTGGGCAAG AAACTGGAAACCTAAAGATGTTTA CAAGAATAGGTCTATTGAATTGGT TCAGCAACAAAATGTACAACTTAG TCTCACAGAGGCCACTGAGAAAG CAAAACAAGAATTTGAAAAGGCA GGGAAGGATTTCCTGGTAGAGAC TATAAAATTGGGAAAATTACTTCG GCCAAATCACTTGTGGGGTTATT ATCTTTTTCCGGATTGTTACAACC ATCACTATAAGAAACCCGGTTAC AATGGAAGTTGCTTCAATGTAGA AATAAAAAGAAATGATGATCTCAG CTGGTTGTGGAATGAAAGCACTG CTCTTTACCCATCCATTTATTTGA ACACTCAGCAGTCTCCTGTAGCT GCTACACTCTATGTGCGCAATCG AGTTCGGGAAGCCATCAGAGTTT

SEQ ID NO:	NOMBRE DE LA PROTEÍNA/ÁCIDO NUCLEICO	SECUENCIAS
		CCAAAATACCTGATGCAAAAAGT CCACTTCCGGTTTTTGCATATACC CGCATAGTTTTTACTGATCAAGTT TTGAAATTCCTTTCTCAAGATGAA CTTGTGTATACATTTGGCGAAACT GTTGCTCTGGGTGCTTCTGGAAT TGTAATATGGGGAACCCTCAGTA TAATGCGAAGTATGAAATCTTGCT TGCTCCTAGACAATTACATGGAG ACTATACTGAATCCTTACATAATC AACGTCACACTAGCAGCCAAAAT GTGTAGCCAAGTGCTTTGCCAGG AGCAAGGAGTGTGTATAAGGAAA AACTGGAATTCAAGTGACTATCTT CACCTCAACCCAGATAATTTTGCT ATTCAACTTGAGAAAGGTGGAAA GTTCACAGTACGTGGAAAACCGA CACTTGAAGACCTGGAGCAATTT TCTGAAAAATTTTATTGCAGCTGT TATAGCACCTTGAGTTGTAAGGA GAAAGCTGATGTAAAAGACACTG ATGCTGTTGATGTGTGTATTGCT GATGGTGTCTGTATAGATGCTTTT CTAAAACCTCCCATGGAGACAGA AGAACCTCAAATTTTCTACAATGC TTCACCCTCCACACTATCTGCCA CAATGTTCATTGTTAGTATTTTGT TTCTTATCATTTCTTCTGTAGCGA GTTTGTAA
26	PH-20 (humana, longitud completa) (proteína)	MGVLKFKHIFFRSFVKSSGVSQIVF TFLLIPCCLTLNFRAPPVIPNVPFLW AWNAPSEFCLGKFDEPLDMSLFSF

SEQ ID NO:	NOMBRE DE LA PROTEÍNA/ÁCIDO NUCLEICO	SECUENCIAS
		IGSPRINATGQGVTIFYVDRLGYYP YIDSITGVTVNGGIPQKISLQDHLDK AKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEW RPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQ QQNVQLSLTEATEKAKQEFEKAGK DFLVETIKLGKLLRPNHLWGYYLFP DCYNHHYKKPGYNGSCFNVEIKRN DDLSWLWNESTALYPSIYLNTQQS PVAATLYVRNRVREAIRVSKIPDAK SPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQDE LVYTFGETVALGASGIVIWGTLSIM RSMKSCLLLDNYMETILNPYIINVTL AAKMCSQVLCQEQGVCIRKNWNS SDYLHLNPDNFAIQLEKGGKFTVR GKPTLEDLEQFSEKFYCSCYSTLS CKEKADVKDTDAVDVCIADGVCID AFLKPPMETEEPQIFYNASPSTLSA TMFIVSILFLIISSVASL
27	Hialuronidasa (ADN)	CCGCGATACGAATGTTCAAACGC CAGATTATGAAAAGTTGAGGAAC ACATGGCTGAACGTTAACTACGG TTATGATCAGTATGATGAGAAGAA TGACGCAATGAAGAAGAAGTTTG ATGCTACGGAGAAAGAGGCAGA GAAATTACTCAGTAGCATGAAAA CTGAAAGTGGAAGGACTTACTTG TGGGATAGTGCAAAAGATTTAGA TAACAAGTCTGCGGATATGACTC GTACCTATCGTAATATTGAGAAAA TCGCAGAAGCGATGAAGCATAAA GATACTAAGTTAAATACTCCGGAT AATAAAAACAAAGTTAAAGATGCC

