

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 635 014**

51 Int. Cl.:

**A61K 39/245** (2006.01)

**C07K 14/045** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.10.2011** **PCT/EP2011/068040**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.04.2012** **WO12049317**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.10.2011** **E 11768058 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.05.2017** **EP 2627352**

54 Título: **Antígeno gB del citomegalovirus**

30 Prioridad:

**15.10.2010 US 393413 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**02.10.2017**

73 Titular/es:

**GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS S.A. (100.0%)**  
**Rue de l'Institut, 89**  
**1330 Rixensart, BE**

72 Inventor/es:

**BAUDOUX, GUY, JEAN, MARIE, FERNAND,**  
**PIERRE;**  
**BLAIS, NORMAND y**  
**MARCHAND, MARTINE**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

ES 2 635 014 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

**DESCRIPCIÓN**

Antígeno gB del citomegalovirus

**Campo técnico**

- 5 La presente invención se refiere al campo de la inmunología. En particular, la invención proporciona composiciones tales como, por ejemplo, vacunas, así como procedimientos para producir una respuesta inmunitaria específica para citomegalovirus (CMV).

**Antecedentes técnicos**

- 10 El citomegalovirus humano (CMVH) es un virus de ADN ubicuo que pertenece a la familia de los herpesvirus. El CMVH está compuesto de un núcleo de ADN, una cápside externa y está cubierto por una membrana lipídica que incorpora glucoproteínas específicas del virus.

- 15 El CMVH es endémico en la mayor parte del mundo. Sin embargo, la infección primaria normalmente da como resultado la enfermedad subclínica, tras lo cual el virus se vuelve latente, conservando la capacidad para reactivarse en cualquier momento posterior. Sin embargo, en dos poblaciones, el CMVH es responsable de afecciones médicas graves. El CMVH es una causa importante de defectos congénitos en recién nacidos infectados en el útero. Es la causa más común de infección congénita en el mundo desarrollado. Infección congénita se refiere a la infección transmitida de la madre al feto antes del nacimiento del recién nacido. Entre los recién nacidos infectados de forma congénita, el 5-10 % tiene síntomas clínicos importantes en el momento del nacimiento, tales como microcefalia, calcificaciones intracraneales y hepatitis. Muchos lactantes con infección congénita por CMVH son asintomáticos en el momento del nacimiento. Sin embargo, los estudios de seguimiento han demostrado que el 15 % de tales lactantes tendrá secuelas, tales como hipoacusia o anomalías en el sistema nervioso central, que producen, en particular, mal rendimiento intelectual.

- 20 La segunda población en riesgo son los pacientes inmunodeprimidos, tales como los que padecen infección por VIH y los sometidos a trasplantes. En esta situación, el virus se vuelve en un patógeno oportunista y provoca enfermedad grave con una morbilidad y mortalidad elevadas. La enfermedad clínica provoca una diversidad de síntomas, incluidos fiebre, hepatitis, neumonitis y mononucleosis infecciosa.

- 25 Para abordar las enfermedades asociadas con el CMVH, se desarrollan vacunas experimentales que incluyen vacunas atenuadas y vacunas de subunidades. En particular, recientemente, en un ensayo clínico de fase II (documento WO 2009/037359, N. Engl. J. Med. 2009; 360: 1191-9) se ha probado una vacuna de subunidades que comprende una glucoproteína B (gB) modificada con su dominio transmembrana suprimido, combinada con la emulsión MF59™.

**Sumario de la invención**

- 35 En un primer aspecto de la presente invención se proporciona un polipéptido gB del citomegalovirus (CMV) que comprende un dominio transmembrana (TM) no funcional y al menos una porción de un dominio extracelular de la proteína gB que comprende un dominio de bucle de fusión 1 (FL1) definido por los aminoácidos Y.I.Y emplazados en la posición 155-157 de la secuencia expuesta en SEQ ID NO:1, o en una posición correspondiente en otros polipéptidos gB del CMV, y un dominio de bucle de fusión 2 (FL2) definido por los aminoácidos W.L.Y emplazados en la posición 240-242 de la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 1, o en una posición correspondiente en otros polipéptidos gB del CMV, en el que al menos uno de los dominios FL1 y FL2 comprende al menos la delección o sustitución de un aminoácido.

- 40 En un segundo aspecto se proporciona un polipéptido gB del CMV que tiene la secuencia seleccionada del grupo que consiste en las secuencias expuestas en: SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20 y SEQ ID NO: 21.

En un tercer aspecto se proporciona una composición inmunogénica que comprende los polipéptidos gB del CMV de la invención, mezclados con un vehículo farmacéutico adecuado.

- 45 En un cuarto aspecto se proporciona un polinucleótido que codifica los polipéptidos gB del CMV de la invención.

En un quinto aspecto se proporciona un polinucleótido que tiene la secuencia seleccionada del grupo que consiste en las secuencias expuestas en: SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15 y SEQ ID NO: 17.

En un aspecto adicional se proporciona un vector recombinante que comprende los polinucleótidos de la invención.

- 50 En un aspecto adicional más se proporciona una célula hospedadora transformada con el vector recombinante de la invención.

En un aspecto adicional más se proporcionan los polipéptidos gB del CMV de la invención para su uso en la prevención y/o tratamiento de la infección por CMV.

### **Descripción de los dibujos**

La **FIG. 1** es una representación esquemática del polipéptido gB del CMV obtenido de la cepa AD169 que carece del dominio transmembrana (gB-deltaTM), así como tres polipéptidos gB del CMV ejemplares desvelados en la misma: (i) gB del CMV con el dominio transmembrana suprimido, en el que ambos bucles de fusión FL1 y FL2 están mutados (gB-SLP12) (véase la SEQ ID NO: 3), (ii) gB del CMV con el dominio transmembrana suprimido en el que la mutación de ambos bucles de fusión FL1 y FL2 se combina con la delección de una región (Del2) en el dominio citoplasmático C-terminal, el cual comprende un dominio rico en prolina, un patrón hidrófobo conservado y una región con carga negativa y altamente hidrófila (gB-SLP12-Del2) (véase la SEQ ID NO: 4), y (iii) gB del CMV con el dominio transmembrana suprimido, en el que la mutación en el bucle de fusión FL1 se combina con la delección de la región descrita anteriormente (Del2) en el dominio citoplasmático C-terminal del polipéptido (gB-SLP1-Del2) (véase la SEQ ID NO: 5). gB-SLP12, gB-SLP12-Del2 y gB-SLP1-Del2 comprenden todos dos mutaciones puntuales adicionales que sustituyen arginina (R) con serina (S) en la posición 50 y 357. gB-SLP12-Del2 y gB-SLP1-Del2 comprenden ambos la mutación puntual adicional que sustituye una cisteína (C) con una alanina (A) en la posición 778. TM significa dominio transmembrana. FL1 indica bucle de fusión 1. FL2 indica bucle de fusión 2. La delección Del2 comienza con el aminoácido 825 y termina con el aminoácido 877, es decir, estos dos aminoácidos son el primero y el último, respectivamente, de la región que se ha suprimido. Los números indicados hacen referencia a la posición de los aminoácidos de la secuencia de gB del CMV que proceden de la cepa AD169 y que se expone en la SEQ ID NO: 1.

La **FIG. 2** es una representación esquemática de polipéptidos gB del CMV adicionales ejemplares desvelados en la misma. Todos los polipéptidos comprenden los bucles de fusión FL1 y FL2 mutados. Adicionalmente, gB-SLP12-Delta113 está suprimido tanto del dominio transmembrana como de la parte C-terminal del dominio citoplasmático, es decir, los aminoácidos 794 a 906. Adicionalmente, gB-SLP12-Delta725 tiene suprimido el dominio citoplasmático completo y conserva parte del dominio transmembrana. LVL759 (o gB-SLP12-Delta725-LVL759), LVL776 (o gB-SLP12-Delta725-LVL776) y CD33 (o gB-SLP12-Delta725-CD33) tienen una estructura idéntica a gB-SLP12-Delta725, a excepción del extremo N-terminal, en la que la secuencia de aminoácidos varía, según se ha indicado. Los números indicados se refieren a la posición de aminoácidos de la secuencia de gB del CMV que procede la cepa AD169 y que se expone en la SEQ ID NO: 1.

La **FIG. 3** muestra el mapa del plásmido pMax que corresponde con la construcción gB-SLP12.

La **FIG. 4** muestra el mapa del plásmido pTT5 que corresponde con la construcción gB-SLP12-Delta725.

La **FIG. 5** muestra el nivel de expresión y secreción de los tres polipéptidos gB ejemplares distintos expresados de forma recombinante en células CHO, en comparación con el nivel de expresión y secreción del polipéptido gB del CMV con el dominio transmembrana suprimido de la técnica anterior. Se muestra un análisis de transferencia de Western usando un anticuerpo anti-gB que indica el nivel de proteína gB (emplazada en la transferencia entre 150 kDa y 100 kDa) presente tanto en las fracciones celulares (que representa la forma no secretada de gB) como en los sobrenadantes de cultivo (que representa la forma secretada de gB) derivados de distintos cultivos transfectados con las construcciones de gB indicadas. **Calle PM:** marcador de peso molecular, **Calle A:** fracción celular (C-Fr) de un cultivo transfectado con gB-DeltaTM, **Calle B:** C-Fr de un cultivo transfectado con gB-SLP12, **Calle C:** C-Fr de un cultivo transfectado con gB-SLP1-Del2, **Calle D:** C-Fr de un cultivo transfectado con gB-SLP12-Del2, **Calle E:** Sobrenadante de cultivo (C-Sn) de un cultivo transfectado con gB-DeltaTM, **Calle F:** C-Sn de un cultivo transfectado con gB-SLP12, **Calle G:** C-Sn de un cultivo transfectado con gB-SLP1-Del2, **Calle H:** C-Sn de un cultivo transfectado con gB-SLP12-Del2.

La **FIG. 6** muestra el nivel de expresión y secreción de tres polipéptidos gB ejemplares distintos en conformidad con la presente invención, gB-SLP12, gB-SLP12-Delta113 y gB-SLP12-Delta725, que se expresaron de forma recombinante en células CHO, en comparación con el nivel de expresión y secreción del polipéptido gB del CMV con el dominio transmembrana suprimido de la técnica anterior. Se muestra un ensayo de ELISA cuantitativo usando un anticuerpo anti-gB que presenta el nivel de proteína gB presente tanto en las fracciones celulares (barras negras - que representan la forma no secretada de gB) como en los sobrenadantes de cultivo (barras grises - que representan la forma secretada de gB).

La **FIG. 7** muestra el nivel de expresión y secreción de polipéptidos gB ejemplares adicionales en conformidad con la presente invención, que se expresaron de forma recombinante en células CHO. Se muestran tres análisis de transferencia de Western usando un anticuerpo anti-gB que presenta el nivel de proteína gB (emplazada en la transferencia entre 150 kDa y 100 kDa) presente tanto en las fracciones celulares (C-Fr, que representa la forma no secretada de gB) como en los sobrenadantes de cultivo (C-Sn, que representa la forma secretada de gB) derivados de distintos cultivos transfectados con las construcciones de gB indicadas. **FIG. 7A – Calles A, B, E, F, I, J, M y N** representan la cantidad de proteína presente en 2600 células totales. **Las calles C, D, G, H, K, L, O y P** representan la cantidad de proteína presente en 520 células totales. **Calle PM:** marcador de peso molecular, **Calles A y C:** C-Fr de un cultivo transfectado con gB-DeltaTM, **Calles B y D:** C-Sn de un cultivo

transfectado con gB-DeltaTM, **Calles E y G**: C-Fr de un cultivo transfectado con gB-SLP12, **Calles F y H**: C-Sn de un cultivo transfectado con gB-SLP12, **Calles I y K**: C-Fr de un cultivo transfectado con gB-SLP12-Delta 725, **Calles J y L**: C-Sn de un cultivo transfectado con gB-SLP12-Delta725, **Calles M y O**: C-Fr de un cultivo transfectado con gB-Delta725 (que tiene los bucles de fusión intactos), **Calles N y P**: C-Sn de un cultivo transfectado con gB-Delta725 (que tiene los bucles de fusión intactos). **FIG. 7B** - Las calles **1, 2, 5, 6, 1', 2', 5' y 6'** representan la cantidad de proteína presente en 2600 células totales. Las **calles 3, 4, 7, 8, 3', 4', 7' y 8'** representan la cantidad de proteína presente en 520 células totales. **Calle PM**: marcador de peso molecular, **Calles 1 y 3**: C-Fr de un cultivo transfectado con gB-SLP12-Delta725, **Calles 2 y 4**: C-Sn de un cultivo transfectado con gB-SLP12-Delta72, **Calles 5 y 7**: C-Fr de un cultivo transfectado con gB-Delta725 (que tiene los bucles de fusión intactos), **Calles 6 y 8**: C-Sn de un cultivo transfectado con gB-Delta725 (que tiene los bucles de fusión intactos), **Calles 1' y 3'**: C-Fr de un cultivo transfectado con gB-SLP12-Delta 113, **Calles 2' y 4'**: C-Sn de un cultivo transfectado con gB-SLP12-Delta113, **Calles 5' y 7'**: C-Fr de un cultivo transfectado con gB-Delta113 (que tiene los bucles de fusión intactos), **Calles 6' y 8'**: C-Sn de un cultivo transfectado con gB-SLP12-Delta113 (que tiene los bucles de fusión intactos).

La **FIG. 8** muestra el nivel de expresión y secreción de polipéptidos gB ejemplares adicionales en conformidad con la presente invención, que se expresaron de forma recombinante en células CHO. **FIG. 8A** - Se muestra un análisis de transferencia de Western usando un anticuerpo anti-gB que presenta el nivel de proteína gB (emplazada en la transferencia entre 150 kDa y 100 kDa) presente tanto en las fracciones celulares (C-Fr, que representa la forma no secretada de gB) como los sobrenadantes de cultivo (C-Sn, que representa la forma secretada de gB) derivados de distintos cultivos transfectados con las construcciones de gB indicadas. Las calles **a, b, c, d, i, j, k e l** representan la cantidad de proteína presente en 11700 células totales, mientras que las calles **e, f, g, h, m, n, o y p** representan la cantidad de proteína presente en 5100 células totales. **Calle PM**: marcador de peso molecular, **Calles a y e**: C-Sn de un cultivo transfectado con gB-SLP12-Delta725, **Calles i y m**: C-Fr de un cultivo transfectado con gB-SLP12-Delta725, **Calles b y f**: C-Sn de un cultivo transfectado con CD33, **Calles j y n**: C-Fr de un cultivo transfectado con CD33, **Calles c y g**: C-Sn de un cultivo transfectado con LVL759, **Calles k y o**: C-Fr de un cultivo transfectado con LVL759, **Calles d y h**: C-Sn de un cultivo transfectado con LVL776, **Calles l y p**: C-Fr de un cultivo transfectado con LVL776. **FIG. 8B** - Se muestra un ensayo de ELISA cuantitativo usando un anticuerpo anti-gB que presenta el nivel de proteína gB presente tanto en las fracciones celulares (barras negras - que representan la forma no secretada de gB) como en los sobrenadantes de cultivo (barras grises - que representan la forma secretada de gB).

La **FIG. 9** muestra el perfil de producto de los polipéptidos gB-DeltaTM, gB-SLP12 y gB-SLP1-Del2, según se analiza mediante reticulación inducida por glutaraldehído, tras su expresión recombinante en células CHO. Se muestra una imagen de un gel de poliácridamida. Las flechas indican multímeros de distintos tamaños. Se han usado dosis crecientes (0, 0,5, 1 %) de glutaraldehído. **Calle PM**: marcador de peso molecular, **Calle A**: gB-DeltaTM - glutaraldehído al 0 %, **Calle B**: gB-DeltaTM - glutaraldehído al 0,5 %, **Calle C**: gB-DeltaTM - glutaraldehído al 1 %, **Calle D**: gB-SLP12 - glutaraldehído al 0 %, **Calle E**: gB-SLP12 - glutaraldehído al 0,5 %, **Calle F**: gB-SLP12 - glutaraldehído al 1 %, **Calle G**: gB-SLP1-Del2 - glutaraldehído al 0 %, **Calle H**: gB-SLP1-Del2 - glutaraldehído al 0,5 % y **Calle I**: gB-SLP1-Del2 - glutaraldehído al 1 %.

La **FIG. 10** muestra el perfil de producto de los polipéptidos gB-DeltaTM, gB-SLP12 y gB-SLP1-Del2, según se analiza mediante ultracentrifugación analítica (UCA), tras su expresión recombinante en células CHO. Los picos representan multímeros de tamaños variables, tal como se indica. El porcentaje de multímeros identificados dentro de cada población polipeptídica también se especifica, como se indica.

La **FIG. 11** muestra el perfil de producto de polipéptidos gB del CMV ejemplares adicionales, como se indica y según se analiza mediante ultracentrifugación analítica (UCA), tras su expresión recombinante en células CHO. Los picos representan multímeros de tamaños variables, como se indica. También se especifica el porcentaje de multímeros identificados dentro de cada población polipeptídica, como se indica. **FIG. 11A** - presenta el perfil de producto del polipéptido gB-SLP12-Delta113 (indicado en la figura como gB-Delta113) obtenido en presencia o ausencia de Pluronic. **FIG. 11B** - presenta el perfil de producto del polipéptido gB-SLP12-Delta725 (indicado en la figura como gB-Delta725) obtenido en presencia o ausencia de Pluronic.

La **FIG. 12** muestra un análisis de péptido mediante mapeo de EM/EM del extremo N-terminal de los polipéptidos indicados generados tras su expresión recombinante y secreción en células CHO, y después de haberse escindido la secuencia señal. La **FIG. 12A** indica la abundancia relativa de los distintos polipéptidos que tienen un aminoácido N-terminal distinto dentro de la población de gB-SLP12-Delta725 expresada de forma recombinante después de haberse escindido la secuencia señal. La **FIG. 12B** indica la abundancia relativa de los distintos polipéptidos que tienen un aminoácido N-terminal distinto presente dentro de la población de gB-SLP12-Delta725-LVL759 expresado de forma recombinante después de haberse escindido la secuencia señal. La **FIG. 12C** indica la abundancia relativa de los distintos polipéptidos que tienen un aminoácido N-terminal distinto presente dentro de la población de gB-SLP12-Delta725-LVL776 expresado de forma recombinante después de haberse escindido la secuencia señal. La **FIG. 12D** indica la abundancia relativa de los distintos polipéptidos que tienen un aminoácido N-terminal distinto presente dentro de la población de gB-SLP12-Delta725-CD33 expresado de forma recombinante después de haberse escindido la secuencia señal.

La **FIG. 13** muestra el perfil de producto de los polipéptidos gB-DeltaTM, gB-S50-deltaTM y gB-SLP12, tras su expresión recombinante en células CHO, según se analiza mediante cromatografía de exclusión por tamaño basada en UV (CET-UV). Los picos representan multímeros del tamaño indicado.

La **FIG. 14** muestra un análisis de transferencia de Western usando un anticuerpo anti-gB o un anticuerpo anti-His que presenta el nivel de proteína gB después de que los polipéptidos indicados se expresaran de forma recombinante, se secretaran, se purificaran y se desglucosilaran. La **FIG. 14A** corresponde a gB-DeltaTM y muestra una transferencia de Western explorada con un anticuerpo anti-gB. La **FIG. 14B** corresponde a gB-SLP12 y muestra una transferencia de Western explorada con un anticuerpo anti-His (calle 2) y con un anticuerpo anti-gB (calle 3). La **FIG. 14C** corresponde a gB-SLP12-Delta113 y muestra una transferencia de Western explorada con un anticuerpo anti-His (calle A) y con un anticuerpo anti-gB (calle B). La **FIG. 14D** corresponde a gB-SLP12-Delta725 y muestra una transferencia de Western explorada con un anticuerpo anti-His (calle C) y con un anticuerpo anti-gB (calle D).

La **FIG. 15** presenta datos de inmunogenicidad. La **FIG. 15A** muestra títulos neutralizantes inducidos tras la administración de los polipéptidos indicados formulados para inyección. La **FIG. 15B** muestra títulos de anticuerpos anti-gB por ELISA, inducidos tras la administración de los polipéptidos indicados formulados para inyección.

La **FIG. 16** muestra las secuencias SEQ ID NO: 1 a SEQ ID NO: 21, tal como se describe más adelante.

#### **Descripción de los listados de secuencias**

SEQ ID NO: 1 - Secuencia de aminoácidos del polipéptido gB de longitud completa de la cepa AD169 del CMV.  
 SEQ ID NO: 2 - Secuencia de aminoácidos del polipéptido gB-DeltaTM de la cepa AD169 del CMV.  
 SEQ ID NO: 3 - Secuencia de aminoácidos del polipéptido gB-SLP12 de la cepa AD169 del CMV.  
 SEQ ID NO: 4 - Secuencia de aminoácidos del polipéptido gB-SLP12-Del2 de la cepa AD169 del CMV.  
 SEQ ID NO: 5 - Secuencia de aminoácidos del polipéptido gB-SLP1-Del2 de la cepa AD169 del CMV.  
 SEQ ID NO: 6 - Secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido gB-SLP12 de la cepa AD169 del CMV.  
 SEQ ID NO: 7 - Secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido gB-SLP1-Del2 de la cepa AD169 del CMV.  
 SEQ ID NO: 8 - Secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido gB-SLP1-Del2 de la cepa AD169 del CMV.  
 SEQ ID NO: 9 - Secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido gB-SLP12-Delta725 de la cepa AD169 del CMV.  
 SEQ ID NO: 10 - Secuencia de aminoácidos del polipéptido gB-SLP12-Delta725 de la cepa AD169 del CMV.  
 SEQ ID NO: 11 - Secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido gB-SLP12-Delta113 de la cepa AD169 del CMV.  
 SEQ ID NO: 12 - Secuencia de aminoácidos del polipéptido gB-SLP12-Delta113 de la cepa AD169 del CMV.  
 SEQ ID NO: 13 - Secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido gB-SLP12-Delta725-LVL759 (o LVL759) de la cepa AD169 del CMV.  
 SEQ ID NO: 14 - Secuencia de aminoácidos del polipéptido gB-SLP12-Delta725-LVL759 (LVL759) de la cepa AD169 del CMV.  
 SEQ ID NO: 15 - Secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido gB-SLP12-Delta725-LVL776 (o LVL776) de la cepa AD169 del CMV.  
 SEQ ID NO: 16 - Secuencia de aminoácidos del polipéptido gB-SLP12-Delta725-LVL776 (o LVL776) de la cepa AD169 del CMV.  
 SEQ ID NO: 17 - Secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido gB-SLP12-Delta725-CD33 (o CD33) de la cepa AD169 del CMV.  
 SEQ ID NO: 18 - Secuencia de aminoácidos del polipéptido gB-SLP12-Delta725-CD33 (o CD33) de la cepa AD169 del CMV.  
 SEQ ID NO: 19 - Secuencia de aminoácidos del polipéptido gB-SLP12-Delta725-LVL759 (o LVL759) de la cepa AD169 del CMV en su forma madura.  
 SEQ ID NO: 20 - Secuencia de aminoácidos del polipéptido gB-SLP12-Delta725-LVL776 (o LVL776) de la cepa AD169 del CMV en su forma madura.  
 SEQ ID NO: 21 - Secuencia de aminoácidos del polipéptido gB-SLP12-Delta725-CD33 (o CD33) de la cepa AD169 del CMV en su forma madura.