SEQ ID NO:	NOMBRE DE LA PROTEÍNA/ÁCIDO NUCLEICO	SECUENCIAS
		CTTGAGTGGCTGCATAAAAATGC CTATGGAAAAGAACCGGTGAAAA AACTTGAAGAACTAAAAACAAATT TCTCAAAATCAGCACCTCAAAAG AATACAAACTTAAATTGGTGGGAT TATGAAATTGGAACACCTAGAGC ACTAACAAATACCCTTATACTCTT AAAAGAAGATTTTACTGATGAAGA AAAGAAAAAATACACTGCCCCTAT TAAAACTTTCGCCCCAAAAAGTG ATGAAATATTATCTTCTGTAGGAA AAGCTGAACCTGCTAAAGGCGGA AATTTAGTAGACATTTCTAAAGTA AAACTTTTAGAAAGTATTATCGAA GAAGATGCAACTATGATGAAAGA ATCAATAGAGGCATTTAATAAAGT CTTCACTTACGTTCAAAGTAATGC AACTGGTAAAGAACGTAATGGAT TCTATAAAGACGGCTCTTATATTG ATCATCAAGACGTCCCATACACT GGTGCTTATGGCGTTGTACTCTT AGAGGGGATTTCTCAAATGATGC CGATGATAAAAGAAACACCTTTTA AAGATAGTAATCAAAATGATACAA CATTAAAGTCGTGGATTGATGAA GGATTTATGCCACTCATTTATAAA GGTGAAATGATGGATTTATCACG TGGTAGAGCCATTAGCCGTGAAA ATGAAACGAGTCACTCAACATCT GCAACTGTAATGAAATCATTGTTG AGATTAAGTGATGCCATGGATGA GTCAACAAAAGCTAAATATAAGCA AATCGTTAAAACTTCTGTTAAATC

SEQ ID NO:	NOMBRE DE LA PROTEÍNA/ÁCIDO NUCLEICO	SECUENCIAS
		TGATTCAAGTTATAAACAAAACGA TTATTTAAGCTCTTATTCAGATAT AAGCAAAATGAAGTCTTTAATTGA AGACAGCACTATTTCTACTAACG GTTTAACACAACAACTTAAAATAT ATAATGACATGAATCGTGTCACCT ATCATAACAAAGACTTAGACTTTG CATTTGGCTTAAGTATGACGTCG AAAAACGTCGCACATTACGAAAG TATCAACGGAGAGAACTTAAAAG GTTGGCACACTGGTGCTGGAATG TCTTATTTATACAATAGCGATGTG AAACACTACCGTGATAACTTCTG GGCGACAGCTGATATGAAACGTT TAGCAGGTACTACAACTTTAGATA ATGAAGAACCTAAAGAAAATAAG AACTCCGATAAAACTTTTGTAGGC GGAACAAAATTCGATGACCAACA TGCTAGTATCGGAATGGATTTTG AAAATCAGGACAAAACTTTAACTG CCAAAAAATCATATTTCATATTAA ACGATAAAATTGTCTTCTTAGGAA CTGGCATTAAAAGTACTGATTCAT CAAAGAATCCAGTGACAACGATT GAAAATCGCAAATCGAATGGGTA TACGTTATTTACAGACGATAAACA AACAACCGCTTCAAATATTAATGA TCAGGAAACCAATTCAGTCTTTTT AGAGTCCACAGATACAAAAAAGA ACATCGGTTATCATTTTTTAAACG AATCGAAAATAACTGTAAAAAAAG AAAGTCATACTGGTAAGTGGAGT GATATAAATAAAAGTCAAAAGTCA