#### **Descripción detallada**

La presente invención se refiere a un polipéptido gB del CMV nuevo que presenta una inmunogenicidad excelente y características de procedimiento superiores. El polipéptido gB de la invención es particularmente adecuado como antígeno para la inclusión en una composición inmunogénica, tales como vacunas. En particular, el polipéptido gB de la invención presenta un perfil de producto homogéneo mejorado. De hecho, los inventores han observado que, tras la expresión, los polipéptidos gB de la técnica anterior, tales como el polipéptido gB que carece del dominio transmembrana (gB-DeltaTM), se ensamblaban en multímeros de distintos tamaños, incluidos multímeros de alto peso molecular, haciendo heterogénea a la población. También observaron que el perfil de multímero no era consistente, dado que la proporción de multímeros de un tamaño dado variaba de un experimento a otro. Este tipo de variabilidad e inconsistencia no es aceptable en términos de formulaciones de vacunas. Por lo tanto, sigue

existiendo la necesidad de un polipéptido gB del CMV que presente un producto mejorado de perfil homogéneo y consistente. Además, la agregación en multímeros de alto peso molecular puede tener un impacto negativo sobre el posterior procedimiento de purificación del polipéptido recombinante, dado que la agregación puede conducir, en particular, a una forma menos soluble del polipéptido. Por lo tanto, sigue existiendo la necesidad de un polipéptido gB del CMV que presente características de procedimiento mejoradas.

En el documento EP 0 802 979 se describe un polipéptido gB del CMV que carece del dominio transmembrana.

Sorprendentemente, los presentes inventores han observado que la introducción de mutaciones en regiones específicas de tal polipéptido gB del CMV que carece del dominio transmembrana, da como resultado un producto de perfil mejorado, de manera que la población no sólo es más homogénea que el correspondiente polipéptido no mutado, sino que también presenta un perfil que es consistente de un experimento a otro. En particular, se reducen los multímeros de alto peso molecular y se aumenta la proporción de trímeros en un factor del doble. Normalmente, los trímeros representan al menos el 50 %, adecuadamente al menos el 60 % y más adecuadamente al menos el 70 % de la población de polipéptidos gB del CMV de la presente divulgación. Estas mutaciones no afectan al nivel de expresión ni al nivel de secreción de los mutantes resultantes, en comparación con el polipéptido gB del CMV que carece del dominio transmembrana. Estas mutaciones se emplazan fuera de los epítopos antigénicos de gB del CMV que se sabe que son responsables de inducir una respuesta inmunitaria. El cambio observado desde una población en la que los polipéptidos ensamblados en multímeros de alto peso molecular, tal como el polipéptido de la técnica anterior que carece del dominio transmembrana, a una población en donde los polipéptidos tienen un perfil de trimerización mejorado, se asocia con una purificación más fácil y mejor de los polipéptidos. En particular, los inventores han observado que el rendimiento de la purificación de los polipéptidos de acuerdo con la invención es significativamente mayor que el rendimiento de la purificación obtenido con el polipéptido gB del CMV de la técnica anterior que carece del dominio transmembrana. La mejora del rendimiento es de al menos el doble y, posiblemente, de al menos el triple al quintuple. De forma adicional, se ha demostrado que mutaciones adicionales en los polipéptidos nuevos en conformidad con la invención dan como resultado polipéptidos que se expresan y se secretan de forma más eficaz que los polipéptidos de la técnica anterior. Dicha propiedad presenta una ventaja significativa en términos de producción de antígeno para la fabricación de vacunas, un campo en el cual la producción de antígeno es normalmente un factor limitante.

Los inventores también han observado que los polipéptidos gB de la técnica anterior, tal como un polipéptido gB del CMV que carece del dominio transmembrana, presentaban heterogeneidad en los extremos N-terminal y C-terminal del polipéptido. De hecho, observaron que se producía un recorte en el dominio citoplasmático C-terminal de gB, lo que daba como resultado al menos dos formas distintas del polipéptido, que tenían un tamaño distinto después de la expresión recombinante en las células y su secreción. Para el fin de la inclusión en una composición inmunogénica, tal como en una vacuna, es preferente tener una población homogénea de polipéptidos gB, en el sentido de que está constituida principalmente por una única forma. Los inventores descubrieron que cuando se suprimía al menos parte del dominio citoplasmático C-terminal el recorte ya no se producía y la población de polipéptidos resultante estaba constituida principalmente por una única forma de gB.

De forma similar, se observó que los polipéptidos gB de la técnica anterior, tal como el polipéptido gB del CMV que carece del dominio transmembrana, presentaban heterogeneidad en la parte N-terminal del polipéptido. De hecho, los inventores observaron que la secuencia señal, tras la expresión recombinante y la secreción de los polipéptidos, se escindía por una peptidasa señal en distintas posiciones de aminoácidos, generando así una población de polipéptidos maduros gB que tenían un extremo variable en el extremo N, es decir, una población constituida por polipéptidos gB que tienen un aminoácido distinto en el extremo N. Este fenómeno también se denomina "oscilación" de la señal peptidasa. Con fines de eficacia, y en particular por consistencia, en el campo de las vacunas es importante que un antígeno que se vaya a incluir en una vacuna sea lo más homogéneo posible y esté lo menos degradado posible, de modo que los lotes de vacuna sean reproducibles y consistentes.

Debe entenderse, en el sentido de la presente invención, que un perfil de producto homogéneo mejorado significa que la población de polipéptidos gB del CMV de la invención, tras su expresión recombinante, está constituida por al menos el 50 % de trímeros, por ejemplo, según se mide por ultracentrifugación analítica (véase el Ejemplo 2, sección 1.2). Normalmente, una preparación que comprende una población de polipéptidos gB del CMV de la invención está constituida por al menos el 50 %, adecuadamente al menos el 60 % y más adecuadamente al menos el 70 % de trímeros. En la presente memoria descriptiva, tal perfil de al menos 50 % de trímeros también se denominará "un perfil de trimerización mejorado" o "un perfil enriquecido en trímeros". Estas expresiones se deben considerar que son sinónimas e intercambiables.

Al referirse a "homogeneidad/heterogeneidad" en la parte C-terminal de los polipéptidos, una población heterogénea significa que la población está constituida por al menos dos polipéptidos que tienen tamaños distintos, mientras que una población homogénea debe entenderse como una población constituida principalmente por un único polipéptido de un tamaño dado.

Al referirse a "homogeneidad/heterogeneidad" en la parte N-terminal de los polipéptidos, una población heterogénea significa que la población está constituida por distintos polipéptidos maduros comenzando cada uno con un aminoácido distinto en el extremo N. Por el contrario, en conformidad con la invención, una población homogénea

debe entenderse como una población constituida principalmente por un único polipéptido maduro que comienza, invariablemente, con un dado aminoácido idéntico en el extremo N-terminal. En la presente invención, un polipéptido “maduro” se refiere a un polipéptido en el que la secuencia señal se ha escindido. Normalmente, en una población homogénea en el N-terminal en el sentido de la presente invención, más del 30 %, adecuadamente al menos el 80 %, más adecuadamente del 80 % al 90 %, más adecuadamente al menos 99 % de los polipéptidos maduros productos tras la escisión de la secuencia señal, comienzan con el mismo aminoácido en el extremo N-terminal. Por consiguiente, en un aspecto de la divulgación se describe una preparación que comprende una población de polipéptidos gB del CMV maduros producidos tras la escisión de la secuencia señal, en la que al menos el 30 %, al menos el 80 %, del 80 % al 90 % de los polipéptidos gB maduros comprenden el mismo aminoácido en el extremo N-terminal. En particular, los polipéptidos maduros descritos en la divulgación comienzan adecuadamente con una serina o una histidina en la posición N-terminal.

gB es una glucoproteína B de la envoltura que tiene numerosos papeles, una de las cuales es la participación en la fusión del citomegalovirus con las células hospedadoras. La codifica el gen UL55 del genoma del CMVH. El tamaño de la forma nativa de gB depende del tamaño de la fase de lectura abierta (ORF), que puede variar un poco de acuerdo con la cepa. Por ejemplo, la ORF de la cepa AD169, que tiene una longitud de 2717 pb, codifica una gB de longitud completa de 906 aminoácidos, mientras que la ORF de la cepa Towne codifica una gB de longitud completa de 907 aminoácidos. Aunque la presente invención se puede aplicar a las proteínas gB que proceden de cualquier cepa del CMV, para facilitar su comprensión, al referirse a las posiciones de aminoácidos en la presente memoria descriptiva la numeración se proporciona en relación con la secuencia de aminoácidos del polipéptido gB de SEQ ID NO: 1 que procede de la cepa AD169, a menos que se indique otra cosa. Sin embargo, la presente invención no se limita a la cepa AD169. Los expertos en la materia pueden determinar posiciones de aminoácidos comparables en un polipéptido gB de cualquier otra cepa de CMV, alineando las secuencias de aminoácidos usando algoritmos de alineamiento (tal como BLAST) fácilmente disponibles y bien conocidos. Por consiguiente, al referirse a “otros polipéptidos gB del CMV”, deben entenderse como polipéptidos gB del CMV de cualquier cepa distinta de AD169. La forma nativa de gB de AD169 contiene, en la dirección N-terminal a C-terminal de la proteína (véase también la FIG. 1) (i) una secuencia señal de aminoácidos, o péptido señal, que se sabe que participa en el transporte intracelular de polipéptidos, que incluye el direccionamiento del polipéptido hacia la secreción, seguido de (ii) una región denominada secuencia líder, (iii) un dominio extracelular que contiene un sitio de escisión endoproteolítico de tipo furina entre los aminoácidos 456 y 460 de la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 1, (iv) un dominio transmembrana y (v) un dominio citoplasmático C-terminal. Además, se han identificado tramos de aminoácidos en la secuencia de aminoácidos de gB del CMV como supuestos bucles de fusión, a base del alineamiento de secuencias con proteínas gB que proceden de distintos herpesvirus (Backovic y col. 2007. J. Virol. 81(17): 9596-600), tales como el VHS. Los bucles de fusión de VHS se determinaron de forma experimental (Hannah, B.P. y col. 2009. J. Virol. 83(13): 6825-6836). Dichos tramos se denominaron así debido a su participación en la fusión de los virus con las células hospedadoras. De acuerdo con la bibliografía anterior, se identificaron dos supuestos bucles de fusión mediante alineamiento de secuencias en gB del CMV, que se denominan FL1 y FL2 en el resto de la memoria descriptiva. Dichos bucles de fusión se emplazan en el dominio extracelular de la proteína aguas arriba del dominio transmembrana.

Sorprendentemente, los presentes inventores observaron que la alteración de los bucles de fusión FL1 y FL2 de un polipéptido gB del CMV que tienen un dominio transmembrana no funcional, mutando aminoácidos específicos, daba como resultado un producto que, tras la expresión, presentaba un perfil de trimerización mejorado, en comparación con un polipéptido gB del CMV que tiene un dominio transmembrana no funcional pero que tiene bucles de fusión intactos. Por consiguiente, en un aspecto de la divulgación, el polipéptido gB del CMV comprende la mutación, tal como, por ejemplo, sustitución o delección de aminoácidos, de al menos uno de los bucles de fusión FL1 o FL2, posiblemente ambos. Adecuadamente, el polipéptido de la divulgación comprende al menos una sustitución, o delección, de aminoácidos en el bucle de fusión FL1. Adecuadamente, el polipéptido de la divulgación comprende al menos una sustitución, o delección, de aminoácidos en el bucle de fusión FL2. Más adecuadamente, el polipéptido gB del CMV de la divulgación comprende la mutación de ambos bucles de fusión FL1 y FL2. Por ejemplo, el polipéptido gB de la divulgación comprende al menos una sustitución, o delección, de aminoácidos en el bucle de fusión FL1 y al menos una sustitución, o delección, de aminoácidos en el bucle de fusión FL2.

En el sentido de la presente invención, los aminoácidos que abarcan el bucle de fusión FL1 de gB de AD169 de CMV, es decir la secuencia de aminoácidos de FL1, se definen como <sup>155</sup>Y.I.Y<sup>157</sup> de la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 1. Asimismo, los aminoácidos que abarcan el bucle de fusión FL2, es decir, la secuencia de aminoácidos de FL2, dentro del significado de la presente invención, se definen como <sup>240</sup>W.L.Y<sup>242</sup> de la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 1. Las correspondientes secuencias de los bucles de fusión FL1 y FL2 se pueden identificar dentro de los polipéptidos gB de otras cepas de CMV mediante, por ejemplo, alineamiento de secuencias. La alteración de dichos bucles de fusión incluye cualquier tipo de mutación en relación con estos tripletes de aminoácidos, ya sea mediante delección o sustituciones de aminoácidos, lo que da como resultado un producto, tras la expresión recombinante, que tiene un perfil mejorado enriquecido en trímeros, es decir, el producto tiene una proporción mayor de polipéptidos en una forma trimérica en comparación con la forma no mutada.

Una mutación adecuada no limitante concerniente a FL1 es la delección, o sustitución, de al menos uno, adecuadamente al menos dos, aminoácidos seleccionados de los aminoácidos <sup>155</sup>Y.I.Y<sup>157</sup> de la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 1, o en una posición correspondiente en otros polipéptidos gB del CMV que proceden de distintas

cepas, con un aminoácido polar, en particular un aminoácido polar no aromático, más particularmente un aminoácido seleccionado del grupo de aminoácidos con carga positiva que consiste en lisina (K), histidina (H) y arginina (R). Por consiguiente, en algunos aspectos de la divulgación el polipéptido gB del CMV tiene un bucle de fusión FL1 mutado en el que al menos la isoleucina (I<sup>156</sup>), adecuadamente al menos la tirosina (Y<sup>155</sup>), adecuadamente al menos la tirosina (Y<sup>157</sup>), se sustituye por una histidina (H), o se suprime. Como alternativa, el polipéptido gB del CMV de la divulgación tiene un bucle de fusión FL1 mutado en el que al menos la tirosina (Y<sup>157</sup>) está sustituida por una arginina (R). En un aspecto de la divulgación, el polipéptido gB del CMV que tiene un dominio transmembrana no funcional, tiene un bucle de fusión FL1 mutado en el que al menos la isoleucina (I<sup>156</sup>) y la tirosina (Y<sup>157</sup>), están sustituidas por histidina (H<sup>156</sup>) y arginina (R<sup>157</sup>), respectivamente, o están suprimidas. En un aspecto adicional de la divulgación, el polipéptido gB del CMV que tiene un dominio transmembrana no funcional tiene un bucle de fusión FL1 mutado en el que al menos la tirosina (Y<sup>155</sup>) está sustituida por una glicina (G), o está suprimida, de forma opcional en combinación con la sustitución, o delección, de la isoleucina (I<sup>156</sup>) por una histidina (H) o con la sustitución, o delección, de la tirosina (Y<sup>157</sup>) por una arginina (R), o en combinación con ambas sustituciones, o supresiones. En una realización específica, el polipéptido gB del CMV de la invención que tiene un dominio transmembrana no funcional, tiene un bucle de fusión FL1 mutado en el que los tres aminoácidos <sup>155</sup>Y.I.Y<sup>157</sup> de la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 1, o en una posición correspondiente en otros polipéptidos gB del CMV que proceden de distintas cepas, están sustituidos por los aminoácidos <sup>155</sup>G.H.R<sup>157</sup>. La mutación del dominio FL1 se puede definir de un modo alternativo. Como se describe más adelante, la hidrofobicidad de una secuencia de aminoácidos particular se puede determinar usando una escala de hidrofobicidad, tal como la escala de Kyte y Doolittle (Kyte y col. 1982. J. Mol. Bio. 157: 105-132). El dominio FL1 que abarca los aminoácidos <sup>155</sup>Y.I.Y<sup>157</sup> obtiene una puntuación de +1,9 en dicha escala. En una realización, en el polipéptido gB del CMV de la invención, el tramo de aminoácidos Y.I.Y emplazados en la posición 155-157 de la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 1, o en una posición correspondiente en otros polipéptidos gB del CMV, está sustituido por un tramo de tres aminoácidos que tiene una puntuación de hidrofobicidad inferior a -3, inferior a -7 o inferior a -8, según se mide usando la escala de Kyte y Doolittle. Los tres aminoácidos pueden no estar sustituidos de forma simultánea, siempre que la puntuación global del tramo de aminoácidos obtenga los valores especificados anteriormente. Por ejemplo, sólo uno o dos aminoácidos del tramo de tres aminoácidos de longitud pueden estar sustituidos, calculándose entonces la puntuación a base de la identidad de los aminoácidos sustituidos, es decir, uno o dos, más la identidad de los nativos, dos o uno, respectivamente.

Una mutación adecuada no limitante concerniente al bucle de fusión FL2 es la delección, o sustitución, de al menos uno, adecuadamente al menos dos, aminoácidos seleccionados de <sup>240</sup>W.L.Y<sup>242</sup> de la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 1, o en una posición correspondiente en otros polipéptidos gB del CMV que proceden de distintas cepas, con un aminoácido con carga positiva seleccionado del grupo que consiste en lisina (K), histidina (H) y arginina (R), adecuadamente una histidina (H). Por consiguiente, en algunos aspectos de la divulgación, el polipéptido gB del CMV de la invención tiene un bucle de fusión FL2 mutado en el que al menos la tirosina (Y<sup>242</sup>), adecuadamente al menos la leucina (L<sup>241</sup>), adecuadamente al menos el triptófano (W<sup>240</sup>), está sustituido por una histidina (H), o esta suprimido, de forma opcional en combinación con un bucle de fusión FL1 mutado como se describe anteriormente. En realizaciones particulares, el polipéptido gB del CMV de la invención tiene un bucle de fusión FL2 mutado en el que los tres aminoácidos <sup>240</sup>W.L.Y<sup>242</sup> de la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 1, o en una posición correspondiente en otros polipéptidos gB del CMV que proceden de distintas cepas, están sustituidos por los aminoácidos <sup>240</sup>A.F.H<sup>242</sup>, de forma opcional en combinación con mutaciones de FL1 tal como se describe anteriormente.

Las mutaciones relacionadas con los bucles de fusión FL1 y/o FL2 no se limitan a las mutaciones descritas anteriormente. Se pueden realizar mutaciones adicionales, además de las descritas anteriormente, tales como, por ejemplo, mutar los aminoácidos que rodean a los tripletes anteriores <sup>155</sup>Y.I.Y<sup>157</sup> y <sup>240</sup>W.L.Y<sup>242</sup> de la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 1, o en una correspondiente posición en otros polipéptidos gB del CMV que proceden de distintas cepas, siempre que el polipéptido mutante resultante presente un perfil mejorado enriquecido en trímeros, y dichas mutaciones adicionales no interfieran en la producción (expresión y secreción), procesamiento o estabilidad del polipéptido, cuando se expresa de forma recombinante en las células hospedadoras.

Los presentes inventores también han observado que la combinación de la mutación de al menos un bucle de fusión (FL1 y/o FL2), tal como cualquiera de las mutaciones descritas anteriormente, con una mutación adicional en el dominio citoplasmático C-terminal del polipéptido, también proporcionaba un polipéptido gB del CMV con un perfil de trimerización mejorado. En el sentido de la presente invención, debe entenderse el dominio citoplasmático C-terminal de un polipéptido gB del CMV como el dominio emplazado aguas abajo del dominio transmembrana (véase también la Fig. 1). En particular, la mutación adicional en el dominio citoplasmático C-terminal concierne adecuadamente a la delección de una región hidrófoba, adecuadamente una región rica en prolina, adecuadamente una región con carga negativa altamente hidrófila, posiblemente a todas ellas. Como ejemplo no limitante, una mutación adecuada corresponde a la delección de los aminoácidos 825 a 877 de la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 1, que se denomina Del2. La delimitación de la secuencia anterior que se suprime no se limita estrictamente a la posición de aminoácidos 825 a 877 y puede variar, siempre que el polipéptido mutante resultante presente un perfil mejorado enriquecido en trímeros, y no se vea afectado en términos de producción, procesamiento o estabilidad cuando se exprese de forma recombinante en las células hospedadoras. Por consiguiente, en algunos aspectos de la divulgación, el polipéptido gB del CMV comprende la mutación de al menos un bucle de fusión (FL1 y/o FL2), adecuadamente FL1, y la delección de al menos una región hidrófoba, una región rica en prolina y una región altamente hidrófila en el dominio citoplasmático C-terminal, en particular la delección de los aminoácidos 825 a 827

(Del2) de la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 1.