SEQ ID NO:	NOMBRE DE LA PROTEÍNA/ÁCIDO NUCLEICO	SECUENCIAS
		GATGACAAAACTGATGAGTATTAT GAAGTAACTCAAAAGCATTCTAAT ACAGATGATAAATATGCATATGTC TTGTATCCAGGCTTATCTAAAGAT AATTTTAAATCCAAAGCAAGCCAA GTAACTATCGTTAAACAAGATGAT GACTTCCACATTGTGAAAGATAAT GAATCGGTTTGGGCTGGTGTCAA TTATAGTAATAGCACTCAAACTTT TGACATTAACAACACCAAGGTTG AGGTTAAAGCGAAAGGGATGTTC ATTTTGAAAAACAAGGACGATAAT ACGTACGAATGCTCATTCTATAAT CCTGAGTCTACGAATACGGCTTC AGACATAGAAAGTAAGATCAGTA TGACGGGATACTCAATCACGAAT AAAAACACAAGTACGTCCAACGA AAGTGGTGTGCATTTCGAGTTGA CTAAATATGCTGCCGCGATGTCT GGAGCAGGTCCGTGGGCAGCCT GGCCATTCCTACTCTCACTGGCG CTCATGCTACTATGGCTGCTCTC ATGA
28	Hialuronidasa (proteína)	GRDTNVQTPDYEKLRNTWLNVNY GYDQYDEKNDAMKKKFDATEKEA EKLLSSMKTESGRTYLWDSAKDLD NKSADMTRTYRNIEKIAEAMKHKD TKLNTPDNKNKVKDALEWLHKNAY GKEPVKKLEELKTNFSKSAPQKNT NLNWWDYEIGTPRALTNTLILLKED FTDEEKKKYTAPIKTFAPKSDEILSS VGKAEPAKGGNLVDISKVKLLESIIE

SEQ ID NO:	NOMBRE DE LA PROTEÍNA/ÁCIDO NUCLEICO	SECUENCIAS
		EDATMMKESIEAFNKVFTYVQSNA TGKERNGFYKDGSYIDHQDVPYTG AYGVVLLEGISQMMPMIKETPFKD SNQNDTTLKSWIDEGFMPLIYKGE MMDLSRGRAISRENETSHSTSATV MKSLLRLSDAMDESTKAKYKQIVK TSVKSDSSYKQNDYLSSYSDISKM KSLIEDSTISTNGLTQQLKIYNDMN RVTYHNKDLDFAFGLSMTSKNVAH YESINGENLKGWHTGAGMSYLYN SDVKHYRDNFWATADMKRLAGTT TLDNEEPKENKNSDKTFVGGTKFD DQHASIGMDFENQDKTLTAKKSYFI LNDKIVFLGTGIKSTDSSKNPVTTIE NRKSNGYTLFTDDKQTTASNINDQ ETNSVFLESTDTKKNIGYHFLNESK ITVKKESHTGKWSDINKSQKSDDK TDEYYEVTQKHSNTDDKYAYVLYP GLSKDNFKSKASQVTIVKQDDDFHI VKDNESVWAGVNYSNSTQTFDINN TKVEVKAKGMFILKNKDDNTYECS FYNPESTNTASDIESKISMTGYSIT NKNTSTSNESGVHFELTKYAAAMS GAGPWAAWPFLLSLALMLLWLLS
29	Hialuronidasa con secuencia señal derivada de IgE (ADN)	ATGGACTGGACATGGATTCTCTT TCTAGTGGCCGCAGCCACAAGG GTCCACAGCGGCCGCGATACGA ATGTTCAAACGCCAGATTATGAAA AGTTGAGGAACACATGGCTGAAC GTTAACTACGGTTATGATCAGTAT GATGAGAAGAATGACGCAATGAA GAAGAAGTTTGATGCTACGGAGA

SEQ ID NO:	NOMBRE DE LA PROTEÍNA/ÁCIDO NUCLEICO	SECUENCIAS
		AAGAGGCAGAGAAATTACTCAGT AGCATGAAAACTGAAAGTGGAAG GACTTACTTGTGGGATAGTGCAA AAGATTTAGATAACAAGTCTGCG GATATGACTCGTACCTATCGTAAT ATTGAGAAAATCGCAGAAGCGAT GAAGCATAAAGATACTAAGTTAAA TACTCCGGATAATAAAAACAAAGT TAAAGATGCCCTTGAGTGGCTGC ATAAAAATGCCTATGGAAAAGAA CCGGTGAAAAAACTTGAAGAACT AAAAACAAATTTCTCAAAATCAGC ACCTCAAAAGAATACAAACTTAAA TTGGTGGGATTATGAAATTGGAA CACCTAGAGCACTAACAAATACC CTTATACTCTTAAAAGAAGATTTT ACTGATGAAGAAAAGAAAAAATA CACTGCCCCTATTAAAACTTTCGC CCCAAAAAGTGATGAAATATTATC TTCTGTAGGAAAAGCTGAACCTG CTAAAGGCGGAAATTTAGTAGAC ATTTCTAAAGTAAAACTTTTAGAA AGTATTATCGAAGAAGATGCAAC TATGATGAAAGAATCAATAGAGG CATTTAATAAAGTCTTCACTTACG TTCAAAGTAATGCAACTGGTAAA GAACGTAATGGATTCTATAAAGA CGGCTCTTATATTGATCATCAAGA CGTCCCATACACTGGTGCTTATG GCGTTGTACTCTTAGAGGGGATT TCTCAAATGATGCCGATGATAAAA GAAACACCTTTTAAAGATAGTAAT CAAAATGATACAACATTAAAGTCG

SEQ ID NO:	NOMBRE DE LA PROTEÍNA/ÁCIDO NUCLEICO	SECUENCIAS
		TGGATTGATGAAGGATTTATGCC ACTCATTTATAAAGGTGAAATGAT GGATTTATCACGTGGTAGAGCCA TTAGCCGTGAAAATGAAACGAGT CACTCAACATCTGCAACTGTAAT GAAATCATTGTTGAGATTAAGTGA TGCCATGGATGAGTCAACAAAAG CTAAATATAAGCAAATCGTTAAAA CTTCTGTTAAATCTGATTCAAGTT ATAAACAAAACGATTATTTAAGCT CTTATTCAGATATAAGCAAAATGA AGTCTTTAATTGAAGACAGCACTA TTTCTACTAACGGTTTAACACAAC AACTTAAAATATATAATGACATGA ATCGTGTCACCTATCATAACAAAG ACTTAGACTTTGCATTTGGCTTAA GTATGACGTCGAAAAACGTCGCA CATTACGAAAGTATCAACGGAGA GAACTTAAAAGGTTGGCACACTG GTGCTGGAATGTCTTATTTATACA ATAGCGATGTGAAACACTACCGT GATAACTTCTGGGCGACAGCTGA TATGAAACGTTTAGCAGGTACTA CAACTTTAGATAATGAAGAACCTA AAGAAAATAAGAACTCCGATAAAA CTTTTGTAGGCGGAACAAAATTC GATGACCAACATGCTAGTATCGG AATGGATTTTGAAAATCAGGACAA AACTTTAACTGCCAAAAAATCATA TTTCATATTAAACGATAAAATTGT CTTCTTAGGAACTGGCATTAAAA GTACTGATTCATCAAAGAATCCA GTGACAACGATTGAAAATCGCAA