La hidrofobicidad de una secuencia de aminoácidos, o de un fragmento de la misma, está estipulada por el tipo de aminoácidos que componen esta secuencia o un fragmento de la misma. Normalmente, los aminoácidos se clasifican en distintos grupos de acuerdo con sus cadenas laterales. Por ejemplo, algunas cadenas laterales se consideran no polares, es decir hidrófobas, mientras que otras se consideran polares. En el sentido de la presente invención, alanina (A), glicina (G), valina (V), leucina (L), isoleucina (I), metionina (M), prolina (P), fenilalanina (F) y triptófano (W) se consideran parte de los aminoácidos hidrófobos, mientras que serina (S), treonina (T), asparagina (N), glutamina (Q), tirosina (Y), cisteína (C), lisina (K), arginina (R), histidina (H), ácido aspártico (D) y ácido glutámico (E) se consideran parte de los aminoácidos polares. Con independencia de su hidrofobicidad, los aminoácidos también se clasifican en subgrupos basados en las propiedades comunes compartidas por sus cadenas laterales. Por ejemplo, fenilalanina, triptófano y tirosina se clasifican en conjunto como aminoácidos aromáticos y se considerarán aminoácidos aromáticos dentro del significado de la presente invención. Aspartato (D) y glutamato (E) son parte de los aminoácidos ácidos o con carga negativa, mientras que lisina (K), arginina (R) e histidina (H) son parte de los aminoácidos básicos o con carga positiva, y se considerarán como tales en el sentido de la presente invención. Están disponibles escalas de hidrofobicidad que usan las propiedades hidrófobas e hidrófilas de cada uno de los 20 aminoácidos y asignan una puntuación hidrofóbica a cada aminoácido, creando así una clasificación de hidrofobicidad. Únicamente como ejemplo ilustrativo se puede citar la escala de Kyte y Doolittle tratada anteriormente (Kyte y col. 1982. J. Mol. Bio. 157: 105-132). Esta escala permite calcular la hidrofobicidad promedio dentro de un segmento de longitud predeterminada. Por consiguiente, el experto en la materia puede identificar regiones hidrófobas en una secuencia de aminoácidos como posibles dianas para mutación en conformidad con la presente invención. La capacidad de la mutación de dichas regiones para inducir un perfil de producto mejorado de la proteína mutante resultante, es decir, favoreciendo la proporción de trímeros en la población, se puede analizar como se describe a continuación. La mutación de una región hidrófoba puede consistir en una delección de dicha región como se indica anteriormente, o parte de ella, o en mutaciones puntuales que sustituyen aminoácidos hidrófobos con aminoácidos polares en dicha región. La relevancia de la mutación se determinará analizando el efecto resultante de dicha mutación sobre el perfil de producto del polipéptido mutado, tras la expresión recombinante en las células hospedadoras, es decir una mutación relevante es inducir un perfil mejorado enriquecido en trímeros, en el que al menos el 50 %, adecuadamente al menos el 60 % y más adecuadamente al menos el 70 % de los trímeros está presente en la población del polipéptido mutado. Los inventores observaron que el dominio citoplasmático C-terminal se podía suprimir en un grado variable al tiempo que se mantenía el perfil de producto mejorado, como describe anteriormente. Por consiguiente, la presente divulgación describe polipéptidos gB del CMV en los que adecuadamente se suprime el 10 %, más adecuadamente el 20 %, más adecuadamente el 60 %, más adecuadamente el 80 %, más adecuadamente el 90 % de los aminoácidos del dominio citoplasmático. Posiblemente se puede suprimir el dominio citoplasmático completo. En particular, los inventores observaron que cuando se suprime al menos el 70 %, adecuadamente al menos el 80 %, o más, del dominio citoplasmático, los polipéptidos gB del CMV resultantes mostraban un mejor nivel de expresión y secreción cuando se expresaban de forma recombinante en las células hospedadoras. Por consiguiente, en algunas realizaciones, los polipéptidos gB del CMV de la invención comprenden la mutación de al menos un bucle de fusión (FL1 y/o FL2), adecuadamente FL1, o posiblemente ambos, y la delección del dominio citoplasmático completo, por ejemplo los aminoácidos 776 a 906 de la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 1, o en una posición correspondiente en otros polipéptidos gB del CMV.

Se puede usar para controlar el perfil de producto y, por lo tanto, para determinar si dadas mutaciones confieren un perfil de producto mejorado tal como se describe anteriormente, cualquier procedimiento que permita discriminar los componentes en una población, tales como polipéptidos purificados que posiblemente se agreguen entre sí, de acuerdo con su tamaño o densidad. Los procedimientos adecuados se pueden basar en la sedimentación, tal como la ultracentrifugación analítica (UCA), o en la cromatografía, en particular la cromatografía de exclusión por tamaño, tal como la cromatografía de exclusión por tamaño basada en UV (CET-UV). Como alternativa, un procedimiento para evaluar el nivel de agregación en una muestra de proteína o polipéptido puede consistir en tratar la muestra con un agente de reticulación, para formar enlaces covalentes entre dos proteínas o polipéptidos, o más. Adecuadamente, puede usarse glutaraldehído como reticulante. Tras la reticulación, la carga de la muestra en un gel en condiciones desnaturalizantes, tales como SDS-PAGE, y la tinción del gel para observar la presencia de proteínas con, por ejemplo, azul de Coomassie o nitrato de plata, presentará agregados, si los hubiere, que se separan de acuerdo con su peso molecular. La carga en paralelo de un marcador constituido por proteínas de un peso molecular conocido permitirá determinar el peso molecular de los distintos agregados. A condición de que se conozca el peso molecular de la unidad mínima, tal como un polipéptido en su forma monomérica, el peso molecular observado de los agregados será indicativo del nivel de multimerización en los agregados. Por ejemplo, el polipéptido gB de AD169 de CMV con el dominio transmembrana suprimido tiene una longitud de 838 aminoácidos. Si se considera que el peso molecular promedio de un aminoácido es 110 kDa, entonces el peso molecular esperado de este polipéptido es 92 kDa. Por lo tanto, si se agrega tal polipéptido, entonces cabría esperar que el peso molecular promedio de los multímeros resultantes sea un múltiplo de 92. En particular, si se forman trímeros, el peso molecular promedio esperado de tales trímeros constituidos por 3 moléculas de gB con el dominio transmembrana suprimido es 276 kDa.

Cualquiera de las mutaciones descritas anteriormente en los bucles de fusión FL1 y/o FL2 se pueden combinar con mutaciones adicionales. Debe entenderse que los polipéptidos gB del CMV de acuerdo con la presente invención tienen un dominio transmembrana no funcional y comprenden mutaciones específicas adicionales, tales como las mutaciones de los bucles de fusión. El emplazamiento de un dominio transmembrana dentro de un polipéptido se puede predecir a través del uso de programas informáticos capaces de formular una escala hidropatía a partir de la secuencia de aminoácidos, usando las propiedades hidrófobas e hidrófilas de los 20 aminoácidos (Kyte y col. 1982. J. Mol. Bio. 157: 105-132). La hidropatía promedio dentro de un segmento de la secuencia de longitud predeterminada se calcula de forma continua a medida que el programa se mueve a través de la secuencia. Después, estas puntuaciones consecutivas de la hidropatía se representan del extremo N al extremo C y se imprime una línea de punto medio que corresponde con un promedio de hidropatía grande de las composiciones de aminoácidos encontrados en la mayoría de las proteínas secuenciadas conocidas. Las proteínas unidas a la membrana presentan grandes regiones ininterrumpidas en el lado hidrófobo de la línea que corresponden con una porción de la secuencia que está incluida en la bicapa lipídica de la membrana. Un dominio transmembrana es responsable del anclaje de un polipéptido a la membrana celular. En las glucoproteínas de la envoltura viral, el dominio transmembrana normalmente contiene tramos de 20-27 aminoácidos no cargados, principalmente hidrófobos, cerca de la parte C-terminal del polipéptido. Como ejemplo de la aplicación del análisis de hidropatía como se describe anteriormente, respecto a gB del CMV, se puede citar la publicación de Spaete y col. (Spaete y col., 1988, Virology 167: 207-225). De hecho, los autores identificaron en el polipéptido gB del CMV de las cepas AD169 y Towne, un supuesto dominio transmembrana hidrófobo fácilmente evidente como dos picos hidrófobos anchos adyacentes cerca del extremo C del polipéptido gB. El primero comprende los aminoácidos 715 a 748 y el segundo los aminoácidos 752 a 772 (la numeración corresponde a la secuencia de aminoácidos del polipéptido gB de la cepa AD169, como se representa en SEQ ID NO: 1). Una publicación de Reschke y col. (Reschke y col., 1995, J. of Gen. Virology 76: 113-122) identificó de forma alternativa el segundo tramo de los aminoácidos 751 a 771 como el supuesto dominio transmembrana de gB del CMV AD169. Por lo tanto, estas dos publicaciones sugieren que el supuesto dominio transmembrana de gB del CMV AD169 incluye al menos los aminoácidos 751 a 771 y, posiblemente, los aminoácidos 714 a 771. En el sentido de la presente invención, el dominio transmembrana del polipéptido gB del CMV abarca al menos los aminoácidos 701 a 775 de la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 1, o en una posición correspondiente en otros polipéptidos gB del CMV y, así, tiene una longitud de 74 aminoácidos.

Por "un dominio transmembrana no funcional" debe entenderse, dentro del significado de la presente invención, que al menos parte del supuesto dominio transmembrana se modifica para permitir la secreción del polipéptido resultante de una célula hospedadora tras la expresión en dicha célula. En un aspecto de la divulgación, el polipéptido gB se suprime del dominio transmembrana completo. En aspectos alternativos de la divulgación, los polipéptidos gB del CMV conservan una parte del dominio transmembrana. En particular, los polipéptidos gB del CMV conservan al menos el 5 %, adecuadamente al menos el 10 %, más adecuadamente al menos el 20 %, más adecuadamente al menos el 30 % o al menos el 50 % de los aminoácidos del dominio transmembrana. Por consiguiente, en algunos aspectos de la divulgación, al menos el 50 % de la cantidad de aminoácidos del dominio transmembrana se suprime en los polipéptidos gB del CMV de la invención, se suprime adecuadamente al menos el 70 %, más adecuadamente al menos el 80 %, más adecuadamente al menos el 90 % e incluso el 95 % de la cantidad de aminoácidos del dominio transmembrana. De acuerdo con una realización, el dominio transmembrana del polipéptido gB del CMV de la invención se hace no funcional suprimiendo los aminoácidos 701 a 775 de la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 1, o en una posición correspondiente en otros polipéptidos gB del CMV. A base de la predicción descrita anteriormente para determinar el emplazamiento de un dominio transmembrana dentro de un polipéptido, el alcance de la delección puede variar adicionalmente, siempre que el polipéptido gB del CMV suprimido resultante se secrete de las células hospedadoras tras la expresión en dichas células. La alteración funcional del dominio transmembrana no se limita a la delección de aminoácidos. La alteración puede consistir en cualquier otro tipo de mutaciones de aminoácidos, tales como inserción y/o sustituciones. Las supresiones, inserciones y sustituciones de aminoácidos también se pueden combinar de cualquier modo, siempre que el polipéptido gB del CMV mutado resultante se secrete de las células hospedadoras tras la expresión en dichas células. Está dentro de las capacidades del experto en la materia evaluar el impacto de una mutación dada, tal como, por ejemplo, la delección de una parte dada del dominio transmembrana, sobre la capacidad del polipéptido mutado resultante para que las células lo secreten. Se puede detectar la secreción de un polipéptido y se puede evaluar el nivel de secreción mediante cualquier técnica conocida en la materia. Como ejemplo ilustrativo no limitante, es posible medir por separado el contenido del polipéptido expresado que se retiene dentro de las células y que se secreta al sobrenadante del cultivo celular o al medio de cultivo celular tras la expresión. Normalmente, tras la expresión se recoge el sobrenadante del cultivo celular antes de que las células se lisen de acuerdo con cualquier procedimiento de lisis común, proporcionando así dos fracciones, una celular y una de sobrenadante. Después, se puede medir el contenido del polipéptido en cada fracción mediante cualquier técnica de detección de proteínas conocida en la técnica. Por ejemplo, el polipéptido se puede detectar mediante transferencia de Western o mediante ensayo de ELISA.

Por "que comprende al menos una parte del dominio extracelular" debe entenderse, en el sentido de la presente invención, como al menos la parte del dominio extracelular que comprende o abarca los bucles de fusión FL1 y FL2. La cantidad de aminoácidos adicionales fuera de los bucles de fusión en el dominio extracelular puede variar. La cantidad adecuada de aminoácidos, o el porcentaje de aminoácidos del dominio extracelular presente en los polipéptidos de la invención debería ser tal que los polipéptidos resultantes comprendan los epítomos antigénicos y presenten un perfil de trimerización mejorado. Adecuadamente, al menos el 50 %, más adecuadamente al menos el

70 %, más adecuadamente al menos el 80 % e incluso el 90 % de los aminoácidos del dominio extracelular, se retiene en los polipéptidos de la divulgación, en que el porcentaje abarca necesariamente los bucles de fusión FL1 y FL2. En un aspecto de la divulgación, el polipéptido gB del CMV conserva el dominio extracelular completo, cuyo dominio comprende al menos una mutación en uno de los dos bucles de fusión FL1 y FL2, posiblemente en ambos.

5 Por retención de "al menos una parte del dominio citoplasmático" se entiende la cantidad de aminoácidos necesaria para la expresión y la secreción. Adecuadamente, los polipéptidos gB del CMV de la divulgación comprenden al menos el 5 %, más adecuadamente al menos el 10 % y puede ser el 20 % o más de aminoácidos del dominio citoplasmático. Por consiguiente, en algunas realizaciones se suprime al menos el 80 %, al menos el 90 % o al menos el 95 % de los aminoácidos del dominio citoplasmático en los polipéptidos gB del CMV de la invención. En  
10 una realización adicional, los polipéptidos gB del CMV de la invención tienen suprimido el dominio citoplasmático completo.

Las mutaciones del dominio transmembrana, tales como, por ejemplo, supresiones de al menos parte del mismo, se pueden combinar con mutaciones del dominio citoplasmático, tales como, por ejemplo, supresiones de al menos parte del mismo. En la presente divulgación se contempla cualquier combinación, siempre que el polipéptido gB del  
15 CMV mutado resultante se secrete de las células hospedadoras tras la expresión en dichas células, como se describe anteriormente, y presente un perfil de trimerización mejorado. Por consiguiente, en realizaciones particulares, los polipéptidos gB del CMV de la invención se suprimen tanto del dominio transmembrana completo como del dominio citoplasmático completo. En algunos aspectos de la divulgación, los polipéptidos gB del CMV se suprimen del dominio transmembrana completo y conservan al menos parte del dominio citoplasmático, tal como,  
20 por ejemplo, el 10 % del mismo. En aspectos adicionales de la divulgación, los polipéptidos gB del CMV se suprimen del dominio citoplasmático completo y conservan al menos el 30 % del dominio transmembrana.

Sorprendentemente, los inventores observaron que combinando mutaciones de los bucles de fusión FL1 y/o FL2 con la delección de al menos parte del dominio citoplasmático, posiblemente la delección de todo él, y la delección de al menos parte del dominio transmembrana, posiblemente la delección de todo él, se proporcionaban polipéptidos que  
25 se expresaban y secretaban de forma más eficaz que los polipéptidos de la técnica anterior.

Además, los inventores observaron que la secuencia señal de los polipéptidos de CMV de la técnica anterior, tras la expresión recombinante y la secreción de los polipéptidos, se escindía mediante una peptidasa señal en distintas posiciones de aminoácidos, generando así una población de polipéptidos gB maduros que tenían un extremo variable en el N-terminal, es decir, una población constituida por polipéptidos gB que tienen un aminoácido distinto  
30 en el extremo N. Sorprendentemente, observaron que la introducción de mutaciones en la secuencia líder del polipéptido gB daba como resultado la escisión de la secuencia señal principalmente en un sitio, generando así una población homogénea de polipéptidos gB maduros que tenían el mismo aminoácido en el extremo N. Por consiguiente, en un aspecto de la divulgación se describe una preparación que comprende una población de polipéptidos gB del CMV maduros producidos tras la escisión de la secuencia señal, en la que al menos el 30 %, al menos el 80 %, del 80 % al 90 % de los polipéptidos gB maduros comprenden el mismo aminoácido en el extremo de N-terminal. En particular, los polipéptidos maduros de la invención comienzan adecuadamente con una serina o una histidina en la posición N-terminal. Es un objeto de la invención proporcionar un polipéptido gB del CMV que comprende una delección de al menos el 40 %, al menos el 50 %, al menos el 70 %, al menos el 80 % o al menos el 90 % de los aminoácidos de la secuencia líder. En una realización se proporciona un polipéptido gB del CMV que  
40 comprende la delección de la secuencia líder completa. Los inventores también observaron que la anterior delección de la secuencia líder se podía combinar con mutaciones que están presentes la secuencia señal, tal como al menos una sustitución de aminoácido, adecuadamente en la parte C-terminal del péptido señal. Como alternativa, dicha secuencia señal puede comprender al menos una inserción de aminoácido, adecuadamente en la parte C-terminal del péptido señal. El alcance de la delección de la secuencia líder, así como el tipo de mutaciones en la secuencia  
45 señal, pueden variar siempre que el polipéptido gB resultante, tras la expresión recombinante y la secreción, se escinda mediante una peptidasa señal en un sitio principal, generando así una población de polipéptidos gB maduros que tienen el mismo aminoácido en el extremo N. La identidad del aminoácido N-terminal dentro de una población de polipéptidos se puede determinar a través de cualquier técnica de secuenciación conocida en la técnica. Como alternativa, las distintas formas de polipéptidos dentro de una población de polipéptidos pueden someterse a una digestión con tripsina y los distintos péptidos generados se pueden analizar mediante  
50 espectroscopia de masas, tal como EM/EM. La comparación con péptidos patrón de secuencias conocidas permitirá determinar la composición de aminoácidos de los péptidos digeridos.

Los inventores notaron que la anterior delección de la secuencia líder y/o la mutación de la secuencia señal se podían combinar con cualquiera de las mutaciones descritas anteriormente relacionadas con los dominios de los bucles de fusión FL1 y FL2 y/o con la delección de al menos una parte del dominio TM y/o con la delección de al menos una parte del dominio citoplasmático, manteniendo aún las propiedades conferidas por cada tipo de mutación, tal como un perfil de trimerización mejorado, una expresión y secreción mejores, la ausencia de recorte C-terminal y homogeneidad en el extremo N tras la escisión de la secuencia señal, en comparación con los polipéptidos de gB del CMV de la técnica anterior, tal como gB-DeltaTM. Por consiguiente, en algunos aspectos de la divulgación, los polipéptidos gB del CMV comprenden mutaciones en la secuencia líder, combinadas de forma opcional con mutaciones en la secuencia señal, cualquiera de las mutaciones del dominio FL1 y/o FL2 descritas previamente y cualquiera de las mutaciones en el dominio citoplasmático y en el dominio TM desvelada en ese sentido.

Los polipéptidos gB del CMV de la invención no son de "origen natural" en el sentido de que no están presentes en el mismo estado que en la naturaleza, es decir, su secuencia se ha modificado de forma artificial. Los términos "polipéptido" o "proteína" se refieren a un polímero en el cual los monómeros son aminoácidos que están unidos a través de enlaces amida. Los términos "polipéptido" o "proteína", como se usan en el presente documento, se pretende que abarquen cualquier secuencia de aminoácidos y que incluyan secuencias modificadas, tales como glucoproteínas. Con el término "polipéptido" se pretende incluir específicamente las proteínas tanto de origen natural como las proteínas que no son de origen natural que se producen de forma recombinante o sintética. El término "fragmento", en referencia a un polipéptido, se refiere a una porción (es decir, una subsecuencia) de un polipéptido. La expresión "fragmento inmunogénico" se refiere a todos los fragmentos de un polipéptido que conservan al menos un epítipo inmunogénico predominante de la proteína o polipéptido de longitud completa de referencia. La orientación dentro de un polipéptido se cita en general en dirección de N-terminal a C-terminal, definida por la orientación de los grupos funcionales amino y carboxilo de los aminoácidos individuales. Los polipéptidos se traducen desde el N-terminal o extremo amino hacia el C-terminal o extremo carboxilo.

También es posible usar en la presente invención un polipéptido gB como se ha descrito anteriormente, que porta mutaciones adicionales, tales como, por ejemplo, mutaciones en sitios de escisión endoproteolítica, de modo que dichos sitios se hacen en inútiles. Por ejemplo, el sitio de escisión de furina emplazado alrededor de los aminoácidos 456 a 460 de la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 1, o en una posición correspondiente en otros polipéptidos gB del CMV que proceden de distintas cepas, puede estar mutado. Adecuadamente, se realiza al menos una de las sustituciones de aminoácido que se selecciona del grupo que consiste en: R<sup>456</sup> sustituido por T<sup>456</sup>, R<sup>458</sup> sustituido por Q<sup>458</sup> y R<sup>459</sup> sustituido por T<sup>459</sup>, con respecto a la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 1. Por consiguiente, en algunos aspectos de la divulgación, los polipéptidos gB del CMV comprenden mutaciones puntuales adicionales, en las que la arginina R<sup>456</sup>, R<sup>458</sup> y R<sup>459</sup> de la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 1, o en una posición correspondiente en otros polipéptidos gB del CMV que proceden de distintas cepas, están sustituidos por una treonina (T<sup>456</sup>), un ácido glutámico (Q<sup>458</sup>) y una treonina (T<sup>459</sup>), respectivamente. En algunos otros aspectos de la divulgación, la arginina en la posición 50 y 357 de la secuencia como se expone en SEQ ID NO: 1 se sustituyó por una serina. En otros aspectos adicionales de la divulgación, los polipéptidos gB, en particular los que comprenden una delección de una región hidrófoba en el dominio citoplasmático C-terminal, comprenden una mutación puntual adicional en la que la cisteína en la posición 778 de la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 1 está sustituida por una alanina.