SEQ ID NO:	NOMBRE DE LA PROTEÍNA/ÁCIDO NUCLEICO	SECUENCIAS
		ATCGAATGGGTATACGTTATTTAC AGACGATAAACAAACAACCGCTT CAAATATTAATGATCAGGAAACCA ATTCAGTCTTTTTAGAGTCCACAG ATACAAAAAAGAACATCGGTTATC ATTTTTTAAACGAATCGAAAATAA CTGTAAAAAAAGAAAGTCATACTG GTAAGTGGAGTGATATAAATAAAA GTCAAAAGTCAGATGACAAAACT GATGAGTATTATGAAGTAACTCAA AAGCATTCTAATACAGATGATAAA TATGCATATGTCTTGTATCCAGGC TTATCTAAAGATAATTTTAAATCC AAAGCAAGCCAAGTAACTATCGT TAAACAAGATGATGACTTCCACAT TGTGAAAGATAATGAATCGGTTT GGGCTGGTGTCAATTATAGTAAT AGCACTCAAACTTTTGACATTAAC AACACCAAGGTTGAGGTTAAAGC GAAAGGGATGTTCATTTTGAAAAA CAAGGACGATAATACGTACGAAT GCTCATTCTATAATCCTGAGTCTA CGAATACGGCTTCAGACATAGAA AGTAAGATCAGTATGACGGGATA CTCAATCACGAATAAAAACACAA GTACGTCCAACGAAAGTGGTGTG CATTTCGAGTTGACTAAATATGCT GCCGCGATGTCTGGAGCAGGTC CGTGGGCAGCCTGGCCATTCCTA CTCTCACTGGCGCTCATGCTACT ATGGCTGCTCTCATGA
30	Hialuronidasa con secuencia señal	MDWTWILFLVAAATRVHSGRDTNV

SEQ ID NO:	NOMBRE DE LA PROTEÍNA/ÁCIDO NUCLEICO	SECUENCIAS
	derivada de IgE (proteína)	QTPDYEKLRNTWLNVNYGYDQYD EKNDAMKKKFDATEKEAEKLLSSM KTESGRTYLWDSAKDLDNKSADM TRTYRNIEKIAEAMKHKDTKLNTPD NKNKVKDALEWLHKNAYGKEPVK KLEELKTNFSKSAPQKNTNLNWW DYEIGTPRALTNTLILLKEDFTDEEK KKYTAPIKTFAPKSDEILSSVGKAE PAKGGNLVDISKVKLLESIIEEDATM MKESIEAFNKVFTYVQSNATGKER NGFYKDGSYIDHQDVPYTGAYGVV LLEGISQMMPMIKETPFKDSNQND TTLKSWIDEGFMPLIYKGEMMDLS RGRAISRENETSHSTSATVMKSLL RLSDAMDESTKAKYKQIVKTSVKS DSSYKQNDYLSSYSDISKMKSLIED STISTNGLTQQLKIYNDMNRVTYHN KDLDFAFGLSMTSKNVAHYESING ENLKGWHTGAGMSYLYNSDVKHY RDNFWATADMKRLAGTTTLDNEE PKENKNSDKTFVGGTKFDDQHASI GMDFENQDKTLTAKKSYFILNDKIV FLGTGIKSTDSSKNPVTTIENRKSN GYTLFTDDKQTTASNINDQETNSV FLESTDTKKNIGYHFLNESKITVKK ESHTGKWSDINKSQKSDDKTDEYY EVTQKHSNTDDKYAYVLYPGLSKD NFKSKASQVTIVKQDDDFHIVKDNE SVWAGVNYSNSTQTFDINNTKVEV KAKGMFILKNKDDNTYECSFYNPE STNTASDIESKISMTGYSITNKNTST SNESGVHFELTKYAAAMSGAGPW AAWPFLLSLALMLLWLLS

SEQ ID NO:	NOMBRE DE LA PROTEÍNA/ÁCIDO NUCLEICO	SECUENCIAS
31	IL-2 (ratón, ADN)	AATTCTATGGCTCCGACTTCAAGT TCTACCAAGAAGACCCAGCTTCA ATTAGAACATTTACTTCTAGATTT ACAAATGATTCTGAATGGTATCAA CAATTATAAGAATCCAAAGCTTAC TCGTATGTTGACCTTTAAATTCTA TATGCCTAAGAAGGCTACTGAAT TAAAACACCTGCAGTGTTTAGAA GAAGAGCTCAAACCGTTAGAAGA AGTTCTGAATCTGGCTCAATCTAA AAACTTCCATTTACGTCCACGAG ATCTTATCTCTAATATTAACGTAA TCGTTTTGGAACTTAAAGGATCC GAAACTACCTTCATGTGTGAATAT GCTGACGAAACCGCTACGATCGT AGAATTTCTTAATCGATGGATTAC TTTCTGTCAATCTATTATCTCTAC CTTAACTTGAGTCGACG
32	IL-2 (humano, ADN)	ATGTACAGGATGCAACTCCTGTC TTGCATTGCACTAAGTCTTGCACT TGTCACAAACAGTGCACCTACTT CAAGTTCTACAAAGAAAACACAG CTACAACTGGAGCATTTACTGCT GGATTTACAGATGATTTTGAATGG AATTAATAATTACAAGAATCCCAA ACTCACCAGGATGCTCACATTTA AGTTTTACATGCCCAAGAAGGCC ACAGAACTGAAACATCTTCAGTG TCTAGAAGAAGAACTCAAACCTC TGGAGGAAGTGCTAAATTTAGCT CAAAGCAAAAACTTTCACTTAAGA

SEQ ID NO:	NOMBRE DE LA PROTEÍNA/ÁCIDO NUCLEICO	SECUENCIAS
		CCCAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTAATAGTTCTGGAACTAAAGGGATCTGAAACAACATTCATGTGTGAATATGCTGATGAGACAGCAACCATTGTAGAATTTCTGAACAGATGGATTACCTTTTGTCAAAGCATCATCTCAACACTGACTTGA
33	IL-2 (ratón, proteína)	MYSMQLASCVTLTLVLLVNSAPTSSSTSSSTAEAQQQQQQQQQQQQHLEQLLMDLQELLSRMENYRNLKLPRMLTFKFYLPKQATELKDLQCLEDELGPLRHVLDLTQSKSFQLEDAENFISNIRVTVVKLKGSDNTFECQFDDESATVVDFLRRWIAFCQSIISTSPQ
34	IL-2 (humana, proteína)	MYRMQLLSCIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
35	loxP	ATAACTTCGTATAGCATACATTATACGAAGTTAT
36	dnIRF7 (DNA)	ATGCCAGGGCTCCCTGCTGGGGAGCTGTACGGGTGGGCAGTAGAGACGACCCCCAGCCCCGGGCCCCAGCCCGCGGCACTAACGACAGGCGAGGCCGCGGCCCCAGAGTC

SEQ ID NO:	NOMBRE DE LA PROTEÍNA/ÁCIDO NUCLEICO	SECUENCIAS
		CCCGCACCAGGCAGAGCCGTAC CTGTCACCCTCCCCAAGCGCCTG CACCGCGGTGCAAGAGCCCAGC CCAGGGGCGCTGGACGTGACCA TCATGTACAAGGGCCGCACGGTG CTGCAGAAGGTGGTGGGACACC CGAGCTGCACGTTCCTATACGGC CCCCCAGACCCAGCTGTCCGGG CCACAGACCCCCAGCAGGTAGC ATTCCCCAGCCCTGCCGAGCTAC CGGACCAGAAGCAGCTGCGCTA CACGGAGGAACTGCTGCGGCAC GTGGCCCCTGGGTTGCACCTGG AGCTTCGGGGGCCACAGCTGTG GGCCCGGCGCATGGGCAAGTGC AAGGTGTACTGGGAGGTGGGCG GACCCCCAGGCTCCGCCAGCCC CTCCACCCCAGCCTGCCTGCTGC CTCGGAACTGTGACACCCCCATC TTCGACTTCAGAGTCTTCTTCCAA GAGCTGGTGGAATTCCGGGCAC GGCAGCGCCGTGGCTCCCCACG CTATACCATCTACCTGGGCTTCG GGCAGGACCTGTCAGCTGGGAG GCCCAAGGAGAAGAGCCTGGTC CTGGTGAAGCTGGAACCCTGGCT GTGCCGAGTGCACCTAGAGGGC ACGCAGCGTGAGGGTGTGTCTTC CCTGGATAGCAGCAGCCTCAGCC TCTGCCTGTCCAGCGCCAACAGC CTCTATGACGACATCGAGTGCTT CCTTATGGAGCTGGAGCAGCCC GCCTAG