De forma opcional, para facilitar la expresión y recuperación, el polipéptido gB de la presente invención puede incluir un péptido señal en el extremo N. Se puede seleccionar un péptido señal de entre numerosos péptidos señal conocidos en la técnica y normalmente se escoge para facilitar la producción y el procesamiento en un sistema seleccionado para la expresión recombinante del polipéptido gB de la presente divulgación. En algunos aspectos, el péptido señal es el presente de forma natural en la proteína gB nativa de la cepa AD169, es decir, los aminoácidos 1-20 de la secuencia como se expone en SEQ ID NO: 1. Como alternativa, el péptido señal puede ser una secuencia heteróloga en cuanto a que la secuencia surge de una proteína distinta de gB. Los péptidos señal ejemplares adecuados para su uso en el contexto de los polipéptidos gB del CMV de la divulgación incluyen péptidos señal del activador tisular del plasminógeno (tPA), la proteína gD del virus del herpes simple (VHS), la endostatina humana, la gp120 del VIH, CD33, Her2Neu humana o la gp350 del virus de Epstein Barr (VEB). Un "péptido señal" es una secuencia de aminoácidos corta (por ejemplo, de una longitud de aproximadamente 18-25 aminoácidos) que dirige a las proteínas de membrana o secretoras recién sintetizadas hacia y a través de las membranas, por ejemplo del retículo endoplasmático. Los péptidos señal se emplazan, con frecuencia pero no de forma universal, en el extremo N de un polipéptido y con frecuencia se escinden mediante peptidasas señal después de que la proteína ha atravesado la membrana. Normalmente, esta escisión se considera una etapa en el proceso de la "maduración" de proteínas. En particular, una vez que se escinde el péptido señal, la proteína se denomina como en su forma "madura". Normalmente, las secuencias señal contienen tres características estructurales comunes: una región básica polar N-terminal (región n), un núcleo hidrófobo y una región c hidrófila). De acuerdo con un aspecto de la divulgación, el polipéptido gB comprende el péptido señal presente de forma natural en gB nativo. En un aspecto alternativo de la divulgación, el polipéptido gB de la invención comprende un péptido señal heterólogo, tal como el péptido señal de la proteína CD33. Las secuencias señal pueden ser no nativas y pueden comprender mutaciones, tales como sustituciones, inserciones o supresiones de aminoácidos. Por consiguiente, en algunos aspectos de la divulgación, en los que los polipéptidos gB comprenden un péptido señal, en particular el péptido señal nativo, dicho péptido señal comprende al menos una sustitución de aminoácido, adecuadamente en la parte C-terminal del péptido señal. Como alternativa, dicho péptido señal puede comprender al menos una inserción de aminoácido, adecuadamente en la parte C-terminal del péptido señal.

De forma opcional, los polipéptidos gB del CMV de la divulgación pueden incluir la adición de una secuencia de aminoácidos que constituye una marca que facilita el posterior procesamiento o purificación de un polipéptido expresado de forma recombinante. Dicha marca puede ser una marca antigénica o de epítipo, una marca enzimática o una marca de polihistidina. Normalmente, la marca está situada en uno u otro extremo del polipéptido, tal como el extremo C o el extremo N del polipéptido. Por consiguiente, en algunos aspectos de la divulgación, los polipéptidos gB del CMV comprenden una marca de polihistidina emplazada en el extremo C de los polipéptidos.

En determinadas realizaciones, el polipéptido gB del CMV de la invención tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16 y SEQ ID NO: 18. Como alternativa, en distintas realizaciones, el polipéptido gB del CMV de la invención tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21.

Otro aspecto de la presente divulgación concierne a ácidos nucleicos que codifican los polipéptido gB del CMV de la presente invención. Las células en las que se introducen tales ácidos nucleicos o vectores (es decir, células hospedadoras) también son parte de la invención. Las células hospedadoras pueden ser células bacterianas, pero más comúnmente serán células eucariotas, tales como células de levaduras (por ejemplo, *pichia*), células vegetales, células de insectos o células de mamífero (por ejemplo, células CHO). En un aspecto de la divulgación, los polipéptidos gB del CMV se expresan de forma recombinante en células CHO.

Los términos “polinucleótido” y “secuencia de ácido nucleico” se refieren a una forma polimérica de nucleótidos de una longitud de al menos 10 bases. Los nucleótidos pueden ser ribonucleótidos, desoxirribonucleótidos o formas modificadas de cualquier nucleótido. El término incluye formas monocatenarias y bicatenarias de ADN. Por “polinucleótido aislado” se entiende un polinucleótido que no es inmediatamente contiguo a ambas secuencias codificantes con las que es inmediatamente contiguo (una en el extremo 5' y una en el extremo 3') en el genoma de origen natural del organismo del que procede. En un aspecto de la divulgación, un polinucleótido codifica un polipéptido. La dirección 5' y 3' de un ácido nucleico se define haciendo referencia a la conectividad de unidades nucleotídicas individuales y se designa en conformidad con las posiciones del carbono del anillo de azúcar desoxirribosa (o ribosa). El contenido de información (codificante) de una secuencia polinucleotídica se lee en la dirección 5' a 3'.

Un ácido nucleico “recombinante” es uno que tiene una secuencia que no es de origen natural o tiene una secuencia que está formada por una combinación artificial de dos segmentos de secuencia separados de otro modo. Esta combinación artificial se puede llevar a cabo mediante síntesis química o, más comúnmente, mediante la manipulación artificial de segmentos aislados de ácidos nucleicos, por ejemplo mediante técnicas de ingeniería genética. Una proteína “recombinante” es una que está codificada por un ácido nucleico heterólogo (por ejemplo, recombinante) que se ha introducido en una célula hospedadora, tal como una célula bacteriana o eucariota. El ácido nucleico se puede introducir en un vector de expresión que tenga señales capaces de expresar la proteína codificada por el ácido nucleico introducido o el ácido nucleico se puede integrar en el cromosoma de la célula hospedadora.

En algunos aspectos de la divulgación, los ácidos nucleicos recombinantes tienen codones optimizados para la expresión en una célula hospedadora procariota o eucariota seleccionada, tal como una célula de mamífero, vegetal o de insecto. Para facilitar la replicación y la expresión, los ácidos nucleicos se pueden incorporar en un vector, tal como un vector de expresión procariota o eucariota. Aunque los ácidos nucleicos desvelados en el presente documento se pueden incluir en una cualquiera de una diversidad de vectores (incluidos, por ejemplo, plásmidos bacterianos; ADN de fagos; baculovirus; plásmidos de levadura; vectores obtenidos de combinaciones de plásmidos y ADN de fago, ADN vírico tal como vaccinia, adenovirus, virus de la viruela aviar, seudorrabia, adenovirus, virus adenoasociados, retrovirus y muchos otros), más comúnmente el vector será un vector de expresión adecuado para generar productos de expresión polipeptídicos. En un vector de expresión, el ácido nucleico que codifica el polipéptido gB del CMV normalmente está dispuesto cerca y con una orientación con respecto a una secuencia de control de la transcripción apropiada (promotor y, de forma opcional, uno o más potenciadores) para dirigir la síntesis de ARNm. Es decir, la secuencia polinucleotídica de interés está unida operativamente a una secuencia de control de la transcripción apropiada. Los ejemplos de tales promotores incluyen: el promotor inmediato temprano del CMV, una LTR o el promotor del SV40, el promotor de polihedrón de baculovirus, el promotor lac o trp de *E. coli*, el promotor P<sub>L</sub> del fago lambda y el de T7, y otros promotores conocidos que controlan la expresión de genes en células procariotas o eucariotas o sus virus. Normalmente, el vector de expresión también contiene un sitio de unión al ribosoma para el inicio de la traducción y un terminador de la transcripción. De forma opcional, el vector incluye secuencias adecuadas para amplificar la expresión. Además, los vectores de expresión comprenden, de forma opcional, uno o más genes marcadores de selección para proporcionar un rasgo fenotípico para la selección de células hospedadoras transformadas, tales como dihidrofolato reductasa, resistencia a neomicina o resistencia a kanamicina, para cultivo de células eucariotas, o tales como resistencia a tetraciclina o ampicilina en *E. coli*.

El vector de expresión puede incluir también elementos de expresión adicionales para, por ejemplo, mejorar la eficiencia de la traducción. Estas señales pueden incluir un codón de iniciación ATG y las secuencias adyacentes. En algunos casos, por ejemplo, se insertan un codón de inicio de la traducción y los elementos de secuencia asociados en el vector de expresión adecuado de forma simultánea con la secuencia polinucleotídica de interés (por ejemplo, un codón de iniciación nativo). En tales casos no se necesitan señales de control de la traducción adicionales. Sin embargo, en los casos en los que sólo se inserta una secuencia codificante de polipéptido, o una parte de la misma, para la expresión de la secuencia de gB del CMV se proporcionan señales de control de la traducción exógenas, incluido un codón de iniciación ATG. El codón de iniciación se coloca en la fase de lectura correcta para garantizar la traducción de la secuencia polinucleotídica de interés. Los elementos transcripcionales exógenos y los codones de iniciación pueden ser de diversos orígenes, tanto naturales como sintéticos. Si se desea se puede aumentar adicionalmente la eficacia de la expresión mediante la inclusión de potenciadores apropiados para el sistema celular en uso (Scharf y col. (1994) *Results Probl Cell Differ* 20:125-62; Bitter y col. (1987) *Methods*

in Enzymol 153:516-544).

Se pueden encontrar procedimientos ejemplares suficientes para guiar al experto en la materia en la producción de ácidos nucleicos de gB del recombinantes CMV en Sambrook y col., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2ª Ed.; Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989; Sambrook y col., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3ª ed. Cold Spring Harbor Press, 2001; Ausubel y col., *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing Associates, 1992 (y los suplementos hasta 2003); y Ausubel y col., *Short Protocols in Molecular Biology: A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology*, 4ª ed., Wiley & Sons, 1999.

Los ácidos nucleicos ejemplares que codifican los polipéptidos gB del CMV de la invención están representados en las SEQ ID NO: 6, 7, 8, 9, 11, 13, 15 y 17. Los expertos en la materia pueden producir variantes adicionales de la secuencia que comparten identidad de secuencia con las variantes ejemplares. Normalmente, las variantes de ácido nucleico codificarán polipéptidos que difieren en no más del 1 % o el 2 %, o el 5 %, o el 10 %, o el 15 %, o el 20 % de los nucleótidos o aminoácidos. Es decir, los polipéptidos codificados comparten al menos el 80 %, o el 85 %, más comúnmente, al menos aproximadamente el 90 % o más, tal como el 95 %, o incluso el 98 % o el 99 % de identidad de secuencia. Los expertos en la materia entenderán inmediatamente que las secuencias polinucleotídicas que codifican los polipéptidos gB del CMV pueden, ellos mismos, compartir menos identidad de secuencia debido a la redundancia del código genético.

Los expertos en la materia entenderán que la similitud entre los polipéptidos gB del CMV y las secuencias polinucleotídicas, como para las secuencias polipeptídicas y nucleotídicas en general, se puede expresar en términos de la similitud entre las secuencias, por otro lado denominada identidad de secuencia. Con frecuencia, la identidad de secuencia se mide en términos de identidad (o similitud) porcentual; cuanto mayor es el porcentaje, más similares son las estructuras primarias de las dos secuencias. En general, cuanto más similares son las estructuras primarias de dos secuencias de aminoácidos (o de polinucleótidos), más similares son las estructuras de orden superior resultantes del plegamiento y el ensamblaje. Las variantes de los polipéptidos gB del CMV y las secuencias polinucleotídicas pueden tener una o un número pequeño de supresiones, adiciones o sustituciones de aminoácidos pero, no obstante, compartirán un porcentaje muy alto de su secuencia aminoacídica y, en general, polinucleotídica. En la técnica se conocen bien los procedimientos para determinar la identidad de secuencia. Se describen diversos programas y algoritmos de alineamiento en: Smith y Waterman, *Adv. Appl. Math.* 2:482, 1981; Needleman y Wunsch, *J. Mol. Biol.* 48:443, 1970; Higgins y Sharp, *Gene* 73:237, 1988; Higgins y Sharp, *CABIOS* 5:151, 1989; Corpet y col., *Nucleic Acids Research* 16:10881, 1988; y Pearson y Lipman, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:2444, 1988. Altschul y col., *Nature Genet.* 6:119, 1994, presentan un estudio detallado de los procedimientos de alineamiento de secuencias y los cálculos de homología. La Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) del NCBI (Altschul y col., *J. Mol. Biol.* 215:403, 1990) está disponible en varias fuentes, incluidos el National Center for Biotechnology Information (NCBI, Bethesda, MD) y en internet, para su uso en relación con los programas de análisis de secuencias blastp, blastn, blastx, tblastn y tblastx. En el sitio web del NCBI en internet se dispone de una descripción de cómo determinar la identidad de secuencias usando este programa.

Otros indicios de similitud de secuencia entre dos ácidos nucleicos es la capacidad para hibridar. Cuanto más similares son las secuencias de los dos ácidos nucleicos, más rigurosas son las condiciones en las que hibridan. La rigurosidad de las condiciones de hibridación depende de la secuencia y son distintas en parámetros ambientales distintos. Por lo tanto, las condiciones de hibridación que resultan en grados concretos de rigurosidad variarán dependiendo de la naturaleza del procedimiento de hibridación de elección y la composición y longitud de las secuencias de ácido nucleico que hibridan. En general, la temperatura de hibridación y la fuerza iónica (en especial, la concentración de Na<sup>+</sup> y/o Mg<sup>++</sup>) del tampón de hibridación determinarán la rigurosidad de la hibridación, aunque la cantidad de lavados también influye sobre la rigurosidad. En general, las condiciones rigurosas se seleccionan para que sean aproximadamente 5 °C a 20 °C menores que el punto de fusión térmico (T<sub>f</sub>) para la secuencia específica, a una fuerza iónica y pH definidos. La T<sub>f</sub> es la temperatura (a fuerza iónica y pH definidos) a la que el 50 % de la secuencia diana hibrida con una sonda perfectamente apareada. Las condiciones para la hibridación de ácido nucleico y el cálculo de las rigurosidades se pueden encontrar en, por ejemplo, Sambrook y col., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 2001; Tijssen, *Hybridization With Nucleic Acid Probes*, Parte I: Theory and Nucleic Acid Preparation, Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology, Elsevier Science Ltd., NY, NY, 1993. y Ausubel y col. *Short Protocols in Molecular Biology*, 4ª ed., John Wiley & Sons, Inc., 1999.

Para los fines de la presente divulgación, "condiciones rigurosas" abarca condiciones en las que la hibridación sólo se producirá si hay menos del 25 % de desapareamiento entre la molécula de hibridación y la secuencia diana. Para una definición más precisa las "condiciones rigurosas" se pueden desglosar en niveles particulares de rigurosidad. Por lo tanto, como se usa en el presente documento, las condiciones de "rigurosidad moderada" son en las que las moléculas con un desapareamiento de secuencia mayor del 25 % no hibridarán; las condiciones de "rigurosidad media" son en las que las moléculas con un desapareamiento mayor del 15 % no hibridarán y las condiciones de "rigurosidad alta" son en las que las secuencias con un desapareamiento mayor del 10 % no hibridarán. Las condiciones de "rigurosidad muy alta" son en las que las secuencias con un desapareamiento mayor del 6 % no hibridarán. Por el contrario, los ácidos nucleicos que hibridan en condiciones de "rigurosidad baja" incluyen aquéllos con una identidad de secuencia mucho menor o con una identidad de secuencia sólo a lo largo de subsecuencias cortas del ácido nucleico. Por lo tanto, se entenderá que las diversas variantes de ácidos nucleicos abarcadas por la

presente divulgación son capaces de hibridar con al menos una de las SEQ ID NO: 6, 7, 8, 9, 11, 13, 15 y 17, a lo largo de sustancialmente su longitud completa.

Los polipéptidos gB del CMV desvelados en el presente documento se producen usando procedimientos bien establecidos para la expresión y purificación de proteínas recombinantes. Se pueden encontrar procedimientos suficientes para guiar al experto en la materia en, por ejemplo, las referencias de Sambrook y de Ausubel citadas anteriormente. A continuación en el presente documento se proporcionan detalles adicionales y específicos. Los ácidos nucleicos recombinantes que codifican los polipéptidos gB del CMV, tales como (pero sin limitación) los ácidos nucleicos ejemplares representados por las SEQ ID NO: 6, 7, 8, 9, 11, 13, 15 y 17, se introducen en las células hospedadoras mediante cualquiera de una diversidad de procedimientos bien conocidos, tales como electroporación, transfección mediada por liposomas, precipitación con fosfato cálcico, infección, transfección y similares, dependiendo de la selección de los vectores y las células hospedadoras. Las células hospedadoras que incluyen ácidos nucleicos que codifican el polipéptido gB del CMV recombinantes son, por lo tanto, también una característica de la presente divulgación. Las células hospedadoras favorables incluyen células hospedadoras procariontes (es decir, bacterianas), tales como *E. coli*, así como numerosas células hospedadoras eucariotas, incluidas células fúngicas (por ejemplo, levaduras, tales como *Saccharomyces cerevisiae* y *Pichia pastoris*), células de insecto, células vegetales y células de mamífero (tales como células CHO). Los ácidos nucleicos de gB del CMV recombinantes se introducen (por ejemplo, transducen, transforman o transfectan) en las células hospedadoras a través, por ejemplo, de un vector, tal como un vector de expresión. Como se describe anteriormente, el vector es, con mayor frecuencia, un plásmido, pero tales vectores también pueden ser, por ejemplo, una partícula viral, un fago etc. Los ejemplos de hospedadores de expresión adecuados incluyen: células bacterianas, tales como *E. coli*, *Streptomyces* y *Salmonella typhimurium*; células fúngicas, tales como *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia pastoris* y *Neurospora crassa*; células de insecto tales como *Drosophila* y *Spodoptera frugiperda*; células de mamífero, tales como 3T3, COS, CHO, BHK, HEK 293 o melanoma de Bowes; células vegetales, incluidas células de algas, etc.

Las células hospedadoras se pueden cultivar en medios nutritivos convencionales modificados, según sea adecuado, para activar los promotores, seleccionar los transformantes o amplificar las secuencias polinucleotídicas insertadas. Las condiciones de cultivo, tales como la temperatura, el pH y similares, son normalmente las usadas anteriormente con la célula hospedadora seleccionada para la expresión y serán evidentes para los expertos en la materia, y las de las referencias citadas en el presente documento, que incluyen, por ejemplo, Freshney (1994) *Culture of Animal Cells, a Manual of Basic Technique*, tercera edición, Wiley-Liss, New York y las referencias citadas en el mismo. Los productos de expresión que corresponden con los ácidos nucleicos de la invención también se pueden producir en células no animales, tales como vegetales, de levaduras, hongos, bacterias y similares. Además de Sambrook, Berger y Ausubel, se pueden encontrar detalles respecto al cultivo celular en Payne y col. (1992) *Plant Cell and Tissue Culture in Liquid Systems* John Wiley & Sons, Inc. New York, NY; Gamborg y Phillips (eds) (1995) *Plant Cell, Tissue and Organ Culture; Fundamental Methods* Springer Lab Manual, Springer-Verlag (Berlin Heidelberg New York) y Atlas y Parks (eds) *The Handbook of Microbiological Media* (1993) CRC Press, Boca Raton, FL. En los sistemas bacterianos, se pueden seleccionar varios vectores de expresión dependiendo del uso previsto para el producto expresado. Por ejemplo, cuando se necesitan grandes cantidades de un polipéptido o fragmentos del mismo para la producción de anticuerpos, se usan de forma favorable vectores que dirijan la expresión de altos niveles de proteínas que se purifican con facilidad. Dichos vectores incluyen, pero sin limitación, vectores de clonación y expresión multifuncionales de *E. coli*, tales como BLUESCRIPT (Stratagene), en los que la secuencia codificante de interés, por ejemplo un polinucleótido de la invención como describe anteriormente, se puede ligar en el vector en fase con las secuencias para la metionina de inicio de la traducción amino terminal y los posteriores 7 residuos de la beta-galactosidasa, que producen una proteína de fusión de beta galactosidasa catalíticamente activa; vectores pIN (Van Heeke y Schuster (1989) *J Biol Chem* 264:5503-5509); vectores pET (Novagen, Madison WI), en los que la metionina amino terminal está ligado en fase con una marca de histidina; y similares. De forma similar, en levaduras, tales como *Saccharomyces cerevisiae*, se pueden usar varios vectores que contienen promotores constitutivos o inducibles, tales como el factor alfa, la alcohol oxidasa y PGH, para la producción de los productos de expresión deseados. Para revisiones, véase Berger, Ausubel y, por ejemplo, Grant y col. (1987; *Methods in Enzymology* 153:516-544). En las células hospedadoras de mamífero se puede usar varios sistemas de expresión, incluidos plásmidos y sistemas basados en virus.

De forma opcional, una célula hospedadora se escoge por su capacidad para modular la expresión de las secuencias insertadas o para procesar la proteína expresada del modo deseado. Tales modificaciones de la proteína incluyen, pero sin limitación, glucosilación (así como, por ejemplo, acetilación, carboxilación, fosforilación, lipidación y acilación). Por ejemplo, el procesamiento postraduccion, que escinde una forma precursora para producir una forma madura de la proteína (por ejemplo, mediante una proteasa furina) se realiza de forma opcional en el contexto de la célula hospedadora. Distintas células hospedadoras, tales como 3T3, COS, CHO, HeLa, BHK, MDCK, 293, WI38, etc., tienen una maquinaria celular específica y mecanismos característicos para tales actividades postraduccionales, y se pueden escoger para garantizar la correcta modificación y procesamiento de la proteína extraña introducida. Para la producción prolongada de alto rendimiento del polipéptido gB del CMV recombinante codificado por los ácidos nucleicos desvelados en el presente documento, normalmente se usan sistemas de expresión estables. Por ejemplo, las líneas celulares que expresan de forma estable un polipéptido gB del CMV de la invención se obtienen introduciendo en la célula hospedadora vectores de expresión que contienen orígenes de replicación víricos o elementos de expresión endógenos, y un gen marcador de selección. Tras la introducción del

vector, se deja que las células crezcan durante 1-2 días en un medio enriquecido antes de cambiarlas a un medio selectivo. El fin del marcador de selección es conferir resistencia a la selección y su presencia permite el cultivo y recuperación de células que expresan de forma satisfactoria las secuencias introducidas. Por ejemplo, se pueden hacer proliferar grupos o colonias resistentes de células transformadas de forma estable, usando técnicas de cultivo de tejidos apropiadas para el tipo celular. Las células hospedadoras transformadas con un ácido nucleico que codifica un polipéptido gB del CMV se cultivan de forma opcional en condiciones adecuadas para la expresión y recuperación a partir del cultivo celular de la proteína codificada.