SEQ ID NO:	NOMBRE DE LA PROTEÍNA/ÁCIDO NUCLEICO	SECUENCIAS
37	dnIRF7 (polipéptido)	MPGLPAGELYGWAVETTPSPGPQ PAALTTGEAAAPESPHQAEPYLSP SPSACTAVQEPSPGALDVTIMYKG RTVLQKVVGHPSCTFLYGPPDPAV RATDPQQVAFPSPAELPDQKQLRY TEELLRHVAPGLHLELRGPQLWAR RMGKCKVYWEVGGPPGSASPSTP ACLLPRNCDTPIFDFRVFFQELVEF RARQRRGSPRYTIYLGFGQDLSAG RPKEKSLVLVKLEPWLCRVHLEGT QREGVSSLDSSSLSLCLSSANSLY DDIECFLMELEQPA
38	vIRF3 (DNA)	ATGGCAGGCAGACGGCTTACATG GATCAGCGAGTTTATCGTAGGTG CCCTGGACTCTGATAAGTACCCC TTGGTAAAATGGCTTGATCGGTC AACGGGAACTTTTCTGGCTCCCG CTGCGAGAAATGACGTAATACCA CTGGATTCCCTGCAGTTTTTCATA GATTTTAAGAGGGAGTGTTTGTC AAAGGGGCTCCACCCCCGAGAT CTTTTGGGTAGTCCAATAACTGC GTTCGGTAAGATTTGTACAACTA GCCGACGGCTGAGACGATTGCC CGGTGAAGAGTACGAAGTTGTCC AAGGAATCAACTGCCGGCGGTG GCGGCTTCTCTGCGCCGAAGTGA AAGAATGCTGGTGGTGTGTACAC GCGCGAACACATCTGCACTCCGG AAGCAGCCTTTGGGAAATTCTCT ACCAGCATTCCGTAAGACTTGAA

SEQ ID NO:	NOMBRE DE LA PROTEÍNA/ÁCIDO NUCLEICO	SECUENCIAS
		AAGCACCGACGAAGGCCCAGGC CCTTTGTAGGAGAGAACAGTGAT TCTTCTGAGGAAGACCACCCTGC TTTCTGCGATGTGCCCGTAACAC AAACGGGCGCGGAGAGCGAGGA CAGCGGCGATGAAGGTCCTTCCA CCAGACACAGCGCCTCAGGTGTC CAACCGGTAGACGATGCTAATGC CGACTCCCCTGGTTCTGGAGACG AAGGTCCCAGCACCCGCCATAGC GACAGTCAACCTCCTCCCGCCGA TGAAACCACTGTCCACACAGACA ATGTAGAGGACGATTTGACACTC CTTGATAAAGAGTCCGCGTGCGC ATTGATGTATCACGTGGGGCAGG AGATGGACATGCTTATGCGAGCG ATGTGCGATGAAGACTTGTTTGA TTTGCTTGGGATCCCTGAGGATG TAATAGCCACAAGTCAGCCTGGT GGTGATACGGACGCCTCTGGCG TTGTTACGGAGGGTAGTATTGCT GCTAGCGCCGTGGGCGCAGGGG TTGAAGATGTCTACTTGGCAGGA GCCCTCGAAGCACAGAATGTCGC AGGGGAGTATGTGCTTGAGATCT CTGATGAGGAAGTAGACGATGGC GCTGGACTCCCTCCCGCCTCAAG GCGGAGACCCGTTGTTGGAGAG TTCTTGTGGGACGACGGTCCTAG GCGCCACGAAAGGCCAACGACC CGCAGAATTAGGCACAGGAAACT CAGGTCTGCGTACTACAGAGTAG CACGGCCCCCAGTGATGATCACG

SEQ ID NO:	NOMBRE DE LA PROTEÍNA/ÁCIDO NUCLEICO	SECUENCIAS
		GACAGGCTGGGCGTTGAGGTTTT TTACTTCGGAAGGCCGGCTATGA GCCTTGAAGTGGAACGAAAAGTA TTCATCTTGTGTAGCCAGAATCC GCTGGCAGACATCAGTCACTCCT GCCTCCATTCACGAAAAGGGCTT CGAGTCCTGCTGCCAAAACCGGA CGACAATAATACTGGTCCGGGAG ATGTTAACCTCCTCGCAGCGGTG TTGAGATCTTTTGCATCAGGCTTG GTGATAGTCTCACTCCGAAGCGG AATCTACGTGAAGAACCTCTGCA AGAGCACCGTCCTGTATCACGGA AACAACCCCCCAAAAAAGTTTGG CGTTATATGCGGACTTTCATCCA GAGCAGTTCTTGACGTGTTTAAT GTTGCCCAATACCGGATTCAGGG CCATGAACACATCAAAAAGACAA CCGTCTTCATCGGGGGAGACCC GACTTCAGCGGAGCAATTTGATA TGGTGCCACTCGTTATCAAGCTT CGGTTGAGATCAGTGACGTGCGA CGATTAA
39	vIRF3 (polipéptido)	MAGRRLTWISEFIVGALDSDKYPLV KWLDRSTGTFLAPAARNDVIPLDS LQFFIDFKRECLSKGLHPRDLLGSP ITAFGKICTTSRRLRRLPGEEYEVV QGINCRRWRLLCAEVKECWWCVH ARTHLHSGSSLWEILYQHSVRLEK HRRRPRPFVGENSDSSEEDHPAF CDVPVTQTGAESEDSGDEGPSTR HSASGVQPVDDANADSPGSGDEG

SEQ ID NO:	NOMBRE DE LA PROTEÍNA/ÁCIDO NUCLEICO	SECUENCIAS
		PSTRHSDSQPPPADETTVHTDNVE DDLTLLDKESACALMYHVGQEMD MLMRAMCDEDLFDLLGIPEDVIATS QPGGDTDASGVVTEGSIAASAVGA GVEDVYLAGALEAQNVAGEYVLEI SDEEVDDGAGLPPASRRRPVVGE FLWDDGPRRHERPTTRRIRHRKLR SAYYRVARPPVMITDRLGVEVFYF GRPAMSLEVERKVFILCSQNPLADI SHSCLHSRKGLRVLLPKPDDNNTG PGDVNLLAAVLRSFASGLVIVSLRS GIYVKNLCKSTVLYHGNNPPKKFG VICGLSSRAVLDVFNVAQYRIQGH EHIKKTTVFIGGDPTSAEQFDMVPL VIKLRLRSVTCDD

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT: 800.176.089-2

COMPROBANTE DE RECAUDO SISTEMA SIPI

Radicado: NC2023/0014507
Recibo: 25-114966
Fecha: 06/02/2025

CAROLINA MERCEDES DAZA MONTALVO
CC: 66.783.790
Pago PSE No: 1070549
CUS: 1249280488

Patente PCT
VIRUS ONCOLÍTICOS PARA LA EXPRESIÓN MODIFICADA DEL MHC

Detalle del pago

Id.	Rentístico	Concepto y Servicio	Cant.	Val. Unit.	Subtotal
1	50005-01-03	Modificaciones / Correcciones al registro Patente PCT (DESCUENTO INTERNET)	1	$ 226,000	$ 226,000
		TOTAL			$ 226,000

Sede Centro: Carrera 13 No.27-00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá D.C. - Colombia
Web: www.sic.gov.co e-mail:contactenos@sic.gov.co Conmutador:(571)5870000 Contact Center: (571)5920400