Después de la transducción de una línea celular hospedadora adecuada y el cultivo de las células hospedadoras hasta una densidad celular adecuada, el promotor seleccionado se induce mediante medios apropiados (por ejemplo, cambio de temperatura o inducción química), y las células se cultivan durante un periodo adicional. Después, el producto polipeptídico secretado se recupera del medio de cultivo y se purifica. Como alternativa, las células se pueden recoger mediante centrifugación, romper por medios físicos o químicos, y el extracto bruto resultante se conserva para la purificación adicional. Las células eucariotas o microbianas empleadas en la expresión de proteínas, se pueden romper por cualquier procedimiento conveniente, incluidos ciclos de congelación-descongelación, ultrasonido, rotura mecánica, o los polipéptidos gB del CMV de las células se pueden recuperar y purificar a partir de cultivos celulares recombinantes mediante cualquiera de varios procedimientos bien conocidos en la técnica, que incluyen precipitación en sulfato amónico o etanol, extracción ácida, cromatografía de intercambio aniónico o catiónico, cromatografía de fosfocelulosa, cromatografía de interacción hidrófoba, cromatografía de afinidad (por ejemplo, usando cualquiera de los sistemas de marcaje indicados en el presente documento), cromatografía de hidroxipatita y cromatografía de lectina. Para completar la configuración de la proteína madura se pueden usar etapas de renaturalización de proteínas, según se desee. Por último, se puede emplear en las etapas de purificación finales cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC). Además de las referencias indicadas anteriormente, en la técnica se conocen bien una diversidad de procedimientos de purificación, que incluyen, por ejemplo, los expuestos en Sandana (1997) *Bioseparation of Proteins*, Academic Press, Inc.; y Bollag y col. (1996) *Protein Methods*, 2ª edición Wiley-Liss, NY; Walker (1996) *The Protein Protocols Handbook* Humana Press, NJ; Harris y Angal (1990) *Protein Purification Applications: A Practical Approach* IRL Press at Oxford, Oxford, RU; Scopes (1993) *Protein Purification: Principles and Practice* 3ª Edición Springer Verlag, NY; Janson y Ryden (1998) *Protein Purification: Principles, High Resolution Methods and Applications*, Segunda Edición Wiley-VCH, NY; y Walker (1998) *Protein Protocols on CD-ROM* Humana Press, NJ.

En un ejemplo, los polinucleótidos que codifican los polipéptidos gB del CMV se clonan en un vector adecuado para la introducción en células de mamífero (por ejemplo, células CHO). En este aspecto ejemplar de la divulgación, la secuencia polinucleotídica que codifica el polipéptido gB del CMV se introduce en el vector pMax desarrollado por Amaxa. El polipéptido se expresa bajo un promotor constitutivo, el promotor temprano inmediato de CMV. La selección de las células transfectadas de forma estable que expresan la quimera se realiza a base de la capacidad de las células transfectadas para crecer en presencia de kanamicina. Las células que se han integrado de forma satisfactoria en pMax tienen la capacidad de crecer en presencia de kanamicina debido a que el vector pMax expresa un gen de resistencia a kanamicina. Las células seleccionadas pueden expandirse de forma clonal y caracterizarse por la expresión de los polipéptidos gB del CMV. Como alternativa, las secuencias polinucleotídicas que codifican los polipéptidos gB del CMV de la invención se pueden introducir en el vector pTT5 desarrollado por NRC, que expresa un gen de resistencia a ampicilina.

Después de la transfección y la inducción de la expresión (de acuerdo con el promotor y/o los potenciadores u otros elementos reguladores seleccionados), se recuperan los polipéptidos expresados (por ejemplo, se purifican o enriquecen). Lo siguiente es un procedimiento ejemplar para purificar los polipéptidos gB del CMV. Para facilitar la purificación, los polipéptidos gB del CMV incluyen una marca de polihistidina C-terminal. En resumen, el sobrenadante del cultivo celular se recogió 6 días después de la transfección. Tras el aclarado, los sobrenadantes se cargaron en columnas de níquel.

El término "purificación" se refiere al procedimiento de retirar los componentes de una composición cuya presencia no se desea. Purificación es un término relativo y no requiere que se retiren de la composición todos los rastros del componente no deseado. En el contexto de la producción de vacunas, la purificación incluye procedimientos tales como centrifugación, dializado, cromatografía de intercambio iónico y cromatografía de exclusión por tamaño, purificación por afinidad o precipitación. Por lo tanto, el término "purificado" no requiere pureza absoluta; en su lugar, se pretende que sea un término relativo. Una preparación de ácido nucleico o proteína sustancialmente pura se puede purificar de manera que el ácido nucleico deseado, o la proteína, represente al menos el 50 % del contenido de ácido nucleico de la preparación. En algunos aspectos de la divulgación, un ácido nucleico, o proteína, sustancialmente puro representará al menos el 60 %, al menos el 70 %, al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el 90 % o al menos el 95 %, o más, del contenido total de ácido nucleico o de proteína de la preparación.

En el sentido de la presente invención, un componente biológico "aislado" (tal como una molécula de ácido nucleico o proteína) se ha separado o purificado sustancialmente de otros componentes biológicos en la célula del organismo en el que el componente se produce de forma natural, tales como otros ADN y ARN cromosómicos y extracromosómicos, proteínas y orgánulos. Los ácidos nucleicos y proteínas que se han "aislado" incluyen ácidos nucleicos y proteínas purificados mediante procedimientos de purificación convencionales. El término también abarca ácidos nucleicos y proteínas preparadas mediante expresión recombinante en una célula hospedadora, así

como ácidos nucleicos y proteínas sintetizados de forma química.

Los polipéptidos gB del CMV y los ácidos nucleicos de la divulgación son útiles en la preparación de medicamentos para tratar una infección por CMV. Los polipéptidos gB del CMV de la invención son particularmente adecuados como antígenos para la inclusión en una composición inmunogénica, tales como vacunas. Por consiguiente, la presente divulgación también describe procedimientos para producir una respuesta inmunitaria frente al CMV, administrando a un sujeto una cantidad inmunológicamente eficaz de una composición que contiene cualquiera de los polipéptidos gB del CMV de la divulgación. Los sujetos pueden ser sujetos seropositivos para CMVH o seronegativos para CMVH. En algunos aspectos de la divulgación, los sujetos son chicas adolescentes, normalmente de 12 a 16 años. Como alternativa, los sujetos son mujeres en edad fértil. Normalmente, el grupo de mujeres en edad fértil representa mujeres de entre 16 y 45 años que se pueden quedar embarazadas. En un aspecto de la divulgación, se describe un procedimiento para producir una respuesta inmunitaria frente al CMV, que comprende las etapas de administrar a una mujer en edad fértil seronegativa para CMVH una cantidad inmunológicamente eficaz de una composición que comprende un polipéptido gB de la divulgación. En un aspecto alternativo de la divulgación, los polipéptidos gB del CMV se usan en la preparación de un medicamento para prevenir y/o tratar la infección por CMV. Adecuadamente, la composición, o medicamento, produce una respuesta inmunitaria protectora que reduce o previene la infección por CMV y/o reduce o previene una respuesta patológica tras la infección por CMV. En particular, el procedimiento de la divulgación, en el que se administra a una mujer en edad fértil una cantidad inmunológicamente eficaz de una composición que contiene cualquiera de los polipéptidos gB del CMV de la invención, previene la transmisión del CMV de la madre al feto, es decir, previene la infección congénita por CMV. La expresión "prevención de la infección congénita por CMVH en un recién nacido" significa que el recién nacido no tiene infección por CMVH en el momento del parto. Como alternativa, los sujetos adecuados para recibir la composición inmunogénica de la divulgación son sujetos inmunodeprimidos, tales como, por ejemplo, pacientes trasplantados. Por consiguiente, algunos aspectos de la divulgación, se describe el uso de polipéptidos gB del CMV de la invención para reducir y/o prevenir la infección por CMV en sujetos inmunodeprimidos. En aspectos adicionales de la divulgación, se describen procedimientos para producir una respuesta inmunitaria frente al CMV, que comprende las etapas de administrar polipéptidos gB del CMV de la invención a sujetos inmunodeprimidos.

Un "sujeto" es un organismo vertebrado multicelular vivo. En el contexto de la presente divulgación, el sujeto puede ser un sujeto experimental, tal como un animal no humano, por ejemplo un ratón, una rata del algodón o un primate no humano. Como alternativa, el sujeto puede ser un sujeto humano, como se indica anteriormente.

Un "antígeno" es un compuesto, composición o sustancia que puede estimular en un animal una respuesta inmunitaria produciendo anticuerpos y/o una respuesta de linfocitos T, incluidas composiciones que se inyectan, absorben o se introducen de otro modo en un animal. El término "antígeno" incluye todos los epítopos antigénicos relacionados. El término "epítipo" o "determinante antigénico" se refiere a un sitio en un antígeno al que responden los linfocitos B y/o T. Los "epítopos antigénicos predominantes" son los epítopos frente a los que se elabora una respuesta inmunitaria del hospedador funcionalmente significativa, por ejemplo una respuesta de anticuerpos o una respuesta de linfocitos T. Por lo tanto, con respecto a una respuesta inmunitaria protectora frente a un patógeno, los epítopos antigénicos predominantes son las fracciones antigénicas que, cuando son reconocidas por el sistema inmunitario del hospedador, dan como resultado la protección frente a la enfermedad provocada por el patógeno. La expresión "epítipo de linfocito T" se refiere a un epítipo que, cuando se une a una molécula de MHC adecuada, un linfocito T se une de forma específica a él (a través de un receptor de linfocito T). Un "epítipo de linfocito B" es un epítipo al que se une de forma específica un anticuerpo (o molécula receptora de linfocito B).

Una "respuesta inmunitaria" es una respuesta de una célula del sistema inmunitario, tal como un linfocito B, linfocito T o monocito, a un estímulo. Una respuesta inmunitaria puede ser una respuesta de linfocitos B, que tiene como resultado la producción de anticuerpos específicos, tales como anticuerpos neutralizantes específicos de antígeno. Una respuesta inmunitaria también puede ser una respuesta de linfocitos T, tal como una respuesta de CD4+ o una respuesta de CD8+. En algunos casos, la respuesta es específica para un antígeno particular (es decir, una "respuesta específica de antígeno"), en particular, el CMV. Si el antígeno deriva de un patógeno, la respuesta específica de antígeno es una "respuesta específica de patógeno". Una "respuesta inmunitaria protectora" es una respuesta inmunitaria que inhibe una función o actividad perjudicial de un patógeno, reduce la infección por un patógeno o disminuye los síntomas (incluida la muerte) que resultan de la infección por el patógeno. Una respuesta inmunitaria protectora se puede medir mediante, por ejemplo, la inhibición de la replicación vírica o de la formación de placas en un ensayo de reducción de placas o ensayo de ELISA-neutralización, o midiendo la resistencia a la exposición al patógeno *in vivo*.

Normalmente, la respuesta inmunitaria produce una respuesta inmunitaria caracterizada por la producción de citocinas de tipo Th1, por ejemplo una respuesta inmunitaria de tipo Th1. Una respuesta inmunitaria de tipo "Th1" se caracteriza por linfocitos T auxiliares CD4+ que producen IL-2 e IFN- $\gamma$ . Por lo contrario, una respuesta inmunitaria de tipo "Th2" se caracteriza por linfocitos auxiliares CD4+ que producen IL-4, IL-5 e IL-13.

Una "cantidad inmunológicamente eficaz" es una cantidad de una composición (normalmente una composición inmunogénica) usada para producir una respuesta inmunitaria en un sujeto. Habitualmente, el resultado deseado es la producción de una respuesta inmunitaria específica de antígeno (por ejemplo, de patógeno) que tiene la capacidad de, o contribuye a, proteger al sujeto frente al patógeno, tal como el CMV. Sin embargo, obtener una

respuesta inmunitaria protectora frente a un patógeno puede requerir múltiples administraciones de la composición inmunogénica. Por lo tanto, en el contexto de la presente divulgación, la expresión cantidad inmunológicamente eficaz abarca una dosis fraccionada que contribuye, en combinación con administraciones anteriores o posteriores, a lograr una respuesta inmunitaria protectora.

5 También se proporcionan composiciones inmunogénicas, tales como vacunas, que incluyen un polipéptido gB del CMV y un diluyente, vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable. Una "composición inmunogénica" es una composición de materia adecuada para la administración a un sujeto humano o animal que es capaz de producir una respuesta inmunitaria específica, por ejemplo frente a un patógeno, tal como el CMV. Como tal, una composición inmunogénica incluye uno o más antígenos (por ejemplo, antígenos polipeptídicos) o epítopos antigénicos, tales como, por ejemplo, los polipéptidos gB del CMV de las invenciones. Una composición inmunogénica también puede incluir uno o más componentes adicionales que tengan la capacidad de producir o potenciar una respuesta inmunitaria, tal como un excipiente, vehículo y/o adyuvante. En determinados casos, las composiciones inmunogénicas se administran para producir una respuesta inmunitaria que protege al sujeto frente a síntomas o afecciones inducidas por un patógeno. En algunos casos, los síntomas o enfermedades provocados por un patógeno se previenen (o reducen o mejoran) inhibiendo la replicación del patógeno (por ejemplo, el CMV) después de la exposición del sujeto al patógeno. En el contexto de la presente divulgación, se entenderá que la expresión composición inmunogénica abarca composiciones que están destinadas a la administración a un sujeto o población de sujetos con el fin de producir una respuesta inmunitaria protectora o paliativa frente al CMV (es decir, composiciones vacunales o vacunas). Las composiciones inmunogénicas de acuerdo con la divulgación no están limitadas a las composiciones que comprenden polipéptidos gB del CMV. La presente divulgación también describe composiciones inmunogénicas, tales como vacunas, que comprenden los polipéptidos gB del CMV de la invención y al menos uno o más antígenos del CMV seleccionados del grupo que consiste en pp65, IE1, pUL131, gL, gH, pUL128, pUL130 o cualquier combinación de los mismos. La presente divulgación también describe composiciones inmunogénicas, tales como vacunas, que comprenden los polipéptidos gB del CMV de la invención y al menos uno o más antígenos seleccionados del grupo que consiste en VPH, *Chlamydia*, VRS, *Toxoplasma gondii*. Zoster y *Aspergillus*.

Se conocen bien en la técnica numerosos diluyentes y vehículos farmacéuticamente aceptables, y/o excipientes farmacéuticamente aceptables y se describen, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences, de E. W. Martin, Mack Publishing Co., Easton, PA, 15ª Edición (1975). El adjetivo "farmacéuticamente aceptable" indica que el diluyente o vehículo, o excipiente, es adecuado para la administración a un sujeto (por ejemplo, un sujeto humano o animal). En general, la naturaleza del diluyente, vehículo y/o excipiente dependerá del modo particular de administración que se emplee. Por ejemplo, las formulaciones parenterales normalmente incluyen como vehículo fluidos inyectables que incluyen fluidos farmacéuticos y fisiológicamente aceptables, tales como agua, solución salina fisiológica, soluciones salinas balanceadas, dextrosa acuosa, glicerol o similares. En determinadas formulaciones (por ejemplo, composiciones sólidas, tales como formas en polvo) no se emplea un diluyente líquido. En tales formulaciones se pueden usar vehículos sólidos no tóxicos, incluidos, por ejemplo, trehalosa, manitol, lactosa, almidón o estearato de magnesio de calidad farmacéutica.

Por consiguiente, los expertos en la técnica pueden seleccionar excipientes y vehículos adecuados para producir una formulación adecuada para suministrar a un sujeto mediante una vía de administración seleccionada. Los excipientes incluyen, pero sin limitación: glicerol, polietilenglicol (PEG), polioles formadores de vidrio (tales como, sorbitol, trehalosa), N-lauroilsarcosina (por ejemplo, sal sódica), L-prolina, sulfobetaina no detergente, clorhidrato de guanidina, urea, óxido de trimetilamina, KCl,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  (y otras sales relacionadas con cationes divalentes), ditiotreitrol (DTT), ditioeritrol,  $\beta$ -mercaptoetanol, detergentes (incluidos, por ejemplo, Tween80, Tween20, Triton X-100, NP-40, Empigen BB, Octilglucósido, Lauroil maltósido, Zwittergent 3-08, Zwittergent 3-10, Zwittergent 3-12, Zwittergent 3-14, Zwittergent 3-16, CHAPS, desoxicolato sódico, dodecilsulfato sódico y bromuro de cetiltrimetilamonio).

En determinados ejemplos, la composición inmunogénica también incluye un adyuvante. Los adyuvantes adecuados para su uso en las composiciones inmunogénicas que contienen polipéptidos gB del CMV de la invención son los adyuvantes que, en combinación con dichos polipéptidos desvelados en el presente documento, son seguros y mínimamente reactogénicos cuando se administran a un sujeto.

Un "adyuvante" es un agente que potencia la producción de una respuesta inmunitaria de un modo no específico. Los adyuvantes comunes incluyen suspensiones de minerales (alumbre, hidróxido de aluminio, fosfato de aluminio) sobre las que se adsorbe el antígeno; emulsiones, incluidas de agua en aceite y de aceite en agua (y variantes de las mismas, incluidas emulsiones dobles y emulsiones reversibles), liposomas, agonistas del receptor Toll (en particular agonistas de TLR2, TLR4, TLR7/8 y TLR9) y diversas combinaciones de tales componentes.

Las saponinas son adyuvantes adecuados para su uso en combinación con los polipéptidos gB del CMV de la invención. Por consiguiente, las composiciones inmunogénicas de la invención pueden comprender la saponina QS21 (documento WO8809336A1; documento US5057540A). QS21 es bien conocida en la técnica como una saponina natural obtenida de la corteza de *Quillaja saponaria* Molina que induce linfocitos T citotóxicos CD8+ (los CTL), linfocitos TH1 y una respuesta de anticuerpos IgG2a predominante. Para evitar dudas, la referencia a QS21

incluye a OPT-821. En una forma adecuada de la presente divulgación, las composiciones inmunogénicas pueden comprender QS21 en forma sustancialmente pura, es decir, la QS21 está al pura menos al 80 %, al menos al 85 %, al menos al 90 %, por ejemplo al menos al 95 % o al menos al 98 %. Las composiciones de la divulgación pueden comprender QS21 en una cantidad de entre aproximadamente 1 µg a aproximadamente 100 µg, por ejemplo entre aproximadamente 1 µg y aproximadamente 60 µg o entre 10 µg y aproximadamente 50 µg, por ejemplo, aproximadamente 10 µg, aproximadamente 12,5 µg, aproximadamente 15 µg, aproximadamente 20 µg, aproximadamente 25 µg, aproximadamente 30 µg, aproximadamente 40 µg o, en particular, aproximadamente 50 µg. En particular, QS21 está presente en una cantidad de entre aproximadamente 40 µg y 60 µg o entre 45 y 55 µg, o entre 47 y 53 µg o entre 48 y 52 µg, o entre 49 y 51 o aproximadamente 50 µg. Como alternativa, QS21 está presente en una cantidad de entre 21 µg y 29 µg, o entre aproximadamente 22 µg y aproximadamente 28 µg, o entre aproximadamente 23 µg y aproximadamente 27 µg, o entre aproximadamente 24 µg y aproximadamente 26 µg, o aproximadamente 25 µg. En algunos aspectos de la divulgación, las composiciones inmunogénicas que comprenden los polipéptidos gB del CMV comprenden QS21 en una cantidad de aproximadamente 10 µg, por ejemplo de entre aproximadamente 5 µg y 15 µg, aproximadamente 6 µg y aproximadamente 14 µg, aproximadamente 7 µg y aproximadamente 13 µg, aproximadamente 8 µg y aproximadamente 12 µg, o aproximadamente 9 µg y aproximadamente 11 µg, o aproximadamente 10 µg. En aspectos adicionales de la divulgación, las composiciones inmunogénicas comprenden QS21 en una cantidad de aproximadamente alrededor de 5 µg, por ejemplo de entre aproximadamente 1 µg y 9 µg, aproximadamente 2 µg y aproximadamente 8 µg, aproximadamente 3 µg y aproximadamente 7 µg, aproximadamente 4 µg y aproximadamente 6 µg, o aproximadamente 5 µg. Una cantidad adecuada de QS21 en la dosis para seres humanos de las composiciones de la divulgación es, por ejemplo, cualquiera de 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 o 50 µg.

Las composiciones inmunogénicas que comprenden los polipéptidos gB del CMV de la invención pueden comprender QS21 y un esteroide, en particular colesterol. Dichas composiciones muestran una reactogenicidad disminuida cuando se comparan con las composiciones en las que no hay esteroide, mientras se mantiene el efecto adyuvante. Los estudios de reactogenicidad se pueden evaluar de acuerdo con los procedimientos desvelados en el documento WO 96/33739. El esteroide de acuerdo con la divulgación se entiende que se refiere a un esteroide exógeno, es decir un esteroide que no es endógeno del organismo del que se puede tomar la preparación de antígeno β-Amiloide. Adecuadamente, el esteroide exógeno se asocia con el adyuvante saponina como se describe en el documento WO 96/33739. En un aspecto particular de la divulgación, el colesterol está presente en exceso con respecto a QS21, por ejemplo, la proporción QS21:esteroide normalmente será del orden de 1:100 a 1:1 (p/p), adecuadamente entre 1:10 a 1:1 (p/p) y, preferentemente, 1:5 a 1:1 (p/p). En particular, siendo la proporción QS21:esteroide al menos 1:2 (p/p). En un aspecto particular de la divulgación, la proporción de QS21:esteroide es de 1:5 (p/p). Los esteroides adecuados incluyen β-sitosterol, estigmasterol, ergosterol, ergocalciferol y colesterol. En un aspecto de la divulgación, las composiciones de la invención comprenden colesterol como esteroide. Estos esteroides son bien conocidos en la técnica, por ejemplo el colesterol se desvela en el Índice de Merck, Ed. 11<sup>a</sup>, página 341, como un esteroide de origen natural que se encuentra en la grasa animal. Por consiguiente, un aspecto de la divulgación, las composiciones inmunogénicas que comprenden los polipéptidos gB del CMV comprenden QS21 en su composición menos reactogénica, en donde se inactiva con un esteroide exógeno, tal como, por ejemplo, colesterol. Existen varias formas particulares de composiciones menos reactogénicas en las que QS21 se inactiva con un colesterol exógeno. En un aspecto específico de la divulgación, la saponina/esteroide está en forma de una estructura de liposoma (documento WO 96/33739). Por lo tanto, por ejemplo, los polipéptidos gB del CMV de la invención pueden emplearse de forma adecuada en composiciones inmunogénicas con un adyuvante que comprende una combinación de QS21 y colesterol.

El término "liposoma (o liposomas)" en general se refiere a estructuras lipídicas uni- o multilamelares (en particular, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 lamelas dependiendo del número de membranas lipídicas formadas) que encierran un interior acuoso. Los liposomas y las formulaciones de liposomas son bien conocidos en la técnica. Los lípidos, que son capaces de formar liposomas, incluyen todas las sustancias que tienen propiedades grasas o similares a las grasas. Los lípidos que pueden constituir los lípidos en los liposomas se pueden seleccionar del grupo que comprende glicéridos, glicerofosfolípidos, glicerofosfinolípidos, glicerofosfonolípidos, sulfolípidos, esfingolípidos, fosfolípidos, isoprenólidos, esteroides, estearinas, esteroides, arqueolípidos, lípidos catiónicos sintéticos y lípidos que contienen hidratos de carbono. Adecuadamente, los liposomas pueden comprender un fosfolípido. Los fosfolípidos adecuados incluyen (pero sin limitación): fosfocolina (PC), que es un intermediario en la síntesis de fosfatidilcolina; derivados de fosfolípidos naturales: fosfocolina de huevo, fosfocolina de huevo, fosfocolina de soja, fosfocolina de soja hidrogenada, esfingomielina como fosfolípidos naturales y derivados de fosfolípidos sintéticos. fosfocolina (didecanoil-L-α-fosfatidilcolina [DDPC], dilauroilfosfatidilcolina [DLPC], dimiristoilfosfatidilcolina [DMPC], dipalmitoil fosfatidilcolina [DPPC], Distearoil fosfatidilcolina [DSPC], Dioleoil fosfatidilcolina [DOPC], 1-palmitoil, 2-oleoilfosfatidilcolina [POPC], Dielaidoil fosfatidilcolina [DEPC]), fosfoglicerol (1,2-Dimiristoil-sn-glicero-3-fosfoglicerol [DMPG], 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfoglicerol [DPPG], 1,2-distearoil-sn-glicero-3-fosfoglicerol [DSPG], 1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfoglicerol [POPG]), ácido fosfatídico (ácido 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfatídico [DMPA], ácido dipalmitoil fosfatídico [DPPA], ácido distearoil-fosfatídico [DSPA]), fosfoetanolamina (1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina [DMPE], 1,2-Dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina [DPPE], 1,2-distearoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina DSPE 1,2-Dioleoil-sn-Glicero-3-Fosfoetanolamina [DOPE]), fosfoserina, fosfolípido polietilenglicol [PEG] (mPEG-fosfolípido, poliglicerina-fosfolípido, fosfolípido funcionalizado, fosfolípido activado terminal). En un

aspecto de la divulgación, los liposomas comprenden 1-palmitoil-2-oleoil-glicero-3-fosfoetanolamina. En un aspecto de la divulgación, se usa fosfatidilcolina altamente purificada y se puede seleccionar del grupo que comprende fosfatidilcolina (huevo), fosfatidilcolina hidrogenada (huevo) fosfatidilcolina (soja) fosfatidilcolina hidrogenada (soja). En un aspecto adicional de la divulgación, los liposomas comprenden fosfatidiletanolamina [POPE] o un derivado de la misma. El tamaño del liposoma puede variar de 30 nm a varios  $\mu\text{m}$  dependiendo de la composición de fosfolípidos y del procedimiento usado para su preparación. En aspectos particulares de la divulgación, el tamaño del liposoma estará en el intervalo de 50 nm a 500 nm y en aspectos adicionales de 50 nm a 200 nm. La dispersión de luz láser dinámica es un procedimiento usado para medir el tamaño de los liposomas bien conocido para los expertos en la materia. Los liposomas de la divulgación pueden comprender dioleoil fosfatidilcolina [DOPC] y un esteroil, en particular colesterol. Por lo tanto, en un aspecto particular, las composiciones inmunogénicas que comprenden los polipéptidos gB del CMV de la invención, tales como los polipéptidos gB que tienen un dominio transmembrana no funcional y al menos uno de los bucles de fusión FL1 y FL2 mutados, posiblemente ambos, comprenden QS21 en cualquier cantidad descrita en el presente documento en forma de un liposoma, en el que dicho liposoma comprende dioleoil fosfatidilcolina [DOPC] y un esteroil, en particular colesterol.

Las composiciones inmunogénicas de la invención pueden comprender uno o más inmunoestimulantes adicionales. En un aspecto de la divulgación, las composiciones inmunogénicas que comprenden los polipéptidos gB del CMV de la invención, tal como se describen en el presente documento, comprenden adicionalmente un lipopolisacárido, adecuadamente un derivado no tóxico de lípido A, de forma particular monofosforil lípido A o, de forma más particular, monofosforil lípido A 3-desacilado (3D - MPL). GlaxoSmithKline Biologicals N.A comercializa 3D-MPL con el nombre MPL y en toda la memoria descriptiva se lo denomina MPL o 3D-MPL. Véase, por ejemplo, las patentes de Estados Unidos n° 4.436.727; 4.877.611; 4.866.034 y 4.912.094. 3D-MPL estimula principalmente las respuestas de linfocitos T CD4+ con un fenotipo de IFN- $\gamma$  (Th1). 3D-MPL se puede producir de acuerdo con los procedimientos desvelados en el documento GB2220211 A. Químicamente es una mezcla de monofosforil lípido A 2-desacilado con cadenas 3, 4, 5 o 6 aciladas. En las composiciones de la presente divulgación se puede usar 3D-MPL de partícula pequeña. 3D-MPL de partícula pequeña tiene un tamaño de partícula de manera que se puede esterilizar por filtración a través de un filtro de 0,22  $\mu\text{m}$ . Dichas preparaciones se describen en el documento WO94/21292.

Las composiciones de la divulgación pueden comprender 3D-MPL en una cantidad de entre aproximadamente 1  $\mu\text{g}$  a aproximadamente 100  $\mu\text{g}$ , por ejemplo entre aproximadamente 1  $\mu\text{g}$  y aproximadamente 60  $\mu\text{g}$  o entre 10  $\mu\text{g}$  y aproximadamente 50  $\mu\text{g}$ , por ejemplo, aproximadamente 10  $\mu\text{g}$ , aproximadamente 12,5  $\mu\text{g}$ , aproximadamente 15  $\mu\text{g}$ , aproximadamente 20  $\mu\text{g}$ , aproximadamente 25  $\mu\text{g}$ , aproximadamente 30  $\mu\text{g}$ , aproximadamente 40  $\mu\text{g}$  o, en particular, aproximadamente 50  $\mu\text{g}$ . En particular 3D-MPL está presente en una cantidad de entre aproximadamente 40  $\mu\text{g}$  y 60  $\mu\text{g}$  o entre 45 y 55  $\mu\text{g}$ , o entre 47 y 53  $\mu\text{g}$ , o entre 48 y 52  $\mu\text{g}$ , o entre 49 y 51 o aproximadamente 50  $\mu\text{g}$ . Como alternativa, 3D-MPL está presente en una cantidad de entre 21  $\mu\text{g}$  y 29  $\mu\text{g}$ , o entre aproximadamente 22  $\mu\text{g}$  y aproximadamente 28  $\mu\text{g}$ , o entre aproximadamente 23  $\mu\text{g}$  y aproximadamente 27  $\mu\text{g}$ , o entre 24  $\mu\text{g}$  y aproximadamente 26  $\mu\text{g}$ , o aproximadamente 25  $\mu\text{g}$ .

En otro aspecto de la divulgación, la dosis para seres humanos de la composición inmunogénica comprende 3D-MPL a un nivel de aproximadamente 10  $\mu\text{g}$ , por ejemplo entre 5 y 15  $\mu\text{g}$ , adecuadamente entre 6 y 14  $\mu\text{g}$ , por ejemplo entre 7 y 13  $\mu\text{g}$ , o entre 8 y 12  $\mu\text{g}$ , o entre 9 y 11  $\mu\text{g}$ , o 10  $\mu\text{g}$ . En una realización adicional de la divulgación, la dosis para seres humanos de la composición inmunogénica comprende 3D-MPL a un nivel de aproximadamente 5  $\mu\text{g}$ , por ejemplo entre 1 y 9  $\mu\text{g}$ , o entre 2 y 8  $\mu\text{g}$ , o, adecuadamente, entre 3 y 7  $\mu\text{g}$  o 4 y 6  $\mu\text{g}$ , o 5  $\mu\text{g}$ . Una cantidad adecuada de 3D-MPL en las composiciones de la invención es, por ejemplo, cualquiera de 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 o 50  $\mu\text{g}$ . En otros aspectos de la divulgación, el lipopolisacárido puede ser un disacárido  $\beta$ (1-6) glucosamina, como se describe en la patente de Estados Unidos n° 6.005.099 y la patente EP n° 0 729 473 B1. Un experto en la materia sería capaz de producir fácilmente diversos lipopolisacáridos, tales como 3D-MPL, a base de las enseñanzas de estas referencias. Además de los inmunoestimulantes mencionados anteriormente (que son similares de estructura a la de LPS o MPL, o 3D-MPL), también son adyuvantes adecuados los derivados monosacáridos y disacáridos acilados que son una subporción de la estructura anterior de MPL. En otros aspectos de la divulgación, el adyuvante es un derivado sintético del lípido A, algunos de los cuales se describe como agonistas de TLR-4 e incluyen, pero sin limitación:

OM174 (2-desoxi-6-o-[2-desoxi-2-[(R)-3-dodecanoiloxitetradecanoilamino]-4-o-fosfono-D-glucopiranosil]-2-[(R)-3-hidroxitetradecanoilamino]-D-glucopiranosildihidrogenofosfato), (documento WO 95/14026)

OM 294 DP (3S, 9 R) -3-[(R)-dodecanoiloxitetradecanoilamino]-4-oxo-5-aza-9(R)-[(R)-3-hidroxitetradecanoilamino]decan-1,10-diol,1,10-bis(dihidrogenofosfato) (documentos WO 99/64301 y WO 00/0462)

OM 197 MP-Ac DP (3S-, 9 R) -3-D-(R)-dodecanoiloxitetradecanoilamino]-4-oxo-5-aza-9-[(R)-3-hidroxitetradecanoilamino]decan-1,10-diol,1-dihidrogenofosfato 10-(6-aminohexanoato) (documento WO 46127)

En las composiciones con polipéptidos gB del CMV también se pueden usar combinaciones de distintos adyuvantes, tales como los mencionados anteriormente en el presente documento. Por ejemplo, como ya se ha indicado, QS21 se puede formular junto con 3D-MPL. La proporción QS21 : 3D-MPL normalmente será del orden de 1 : 10 a 10 : 1; tal como de 1:5 a 5 : 1, y a menudo sustancialmente 1 : 1. Normalmente, la proporción está en el intervalo de 2,5 : 1 a 1 : 1 de 3D-MPL: QS21. Por consiguiente, en algunos aspectos de la divulgación, las composiciones

inmunogénicas que comprenden los polipéptidos gB del CMV de la invención pueden comprender al menos QS21 y 3D-MPL.

Las composiciones inmunogénicas que comprenden los polipéptidos gB del CMV de la invención pueden también formularse adecuadamente con una emulsión de aceite en agua. La emulsión de aceite en agua comprende un aceite metabolizable (es decir, biodegradable). El aceite puede ser cualquier aceite vegetal, aceite de pescado, aceite animal o aceite sintético, que no sea tóxico para el destinatario y sea capaz de ser transformado mediante metabolismo. Las nueces, semillas y granos son fuentes habituales de aceites vegetales. Los aceites sintéticos también son adecuados. Por consiguiente, las emulsiones de aceite en agua usadas en combinación con los polipéptidos gB del CMV de la invención pueden comprender un aceite metabolizable. En un aspecto de la divulgación, las emulsiones de aceite en agua comprenden escualeno (por ejemplo, entre aproximadamente el 4 % y el 6 % [v/v]). La emulsión de aceite en agua puede comprender adicionalmente un tensioactivo. Las emulsiones de aceite en agua de la divulgación comprenden uno o más tensioactivos. Los tensioactivos adecuados son bien conocidos para el experto en incluyen, pero sin limitación, monooleato de polioxietileno sorbitán (Tween 80, Polisorbato 80), trioleato de sorbitán (Span 85), fosfatidilcolina (lecitina), éster cetosteárilico de polioxietileno (12) y octoxinol-9 (Triton X-100). En un aspecto particular de la divulgación, las emulsiones de aceite en agua comprenden monooleato de polioxietileno sorbitán (Tween 80, Polisorbato 80). En un aspecto adicional, las emulsiones de aceite en agua de la divulgación comprenden monooleato de polioxietileno sorbitán (Tween 80) y un tensioactivo adicional, en particular trioleato de sorbitán (Span 85). Las emulsiones de aceite en agua de la divulgación pueden también comprender un tocol. En la técnica se conocen bien los tocoles y se describen en el documento EP0382271. En particular, el tocol es  $\alpha$ -tocoferol o un derivado del mismo, tal como succinato de alfa-tocoferol (también conocido como succinato de vitamina E). En un aspecto particular de la divulgación se proporcionan composiciones inmunogénicas que comprenden polipéptidos gB del CMV de la invención en combinación con una emulsión de aceite en agua que comprende escualeno (por ejemplo, aproximadamente el 5 % [v/v]) y  $\alpha$ -tocoferol (por ejemplo, aproximadamente el 5 % [v/v]). En un aspecto particular de la divulgación, la emulsión de aceite en agua comprende un aceite metabolizable (por ejemplo, escualeno), un tocol (por ejemplo,  $\alpha$ -tocoferol) y un tensioactivo (por ejemplo, monooleato de polioxietileno sorbitán [Polisorbato 80]). En un aspecto adicional, las emulsiones de aceite en agua de la divulgación comprenden un aceite metabolizable (por ejemplo, escualeno), un tensioactivo (por ejemplo, monooleato de polioxietileno sorbitán [Polisorbato 80]) y de forma opcional un segundo tensioactivo (por ejemplo, trioleato de sorbitán [Span 85]). En un aspecto adicional, las emulsiones de aceite en agua de la divulgación comprenden un aceite metabolizable (por ejemplo, escualeno), un tensioactivo no iónico hidrófilo éter alquílico de polioxietileno (por ejemplo, éster cetosteárilico de polioxietileno (12)) y un tensioactivo no iónico hidrófobo (por ejemplo, monooleato de polioxietileno sorbitán [Polisorbato 80]) o trioleato de sorbitán [Span 85]). En algunos aspectos de la divulgación, las composiciones inmunogénicas que comprenden los polipéptidos gB del CMV de la invención, tales como los polipéptidos gB que tienen un dominio transmembrana no funcional y al menos uno de los bucles de fusión FL1 y FL2 mutados, posiblemente ambos, comprenden una emulsión de aceite en agua que comprende escualeno, alfa-tocoferol y polisorbato 80.

Adecuadamente, el aceite en agua comprende 11 mg de aceite metabolizable (tal como escualeno) o menos, por ejemplo entre 0,5-11 mg, 0,5-10 mg o 0,5-9 mg, 1-10 mg, 1-11 mg, 2-10 mg, 4-8 mg o 4,5-5,5 mg, y 5 mg de agente emulsionante (tal como monooleato de polioxietileno sorbitán) o menos, por ejemplo entre 0,1-5 mg, 0,2-5 mg, 0,3-5 mg, 0,4-5 mg, 0,5-4 mg, 1-2 mg o 2-3 mg por dosis de la vacuna. Adecuadamente, el tocol (por ejemplo, alfa-tocoferol), cuando está presente, es de 12 mg o menos, por ejemplo entre 0,5-12 mg, 10-11 mg, 1-11 mg, 2-10 mg, 4-9 mg o 5-7 mg por dosis de vacuna humana.

Por la expresión "dosis de vacuna humana" se entiende una dosis que está en un volumen adecuado para su uso en el ser humano. En general, esta está entre 0,25 y 1,5 ml. En un aspecto de la divulgación, una dosis para ser humano es de 0,5 ml. En una realización adicional, una dosis para ser humano es superior a 0,5 ml, por ejemplo 0,6, 0,7, 0,8, 0,9 o 1 ml. En un aspecto adicional más, una dosis para ser humano está entre 1 ml y 1,5 ml. En un aspecto adicional más, en particular, cuando la composición inmunogénica es para la población pediátrica, una dosis para ser humano puede ser inferior a 0,5 ml, tal como entre 0,25 y 0,5 ml.

Normalmente, una composición inmunogénica contiene una cantidad inmunoprotectora (o una dosis fraccionada de la misma) del antígeno y se puede preparar mediante técnicas convencionales. La preparación de composiciones inmunogénicas, tales como vacunas, incluidas aquéllas para administración a sujetos humanos, se describe en general en *Pharmaceutical Biotechnology*, Vol.61 Vaccine Design-the subunit and adjuvant approach, editado por Powell and Newman, Plenum Press, 1995. *New Trends and Developments in Vaccines*, editado por Voller y col., University Park Press, Baltimore, Maryland, EE.UU. 1978. Por ejemplo, Fullerton describe en la patente de Estados Unidos 4.235.877 la encapsulación en liposomas. Por ejemplo, Likhite desvela la conjugación de proteínas con macromoléculas en la patente de Estados Unidos 4.372.945 y en la patente de Estados Unidos 4.474.757 de Armor y col. Normalmente, la cantidad de proteína en cada dosis de la composición inmunogénica se selecciona como una cantidad que induce una respuesta inmunoprotectora sin efectos secundarios adversos significativos en el sujeto típico. Inmunoprotectora en este contexto no necesariamente significa completamente protectora frente a la infección; significa protección frente a los síntomas o la enfermedad, en especial la enfermedad grave asociada con el virus. La cantidad de antígeno puede variar dependiendo de qué inmunógeno específico se emplea. En general, se espera que cada dosis para ser humano comprenderá 1-1000  $\mu$ g de proteína, tal como de aproximadamente 1  $\mu$ g a aproximadamente 100  $\mu$ g, por ejemplo de aproximadamente 1  $\mu$ g a aproximadamente 50  $\mu$ g, tal como

aproximadamente 1 µg, aproximadamente 2 µg, aproximadamente 5 µg, aproximadamente 10 µg, aproximadamente 15 µg, aproximadamente 20 µg, aproximadamente 25 µg, aproximadamente 30 µg, aproximadamente 40 µg o aproximadamente 50 µg. La cantidad usada en una composición inmunogénica se selecciona a base de la población de sujetos (por ejemplo, lactantes o ancianos). Una cantidad óptima para una composición particular puede determinarse mediante estudios convencionales que implican la observación de títulos de anticuerpos y de otras respuestas en los sujetos. Después de una vacunación inicial, los sujetos pueden recibir un refuerzo en aproximadamente 4 semanas.

A menos que se explique otra cosa, todos los términos científicos y técnicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que le dan los expertos en la materia a la que concierne esta divulgación. Las definiciones de los términos comunes en biología molecular se pueden encontrar en Benjamin Lewin, *Genes V*, publicado por Oxford University Press, 1994 (ISBN 0-19-854287-9); Kendrew y col. (eds), *The Encyclopedia of Molecular Biology*, publicado por Blackwell Science Ltd; 1994 (ISBN 0-632-02182-9); y Robert A. Meyers (ed.), *Molecular Biology and Biotechnology: a Comprehensive Desk Reference*, publicado por VCH Publishers, Inc., 1995 (ISBN 1-56081-569-8).

Los términos en singular "un", "uno" y "el/la" incluyen referentes en plural, a menos que el contexto indique claramente otra cosa. Adicionalmente, debe entenderse que todos los tamaños en bases o los tamaños en aminoácidos, y todos los valores de peso molecular o de masa molecular, proporcionados para ácidos nucleicos o polipéptidos, son aproximados y se proporcionan para descripción. El término "pluralidad" se refiere a dos o más. Adicionalmente, debe entenderse que todos los tamaños en bases o los tamaños en aminoácidos, y todos los valores de peso molecular o de masa molecular, proporcionados para ácidos nucleicos o polipéptidos, son aproximados y se proporcionan para descripción. De forma adicional, las limitaciones numéricas proporcionadas con respecto a las concentraciones o niveles de una sustancia, tal como un antígeno, se pretende que sean aproximadas. Por lo tanto, cuando se indica que una concentración es al menos (por ejemplo) de 200 pg, se pretende que se entienda que la concentración es al menos de aproximadamente (o "alrededor de" o "~") 200 pg.

Aunque se pueden usar materiales y procedimientos similares o equivalentes a los descritos en el presente documento en la práctica o las pruebas de la presente divulgación, se describen a continuación materiales y procedimientos adecuados. El término "comprende" significa "incluye". Por lo tanto, a menos que el contexto requiera otra cosa, se entenderá que la palabra "comprende" y variaciones tales como "comprenden" o "que comprende", implican la inclusión de un compuesto o composición indicado (por ejemplo, ácido nucleico, polipéptido, antígeno), o etapa, o grupo de compuestos o etapas, pero no la exclusión de cualquier otro compuesto, composición, etapas o grupo de los mismos. La abreviatura, "e. g." proviene del latín *exempli gratia* y se usa en el presente documento para indicar un ejemplo no limitativo. Por lo tanto, la abreviatura, "e. g." es sinónimo de la expresión "por ejemplo".

En la presente divulgación se describen los siguientes aspectos:

a) Un polipéptido gB del citomegalovirus (CMV) que comprende en una orientación N-terminal a C-terminal: al menos una porción de un dominio extracelular que comprende un dominio de bucle de fusión 1 (FL1) y un dominio de bucle de fusión 2 (FL2), de forma opcional al menos una porción de un dominio transmembrana (TM) y al menos una porción de un dominio citoplasmático, en el que al menos un aminoácido del dominio FL1 está sustituido o suprimido, y en el que el dominio TM o porción del mismo, si está presente, no es funcional.

b) El polipéptido gB del CMV del aspecto a), en el que el dominio TM se hace no funcional suprimiendo los aminoácidos en la posición 701-775 respecto a la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 1, o en una posición correspondiente en otros polipéptidos gB del CMV.

c) El polipéptido gB del CMV del aspecto a o b), que comprende adicionalmente al menos una sustitución, o delección, de aminoácidos en el dominio de bucle de fusión FL2.

d) El polipéptido gB del CMV de cualquiera de los aspectos a) a c), que comprende adicionalmente al menos la delección de una región de aminoácidos hidrófobos en el dominio citoplasmático del polipéptido.

e) El polipéptido gB del CMV de uno cualquiera de los aspectos a) a d), en el que la sustitución de aminoácidos en el dominio de bucle de fusión FL1 consiste en la sustitución de al menos un aminoácido entre Y.I.Y emplazados en la posición 155-157 respecto a la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 1, o en una posición correspondiente en otros polipéptidos gB del CMV, por un aminoácido polar que no es uno aromático.

f) El polipéptido gB del CMV del aspecto e), en el que la sustitución consiste en la sustitución de al menos dos aminoácidos entre Y.I.Y, emplazados en la posición 155-157 respecto a la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 1, o en una posición correspondiente en otros polipéptidos gB del CMV, por un aminoácido polar que no es uno aromático.

g) El polipéptido gB del CMV del aspecto e) o f), en el que el aminoácido polar se selecciona del grupo de aminoácidos con carga positiva que consiste en lisina (K), histidina (H) y arginina (R).

h) El polipéptido gB del CMV del aspecto g), en el que la isoleucina (I) emplazada en la posición 156 respecto a la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 1, o en una posición correspondiente en otros polipéptidos gB del CMV, se sustituye por una histidina (H).

i) El polipéptido gB del CMV del aspecto g) o la reivindicación h), en el que la tirosina (Y) emplazada en la posición 157 respecto a la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 1, o en una posición correspondiente en otros polipéptidos gB del CMV, está sustituida por una arginina (R).

j) El polipéptido gB del CMV de cualquiera de los aspectos e) a i), en el que la tirosina (Y) emplazada en la

posición 155 respecto a la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 1, o en una posición correspondiente en otros polipéptidos gB del CMV, está sustituida por una glicina (G).

k) El polipéptido gB del CMV de cualquiera de los aspectos a) a d), en el que los aminoácidos Y.I.Y emplazados en la posición 155-157 en el dominio del bucle de fusión FL1, respecto a la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 1, o en una posición correspondiente en otros polipéptidos gB del CMV, están sustituidos por los aminoácidos G.H.R, respectivamente.

l) El polipéptido gB del CMV de cualquiera de los aspectos a) a d), en el que el tramo de aminoácidos Y.I.Y emplazado en la posición 155-157 en el dominio del bucle de fusión FL1 respecto a la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 1, o en una posición correspondiente en otros polipéptidos gB del CMV, que tienen una puntuación de hidrofobicidad de + 1,9 medida mediante la escala de Kyte y Doolittle, está sustituida por un tramo de tres aminoácidos que tienen una puntuación de hidrofobicidad inferior a -3, inferior a -7, inferior a -8, medida mediante la escala de Kyte y Doolittle.

m) El polipéptido gB del CMV de cualquiera de los aspectos c) a l), en el que la sustitución de aminoácido en el dominio del bucle de fusión FL2 consiste en la sustitución de al menos un aminoácido entre W.L.Y, emplazados en la posición 240-242 respecto a la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 1, o en una posición correspondiente en otros polipéptidos gB del CMV, por un aminoácido con carga positiva seleccionado del grupo que consiste en lisina (K), histidina (H) y arginina (R).

n) El polipéptido gB del CMV del aspecto m), en el que el aminoácido entre W.L.Y emplazados en la posición 240-242 respecto a la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 1, o en una posición correspondiente en otros polipéptidos gB del CMV, está sustituido por una histidina (H).

o) El polipéptido gB del CMV del aspecto m) o n), en el que al menos la tirosina (Y) emplazada en la posición 242 respecto a la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 1, o en una posición correspondiente en otros polipéptidos gB del CMV, está sustituida por una histidina (H).

p) El polipéptido gB del CMV de uno cualquiera de los aspectos c) a n), en el que los aminoácidos W.L.Y emplazados en la posición 240-242 en el dominio del bucle de fusión FL2 respecto a la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 1, o en una posición correspondiente en otros polipéptidos gB del CMV, están sustituidos por los aminoácidos A.F.H, respectivamente.

q) El polipéptido gB del CMV de uno cualquiera de los aspectos d) a p), en el que la delección en el dominio citoplasmático corresponde a la región de los aminoácidos 825 a 877 respecto a la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 1.

r) El polipéptido gB del CMV de uno cualquiera de los aspectos a) a q), en el que dicho polipéptido está mutado en un sitio endoproteolítico.

s) El polipéptido gB del CMV del aspecto r), en el que se realiza al menos una de las sustituciones de aminoácido que se selecciona del grupo que consiste en: R<sup>456</sup> sustituido por T<sup>456</sup>, R<sup>458</sup> sustituido por Q<sup>458</sup> y R<sup>459</sup> sustituido por T<sup>459</sup>, respecto a la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 1, o en una posición correspondiente en otros polipéptidos gB del CMV.

t) El polipéptido gB del CMV del aspecto s), en el que R<sup>456</sup>, R<sup>458</sup> y R<sup>459</sup> respecto a la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 1, o en una posición correspondiente en otros polipéptidos gB del CMV, están sustituidos por T<sup>456</sup>, Q<sup>458</sup>, y T<sup>459</sup>, respectivamente,

u) El polipéptido gB del CMV de cualquiera de los aspectos a) a t), en el que la arginina (R<sup>357</sup>) respecto a la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 1 está sustituida por una serina (S<sup>357</sup>).

v) El polipéptido gB del CMV de cualquiera de los aspectos a) a u), en el que la arginina (R<sup>50</sup>) respecto a la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 1 está sustituida por una serina (S<sup>50</sup>).

w) El polipéptido gB del CMV de cualquiera de los aspectos a) a v), en el que la cisteína (C<sup>778</sup>) respecto a la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 1 está sustituida por una alanina (A<sup>778</sup>).

x) El polipéptido del CMV de la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 3.

y) El polipéptido del CMV de la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 4.

z) El polipéptido del CMV de la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 5.

aa) Una preparación que comprende un polipéptido gB del CMV, en la que más del 50 % de dicho polipéptido está en forma trimérica, medido mediante UCA (ultracentrifugación analítica).

bb) Una composición inmunogénica que comprende el polipéptido gB del CMV de uno cualquiera de los aspectos a) a z), mezclado con un vehículo farmacéutico adecuado.

cc) La composición inmunogénica del aspecto bb) que comprende adicionalmente un adyuvante.

dd) Un polinucleótido que codifica el polipéptido gB del CMV de uno cualquiera de los aspectos a)-z).

ee) Un vector recombinante que comprende el polinucleótido del aspecto dd).

ff) Una célula hospedadora transformada con el vector recombinante del aspecto ee).

gg) El polipéptido gB del CMV de cualquiera de los aspectos a) a z) para su uso en la prevención y/o el tratamiento de una infección por CMV.

hh) Uso del polipéptido gB del CMV de uno cualquiera de los aspectos a) a z) en la preparación de un medicamento para la prevención y/o tratamiento de una infección por CMV.

ii) Un procedimiento para producir una respuesta inmunitaria frente al CMV, que comprende la etapa de administrar a un sujeto una cantidad inmunológicamente eficaz de una composición que comprende el polipéptido gB del CMV de cualquiera de los aspectos a) a z).

La invención se describirá adicionalmente con referencia a los siguientes ejemplos no limitativos.

**Ejemplo 1: Polipéptidos gB del CMV**

Todas las variantes del polipéptido gB (véanse la Figura 1 y la Figura 2 para una representación esquemática) designadas más adelante proceden de la secuencia de aminoácidos de gB de la cepa AD169 de CMV. Por consiguiente, la numeración de los aminoácidos cuando se especifica la posición de las mutaciones es respecto a la secuencia de gB del CMV AD169 expuesta en SEQ ID NO: 1. Asimismo, además de las mutaciones específicas que contiene cada una, como se describe más adelante, todas las construcciones siguientes tienen (i) el dominio transmembrana suprimido (deleción de los aminoácidos 701 a 775) y (ii) todas comprenden las siguientes mutaciones puntuales: los aminoácidos R<sup>50</sup> y R<sup>357</sup> sustituidos por el aminoácido S.

Aunque las siguientes variantes comprendían una marca de histidina en el extremo C-terminal del polipéptido para la transfección transitoria, la secuencia de dicha marca no está incluida en la SEQ ID desvelada.

**1.1 gB-SLP12**

La variante gB-SLP12 comprende 2 series de mutaciones puntuales dirigidas a los supuestos bucles de fusión de gB, FL1 y FL2, respectivamente. FL1 se mutó sustituyendo los aminoácidos <sup>155</sup>Y.I.Y<sup>157</sup> por los aminoácidos <sup>155</sup>G.H.R<sup>157</sup>, mientras que FL2 se mutó sustituyendo los aminoácidos <sup>240</sup>W.L.Y<sup>242</sup> por los aminoácidos <sup>240</sup>A.F.H<sup>242</sup>. Esta construcción codifica una proteína de 830 aminoácidos de longitud. La secuencia de aminoácidos completa de gB-SLP12 se proporciona en SEQ ID NO: 3.

**1.1.1 Construcción del vector de expresión pMax-AD169-gB-SLP12**

GeneArt company sintetizó la secuencia del gen gB-SLP12 (SEQ ID NO: 6). Se optimizaron los codones de la secuencia codificante para la expresión en células CHO. Se introdujeron los sitios de restricción *HindIII* y *BamHI* en el extremo 5' (delante del codón de iniciación) y el extremo 3' (justo después del codón de terminación), respectivamente. La secuencia génica con codones optimizados porta mutaciones tanto en el primer supuesto bucle de fusión (<sup>155</sup>Y.I.Y<sup>157</sup> reemplazados por <sup>155</sup>G.H.R<sup>157</sup>) y el segundo supuesto bucle de fusión (<sup>240</sup>W.L.Y<sup>242</sup> sustituidos por <sup>240</sup>A.F.H<sup>242</sup>). El fragmento de ADN sintético se recibió como un inserto de ADN de 2558 pb de longitud clonado en el vector pMA (plásmido patentado por GeneArt) usando los sitios de clonación *KpnI* y *SacI*, generando el plásmido AD169-gB-SLP12-pMA. El plásmido AD169-gB-SLP12-pMA se sometió a digestión con las enzimas *HindIII* y *BamHI*. El fragmento de ADN de 2530 pb que contenía el gen gB-SLP12 se purificó en gel y se ligó en el vector de expresión de mamífero pMax, una versión modificada del vector pMaxCloning de Amara. La estructura del vector pMaxCloning se ha modificado para eliminar un codón de iniciación ATG presente en el sitio de clonación múltiple del vector comercial de Amara (entre *KpnI* y *HindIII*). Después de la verificación de la secuencia mediante secuenciación automatizada de ADN, se usó el plásmido recombinante pMax-AD169-gB-SLP12 para transfectar de forma transitoria células CHO-S.

**1.2 gB-SLP12-Del2**

La deleción de una región hidrófoba que abarca los aminoácidos Pro<sup>825</sup> a Lys<sup>877</sup> se introdujo en la variante gB-SLP12, generando la variante gB-SLP12-Del2. Esta construcción codifica una proteína de 777 aminoácidos de longitud. La secuencia de aminoácidos completa de la variante gB-SLP12-Del2 se proporciona en SEQ ID NO: 4. La secuencia de nucleótidos que codifica gB-SLP12-Del2 se proporciona en la SEQ ID NO: 8.

**1.2.1 Construcción del vector de expresión pMax-AD169-gB-SLP12-Del2**

Se amplificó un fragmento de ADN de 2159 pb que abarca los sitios de restricción únicos *HindIII* y *Clal* presentes en la secuencia codificante AD169-gB-SLP12, mediante PCR usando el plásmido AD169-gB-SLP12-pMA como molde y los cebadores SLP-Fw (SEQ ID NO: 22) (5'-GAAAGCGGGCAGTGAGCGGAAGGC-3') y SLP-Rv (SEQ ID NO: 23) (5'-TGTCCTCCACGTACTTCACGCGCTGC-3'). La parte C-terminal del gen AD169-gB-SLP12-Del2 también se amplificó mediante PCR como un fragmento de 745 pb que abarca los sitios de restricción *Clal* y *SacI*, usando el vector Del2-pMA como molde y los cebadores Del-Fw (SEQ ID NO: 24) (5'-CCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCA-3') y Del-Rv (SEQ ID NO: 25) (5'-CCAGCTGGCGAAAGGGGGATGTGC-3'). GeneArt company construyó el vector Del2-pMA que porta un fragmento de ADN sintético que codifica la parte C-terminal del gen gB-SLP12-Del2. Tras la digestión con las enzimas de restricción adecuadas, los fragmentos de PCR se clonaron en el vector pMax sometido a digestión con las enzimas de restricción *HindIII* y *SacI*. Después de la verificación de la secuencia mediante secuenciación automatizada de ADN, se usó el plásmido recombinante pMax-AD169-gB-SLP12 para transfectar de forma transitoria células CHO-S.

**1.3 gB-SLP1-Del2**

La deleción de una región hidrófoba que abarca los aminoácidos Pro<sup>825</sup> a Lys<sup>877</sup> se introdujo en la variante gB-SLP1, generando la variante gB-SLP1-Del2. Esta variante codifica una proteína de 777 aminoácidos de longitud. La secuencia de aminoácidos completa de la variante gB-SLP1-Del2 se proporciona en SEQ ID NO: 5.

### 1.3.1 Construcción del vector de expresión pMax-AD169-gB-SLP1-Del2

El gen gB-SLP1 fue sintetizado por primera vez por GeneArt. La secuencia génica con codones optimizados porta mutaciones en el primer supuesto bucle de fusión (<sup>155</sup>Y.I.Y<sup>157</sup> reemplazados por <sup>155</sup>G.H.R<sup>157</sup>). Este gen sintético se recibió como un fragmento de ADN de 2558 pb clonado en el vector pMA usando los sitios de clonación *KpnI* y *SacI*, generando el plásmido AD169-gB-SLP1-pMA. El vector de expresión pMax-AD169-gB-SLP1-Del2 se construyó a partir de AD169-gB-SLP1-pMA y el vector plasmídico Del2-pMA. El vector pMA-gB-SLP1 se sometió a digestión con las enzimas de restricción *HindIII* y *Clal*, y el fragmento de ADN de 1964 pb que codifica la parte N-terminal de la proteína SLP1-Del-2 se aisló mediante purificación en gel. El vector plasmídico Del2-pMA se sometió a digestión con las enzimas de restricción *Clal* y *SacI*, y el fragmento de ADN de 420 pb que codifica la parte C-terminal de la proteína gB-SLP1-Del2 se aisló mediante purificación en gel. Estos dos fragmentos se ligaron en el vector de expresión pMax sometido a digestión con las enzimas de restricción *HindIII* y *SacI*, generando el vector de expresión final pMax-AD169-gB-SLP1-Del2. Después de la verificación de la secuencia mediante secuenciación automatizada de ADN, se usó el plásmido recombinante pMax-AD169-gB-SLP1-Del2 para transfectar de forma transitoria células CHO-S. La secuencia de nucleótidos que codifica gB-SLP1-Del2 se muestra en SEQ ID NO: 7.

### 1.4 gB-SLP12-Delta113

Se realizó en la variante gB-SLP12-Delta113 la delección de la parte C-terminal del dominio citoplasmático, comenzando en el aminoácido 793, así como la delección de los aminoácidos 701-775 del dominio transmembrana. Esta variante codifica una proteína de 717 aminoácidos de longitud. La secuencia de aminoácidos completa de gB-SLP12-Delta113 se proporciona en SEQ ID NO: 12.

#### 1.4.1 Construcción del vector pTT5-gB-SLP12-Delta113

La estrategia usada para construir el vector de expresión pTT5-gB-SLP12-Delta113 es la siguiente. En primer lugar, el vector pMax-AD169-gB-SLP12 (véase la sección 1.1.1) se sometió a digestión con las enzimas de restricción *HindIII* y *Clal*. El fragmento de gB de 1970 pb resultante, que corresponde a la parte N-terminal de la construcción gB-SLP12-Delta113 se aisló mediante purificación en gel. Geneart sintetizó el extremo C-terminal de la construcción gB-SLP12-Delta113 que abarca los sitios *Clal* y *BamHI* (justo después del codón de terminación) y se recibió como un inserto de ADN de 230 pb de longitud (denominado new-2) clonado en el vector pMA (plásmido patentado por Geneart). El vector New-2-pMA se sometió a digestión con las enzimas de restricción *Clal* y *BamHI*, y el inserto de 230 pb se purificó en gel. Los dos fragmentos de ADN purificados en gel se ligaron en el vector de expresión pMax sometido previamente a digestión con las enzimas de restricción *HindIII* y *BamHI*, generando el plásmido pMax-AD169-gB-SLP12-Delta113. Después, las serinas en las posiciones 50 y 357 de la construcción AD169-gB-SLP12-Delta113 se reversionaron a la arginina nativa, usando el kit "QuickChange Multi Site-Directed Mutagenesis" de Stratagene (N.º 200513). El plásmido resultante, después de la verificación de la secuencia, se sometió a digestión con las enzimas de restricción *HindIII* y *BamHI*. El fragmento de gB de 2200 pb se purificó en gel y se ligó en el vector pTT5 (NRC, Canadá) sometido previamente a digestión con las enzimas de restricción *HindIII* y *BamHI*, generando el vector de expresión final pTT5-gB-SLP12-Delta113. Este vector se usó para transfectar de forma transitoria células CHO-S. La secuencia de nucleótidos que codifica gB-SLP12-Delta113 se muestra en SEQ ID NO: 11.

### 1.5 gB-SLP12-Delta725

Se realizó en gB-SLP12-Delta725 la delección de parte del dominio transmembrana, comenzando en el aminoácido 725, y del dominio citoplasmático completo. Esta variante codifica una proteína de 724 aminoácidos de longitud. La secuencia de aminoácidos completa de la variante gB-SLP12-Delta725 se proporciona en SEQ ID NO: 10.

#### 1.5.1 Construcción del vector de expresión pTT5-gB-SLP12-Delta725

En primer lugar, las serinas en las posiciones 50 y 357 de la construcción gB-SLP12-Del2 (véase la sección 1.2) se reversionaron a la arginina nativa, usando el kit "QuickChange Multi Site-Directed Mutagenesis" de Stratagene (N.º 200513). El plásmido resultante, después de la comprobación de la secuencia, se sometió a digestión con las enzimas de restricción *HindIII* y *Clal* y el fragmento de gB de 1970 pb se aisló mediante purificación en gel. También se generó un fragmento de PCR que abarca los sitios de restricción *Clal* y *BamHI* (SEQ ID NO: 26) y que comprende la siguiente secuencia:

ATCGATCCCCTGGAGAACACCGACTTCAGGGTGCTGGAGCTGTACTCCCAGAAGGAACTGAGGTCCAGCAACG  
TGTTTCGACCTGGAGGAAATCATGAGAGAGTTCAACAGCTACAAGCAGCGCGTGAAGTACGTGGAGGACAAGGT  
GGTGGACCCCCTGC CCCCCTACCT GAAGGGCCTGGACGACCTGA  
TGACGCGACTCGGGGCTGCTGGAAAGGCCTGAGGATCC. El fragmento digerido con *HindIII*-*Clal* de 1970 pb y el ADN de PCR digerido con las enzimas de restricción *Clal* y *BamHI* se ligaron en el vector pTT5 (NRC, Canadá) entre los sitios de clonación *HindIII* y *BamHI*, para generar el vector de expresión final pTT5-gB-SLP12-Delta725. Después de la comprobación de la secuencia mediante secuenciación automatizada de ADN, se usó el plásmido recombinante pTT5-gB-SLP12-Delta725 para transfectar de forma transitoria células CHO-S. La secuencia de nucleótidos que codifica gB-SLP12-Del2 se muestra en SEQ ID NO: 9.

### 1.6 gB-SLP12-Delta725-LVL759

Esta variante codifica una proteína de 683 aminoácidos de longitud. La secuencia de aminoácidos completa de gB-SLP12-Delta725-LVL759 se proporciona en SEQ ID NO: 14.

#### 1.6.1 Construcción del vector de expresión pTT5-AD169-Delta725-LVL759

5 El plásmido pTT5-gB-SLP12-Delta725-RR-leader2 se mutó usando el kit QuickChange II XL Site-Directed Mutagenesis de Stratagene (N.º 200522) y el cebador CAN1498 5'-gtgcatcgtgtgcctgggagccgtgagccacagg-3' y CAN1499 5'-cctgtggctcacggcctcgatcccaggcacacgatgcac-3', lo que dio como resultado el plásmido intermedio pTT5-694-13. Este plásmido intermedio se mutó usando el mismo kit QuickChange II XL Site-Directed Mutagenesis y el cebador CAN 1650 5'-gtgaacctgtgcatcgtgtgcctggcctggccagccaccgggccaacgagacaa-3' y CAN 1651 5'-ttgtctcgttggcccggtggctggccaggccaggcacacgatgcacaggttcac-3', lo que dio como resultado el vector de expresión final pTT5-gB-SLP12-725-LVL759. La secuencia de nucleótidos que codifica gB-SLP12-Delta725-LVL759 se muestra en SEQ ID NO: 13.

### 1.7 gB-SLP12-Delta725-LVL776

15 Esta variante codifica una proteína de 683 aminoácidos de longitud. La secuencia de aminoácidos completa de gB-SLP12-Delta725-LVL776 se proporciona en SEQ ID NO: 16.

#### 1.7.1 Construcción del vector de expresión pTT5-AD169-Delta725-LVL776

20 El plásmido intermedio anterior pTT5-694-13 se mutó usando el mismo kit QuickChange II XL Site-Directed Mutagenesis kit y los cebadores CAN1648 5'-cctgtgcatcgtgtgcctgggagccctggccagccaccgggccaacgagacaatc-3' y CAN1649 5'-gattgtctcgttggcccggtggctggccagggtcccaggcacacgatgcacagg-3', lo que dio como resultado un plásmido intermedio adicional pTT5-LVL758-1. Este plásmido intermedio se mutó usando el mismo kit QuickChange II XL Site-Directed Mutagenesis y los cebadores CAN1697 5'-tggtgtcgtgaacctgtgcatcgtgtgcctgggagccctggccaccgggccaacgagacaatctac-3' y CAN1698 5'-gtagattgtctcgttggcccggtgggcccagggtcccaggagcacgatgcacaggttcacgacacca-3', lo que dio como resultado el vector de expresión final pTT5-gB-SLP12-Delta725-LVL776. La secuencia de nucleótidos que codifica gB-SLP12-Delta725-LVL759 se muestra en SEQ ID NO: 15.

### 1.8 gB-SLP12-Delta725-CD33

30 La variante gB-SLP12-Delta725-CD33 codifica una proteína de 677 aminoácidos de longitud. Esta construcción es casi idéntica a la construcción gB-SLP12-Delta725 a excepción de que la parte N-terminal del gen gB abarca los nucleótidos 1 a 192 (la secuencia señal y los primeros 64 aminoácidos de la proteína gB madura) se reemplazaron por la secuencia señal de CD33 (Taylor y col. 1999, Vol. 274, N.º 17: p11505-11512). La secuencia de aminoácidos completa de la variante gB-SLP12-Delta725-CD33 se proporciona en SEQ ID NO: 18.

#### 1.8.1 Construcción del vector de expresión pTT5-gB-SLP12-Delta725-CD33

35 El gen gB-SLP12-Delta725-CD33 se construyó mediante amplificación por PCR usando el plásmido pTT5-gB-SLP12-Delta725 como molde y los cebadores CD33 (SEQ ID NO: 27) (5'-AATCAAAAGCTTACTAGTGCCGCCACCATGGCCCCCTGCTGCTTCTGCTGCCCCCTGCTTTGGG CAGGGGCCCTGGCCACCGGGGCAACG-3') y CMO578 (SEQ ID NO: 28) (5'-GTAATAGGATCCGGTACCTCATCAGGCCTTTCCAGCAG-3'). El cebador directo contiene el sitio *HindIII* y la secuencia señal de CD33. El cebador inverso contiene el codón de terminación y el sitio *BamHI*. Tras la digestión con las enzimas restricción adecuadas, el fragmento de PCR se clonó en el vector pEE14 sometido a digestión con las enzimas de restricción *HindIII* y *BglII*. Después de la verificación de la secuencia se seleccionó el plásmido pEE14-gB-SLP12-Delta725-CD33. Por último, el gen gB-SLP12-Delta725-CD33 se subclonó en el vector pTT5 del siguiente modo. La secuencia codificante se amplificó por PCR usando el vector pEE14-gB-SLP12-Delta725-CD33 como molde y los cebadores CD33F (SEQ ID NO: 29) (5'-AATCAAAAGCTTACTAGTGCCGCCACCATGGCCCCCTGCTG-3') y Ecto-Rv (SEQ ID NO: 30) (5'-GACTTATAGGATCCTCATCAGTGGTGGTGATGATGGTGGCCGCCGGCCTTTCCAGCAGC-3').

50 Los cebadores directo e inverso contienen los sitios de clonación *HindIII* y *BamHI*, respectivamente. El ADN amplificado y el vector pTT5 se sometieron a digestión con las enzimas de restricción *HindIII* y *BamHI* antes de la ligación. Después de la verificación de la secuencia se usó el vector de expresión pTT5-gB-SLP12-Delta725-CD33 resultante para transfectar de forma transitoria células CHO-S. La secuencia de nucleótidos que codifica gB-SLP12-Delta725-CD33 se muestra en SEQ ID NO: 17.

### Ejemplo 2: Expresión de los polipéptidos gB del CMV

Las distintas construcciones de ADN descritas anteriormente se transfectaron de forma transitoria en células CHO (ovario de hámster chino) usando el sistema de expresión FreeStyle™ MAX CHO de Invitrogen. La construcción que codifica el polipéptido gB-DeltaTM se usó como control. La secuencia de aminoácidos de gB-Delta TM se representa

en SEQ ID NO: 2. El vector de expresión usado para la expresión de gB-DeltaTM fue pMax-AD169. El sistema FreeStyle™ MAX CHO usa la línea celular CHO-S, un subclón separado de la línea celular CHO-K1 adaptada al cultivo en suspensión y un polímero sintético basado en lípidos catiónicos como reactivo de transfección. El ADN plasmídico para la transfección se aisló usando el kit Qiagen Maxiprep (Qiagen, Valencia, CA), siguiendo el protocolo del fabricante. El complejo de transfección se preparó según lo recomendado por Invitrogen. Brevemente, se diluyeron por separado 37,5 µg de plásmido y 37,5 µl del reactivo de transfección FreeStyle MAX en 0,6 ml de medio Opti-Pro™SFM. Inmediatamente después, el reactivo de transfección FreeStyle MAX diluido se añadió a la solución de ADN diluida. La mezcla ADN-FreeStyle MAX se incubó durante 10 minutos a temperatura ambiente antes de añadirla al cultivo celular. Los cultivos transfectados se incubaron a 37 °C durante 3 días. Después, los cultivos se mantuvieron a 29 °C durante otros 3 días. El día 6 después de la transfección se recogió 1 ml de cada cultivo celular que comprendía las células transfectadas en suspensión, así como el medio de cultivo celular. Los sobrenadantes del cultivo celular se separaron de las células suspendidas mediante centrifugación a 12.000 g. Se recogieron los sobrenadantes y los sedimentos celulares se solubilizaron con 1 ml de tampón de lisis (PBS complementado con Triton X-100 al 1 %). El material insoluble se retiró de los lisados celulares mediante centrifugación a 12.000 g a 4 °C durante 5 min. Las alícuotas (15 µl) de los sobrenadantes de cultivo y las fracciones celulares solubilizadas se corrieron en un gel Criterion XT de Bis Tris al 4-12 % (Biorad) usando el tampón MOPS. Las proteínas se transfirieron a membranas de nitrocelulosa y las membranas se exploraron con el anticuerpo anti-gB MAb 27-156 (Spaete y col., 1990). Como alternativa, se detectaron los niveles de expresión y secreción mediante ensayo ELISA usando un anticuerpo anti-gB. El ensayo se realizó en placas de 96 pocillos. Las placas se recubrieron con un anticuerpo policlonal anti-gB (el anticuerpo se produjo inyectando el polipéptido gB\*\* - descrito en el documento EP0759995- en conejos). Después de una etapa de saturación en leche desnatada al 3 % durante 1 h a 37 °C, el anticuerpo se incubó durante una noche a 4 °C. Después se lavaron los pocillos 4 veces. Se añadió una serie de diez diluciones con factor 2 de cada muestra a analizar (el sobrenadante y las fracciones celulares transfectadas con las construcciones gB dadas) a las placas recubiertas en presencia de un anticuerpo monoclonal anti-gB (el anticuerpo se produjo inyectando en ratones virus CMV completo) que se conjuga con biotina durante 2 h a 37 °C. Después de 4 lavados con PBS/Tween 20 al 0,1 %, se añadieron 100 µl de estreptavidina-peroxidasa de rábano picante y se incubó durante 30 min a 37 °C. Las placas se lavaron 4 veces con PBS/Tween 20 al 0,1 % y una vez con agua. Después, las placas se incubaron durante 10 min a 37 °C con 100 µl de tetra-metil-bencidina al 75 % (TMB) en tampón citrato 0,1 M a pH 5,8 (25 %). Esta reacción se detuvo con 100 µl de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,4 N y la colorimetría se leyó en un espectrofotómetro a 450/620 nm. En este experimento se usó como patrón un lote anterior de gB-DeltaTM purificado cuya concentración se conocía. Usando el programa informático SoftMax Pro se cuantificó la concentración de cada muestra a analizar.

## 2.1 Expresión y secreción de gB-SLP12, gB-SLP1-Del2 y gB-SLP12-Del2 - análisis de transferencia de Western

La FIG. 3 se muestra una transferencia de Western representativa de tres experimentos realizados de forma independiente. Las calles A, B, C y D representan las fracciones celulares de los cultivos transfectados con gB-deltaTM, gB-SLP12, gB-SLP1-Del2 y gB-SLP12-Del2, respectivamente. El nivel de gB presente en dichas fracciones celulares es indicativo del nivel de gB que es intracelular. Las calles E, F, G y H representan los sobrenadantes de los cultivos transfectados con gB-DeltaTM, gB-SLP12, gB-SLP1-Del2 y gB-SLP12-Del2, respectivamente. El nivel de gB presente en dichos sobrenadantes es indicativo del nivel de gB que se secreta. Si se compara el nivel de gB presente en las calles B, C y D con el nivel de gB presente en la calle A, se observa que el nivel de gB intracelular permanece invariable al mutar los bucles de fusión, es decir, los polipéptidos de la invención, en comparación con gB-DeltaTM con los bucles de fusión intactos, es decir, el polipéptido de la técnica anterior, lo que sugiere que las mutaciones en los bucles de fusión no afectan a la secreción. De hecho, si se compara el nivel de gB presente en las calles F, G y H con el nivel de gB presente en la calle E, se observa que la expresión de los polipéptidos gB de la invención (con los bucles de fusión mutados) y su secreción son al menos tan eficientes como la expresión y la secreción del polipéptido gB de la técnica anterior (gB-deltaTM con bucles de fusión intactos).

## 2.2 Expresión y secreción de gB-SLP12, gB-SLP12-Delta113 y gB-SLP12-Delta725 - ensayo ELISA

La cuantificación de los resultados obtenidos mediante ensayo ELISA y representados en forma de un gráfico se muestra en la FIG. 4 - Las barras negras representan las fracciones celulares de los cultivos transfectados con gB-DeltaTM, gB-SLP12, gB-SLP12-Delta113 y gB-Delta-725, respectivamente, mientras que las barras grises representan los sobrenadantes de los mismos cultivos. Por consiguiente, la suma de la barra gris y de la barra negra por variante expresada representa el nivel de expresión total alcanzado tras la transfección en células CHO. Con respecto a gB-DeltaTM, se observó que en la población del polipéptido expresado, alrededor de la mitad del polipéptido se retiene de forma intracelular (barra gris) y alrededor de la mitad del polipéptido se secreta (barra negra). Sorprendentemente, cuando se expresó gB-SLP12 se observó que el nivel de expresión total era significativamente mayor que para gB-DeltaTM, alrededor del doble. Además, si se comparaba el respectivo nivel de la forma intracelular y la forma secretada, se observaba que más del 80 % del polipéptido se secretaba, mientras que sólo el 10-20 % permanecía de forma intracelular, lo que sugiere que gB-SLP12 también se secretaba de forma más eficaz que gB-DeltaTM. Este resultado sugiere que la mutación de los bucles de fusión tiene un impacto positivo sobre la expresión y la secreción. El mayor nivel de expresión y secreción con respecto a gB-DeltaTM se observó de forma similar con los polipéptidos gB-SLP12-Delta113 y gB-SLP12-Delta725. Sin embargo, sorprendentemente, los dos polipéptidos se expresaban de forma todavía más significativa que gB-SLP12, más del doble y alrededor de 1,6 veces, respectivamente, lo que sugiere que combinar la delección de al menos parte del dominio citoplasmático con

la mutación del bucle de fusión mejora más la expresión y, por lo tanto, el rendimiento final de los polipéptidos secretados resultantes.

### 2.3 Expresión y secreción de gB-SLP12, gB-SLP12-Delta113, gB-SLP12-Delta725, gB-SLP12 – Papel de los bucles de fusión

- 5 Las transferencias de Western se muestran en la FIG. 5 - La FIG. 5A muestra que gB-SLP12 se secreta al menos con tanta eficacia que gB-SLP12-Delta725, mostrando ambos un nivel de secreción mayor que gB-DeltaTM (compárense las calles F y J con la calle B), lo que confirma los resultados observados mediante el ensayo ELISA. Las calles M y N representan las fracciones celulares y el sobrenadante de un cultivo transfectado con gB-SLP12-Delta725 que tiene los bucles de fusión FL1 y FL2 intactos. La ausencia de detección de gB en el sobrenadante del cultivo (véase la calle N) sugiere que el buen nivel de expresión/secreción de gB requiere que los bucles de fusión estén mutados - Una observación similar se realizó en la FIG. 5B, en donde no se puede detectar proteína gB en el sobrenadante de un cultivo transfectado con gB-Delta725, que tiene bucles de fusión FL1 y FL2 intactos, en comparación con el sobrenadante de un cultivo transfectado con gB-SLP12-Delta725 (compárense las calles 6 y 2, respectivamente). El requisito de la mutación de los bucles de fusión FL1 y FL2 para conseguir una secreción mejor que gB-DeltaTM se observó de forma similar para los péptidos gB-SLP12-Delta113. gB era apenas detectable en el sobrenadante de un cultivo transfectado con gB-SLP12-Delta113 que tiene los bucles de fusión FL1 y FL2 intactos, en comparación con el sobrenadante de un cultivo transfectado con gB-SLP12-Delta113 (compárense las calles 6' y 4', respectivamente).

### 2.4 Expresión y secreción de gB-SLP12-Delta725, gB-SLP12-Delta725-LVL759 y gB-SLP12-Delta725-LVL776

- 20 En la FIG. 5C se muestra una transferencia de Western - El nivel de gB presente en el sobrenadante de un cultivo transfectado con gB-SLP12-Delta725-LVL759 es al menos tan bueno como el nivel de gB presente en el sobrenadante de un cultivo transfectado con gB-SLP12-Delta725 (compárense las calles f y h con las calles b y d, respectivamente). El nivel de gB presente en el sobrenadante de un cultivo transfectado con gB-SLP12-Delta725-LVL776 es sólo ligeramente menor que el nivel de gB presente en el sobrenadante de un cultivo transfectado con gB-SLP12-Delta725 (compárense las calles j y l con las calles b y d, respectivamente). Estos resultados indican que la mutación en la parte N-terminal de los polipéptidos (véase la FIG. 2) de la invención no afecta de forma significativa al nivel de secreción de dichos polipéptidos.

### **Ejemplo 3: Perfil de producto de los polipéptidos gB del CMV**

- 30 gB-DeltaTM, gB-SLP12 y gB-SLP1-Del2 se expresaron de forma transitoria en células CHO, como se describe en el Ejemplo 2, y los sobrenadantes del cultivo se recogieron el día 6 postransfección. Después del aclarado, los sobrenadantes se complementaron con NaCl 350 mM y Empigen al 0,4 % y, después, se filtraron por 0,22 µm. Se usaron columnas de níquel para purificar los polipéptidos transfectados y secretados de los sobrenadantes de los cultivos celulares correspondientes. Se equilibraron columnas XK 16 (Qiagen) con un tampón que comprende TRIS-HCl 10 mM, NaCl 350 mM, imidazol 10 mM y Empigen al 0,4 % a pH 8,0. Los sobrenadantes de los cultivos celulares previamente aclarados, complementados y filtrados, se cargaron a un caudal de 4 ml/min y las proteínas retenidas se lavaron con el tampón de equilibrio. La elución se realizó a un caudal de 4 ml/min con un tampón que comprende TRIS-HCl 10 mM, NaCl 350 mM, imidazol 350 mM y Empigen al 0,4 % a pH 8,0. Las fracciones eluidas se inyectaron después a un caudal de 2 ml/min en columnas XK 26 (GE) equilibradas con un tampón que comprende tampón fosfato 10 mM (K) y Empigen al 4 % a pH 7,2. El primer pico de proteína se recogió para su análisis posterior. Las fracciones eluidas correspondientes a este pico se cargaron después en columnas de sulfato de cellufine (Chisso Corporation) equilibradas con un tampón que comprende tampón fosfato 10 mM (K) y Empigen al 4 %, pH 7,2. La elución se realizó a un caudal de 3 ml/min con un tampón que comprende fosfato 5 mM (K), NaCl 1 M y Pluronic F68 al 0,1 %, pH 7,2. Los polipéptidos purificados resultantes del procedimiento de purificación anterior se sometieron después a los experimentos siguientes.

### 45 3.1 Experimentos de reticulación con glutaraldehído

- Se añadió glutaraldehído directamente a 15 µl de cada polipéptido purificado (que corresponde a aproximadamente 7 µg de proteína total) de modo que obtenga una concentración final de glutaraldehído del 0,5 % y el 1 %. Como control se dejó una muestra de cada polipéptido purificado sin glutaraldehído. Las mezclas se dejaron incubar durante 150 min y, después, se detuvo la reacción del glutaraldehído mediante la adición de NaBH<sub>4</sub> (Aldrich) y las muestras se incubaron en hielo durante 20 min. Después, las muestras se corrieron en un gel Criterion XT de Bis Tris al 4-12 % (Biorad) usando tampón MOPS. El gel se tiñó con azul de Coomassie R-250 y se muestra en la FIG. 9.

### Resultados

- 55 Si había multímeros de polipéptidos presentes en las muestras antes de tratarse con glutaraldehído, los multímeros de cualquier tamaño dado, sean dímeros, trímeros o cualquier otro multímero de peso molecular alto, estos se reticularon y, por lo tanto, se mantuvieron como tales cuando migraron en un gel en condiciones desnaturizantes. Por consiguiente, dichos multímeros migraron de acuerdo con su peso molecular. Por el contrario, con las muestras de control que no se trataron con glutaraldehído, cualquier multímero presente en dicha muestra se desnaturizó en

monómeros cuando migraron en un gel en condiciones desnaturalizantes, de modo que los polipéptidos en las muestras de control migraron de acuerdo con el peso molecular equivalente a un monómero del polipéptido (véase una única banda un poco más baja que 150 kDa en las calles A, D y G). Si se considera el perfil del multímero de gB-DeltaTM (calles A, B y C), en las muestras tratadas con glutaraldehído se observan 2 bandas de peso molecular muy alto (indicado por las flechas). También se observa que estas dos bandas son de la misma intensidad, lo que sugiere que la muestra de gB-DeltaTM comprende principalmente dos tipos de multímeros y que la proporción de cada multímero dentro de la muestra debería ser aproximadamente la misma. Por el contrario, al considerar el perfil de gB-SLP12, en particular las calles E y F, en el que las muestras se trataron con glutaraldehído, aunque también se observaron dos bandas de peso molecular alto, la intensidad de cada banda es significativamente diferente. De hecho, la intensidad de la banda de peso molecular menor es al menos 3-5 veces más fuerte que la del más alto, lo que sugiere que la población de multímeros de peso molecular menor en la muestra gB-SLP12 es mucho más grande que la población de multímeros de peso molecular más alto. Se realizó una observación similar cuando se consideró la muestra de gB-SLP1-Del2 (calles G, H e I), en donde la intensidad de la banda más baja es aproximadamente 2-3 veces más fuerte que la intensidad de la banda más alta. Esto sugiere que gB-SLP12 and gB-SLP1-Del2 tienen un perfil de multímero similar, con una proporción enriquecida de los multímeros de peso molecular más bajo, que es distinto del de gB-DeltaTM, el polipéptido de la técnica anterior. Cabe destacar que el gel usado en dicho experimento no proporciona una resolución suficientemente buena como para determinar si las bandas de peso molecular más bajo observadas en las calles en relación con gB-DeltaTM son del mismo tamaño que las observadas en las calles relacionadas con gB-SLP12 y gB-SLP1-Del2. Por el mismo motivo no es posible determinar de forma precisa el tamaño real de cada banda, de modo que es difícil identificar los multímeros observados como dímeros o trímeros etc. del experimento. Para obtener esta información se realizaron los dos siguientes experimentos con los polipéptidos purificados.

### 3.2 Ultracentrifugación analítica - gB-DeltaTM, gB-SLP12, gB-SLP1-Del2

Se usó ultracentrifugación analítica (UCA) para determinar la homogeneidad y la distribución por tamaño en solución de las distintas especies (por ejemplo, multímeros de tamaños distintos de un polipéptido purificado que se agrega) en una muestra de polipéptido purificado, midiendo la velocidad a la cual las moléculas se mueven en respuesta a una fuerza centrífuga. Esto está basado en el cálculo del coeficiente de sedimentación de las distintas especies, que se obtiene mediante un experimento de velocidad de sedimentación, lo que depende de su forma y masa molecular. Tras la purificación, gB-DeltaTM, gB-SLP12 y gB-SLP1-Del2 resuspendidos en fosfato sódico 10 mM, NaCl 1M y Pluronic al 0,1 %, pH 7,2 se centrifugaron en una ultracentrífuga analítica ProteomeLab XL-1 de Beckman-Coulter a 28.000 rpm después de equilibrar el rotor AN-60Ti a 15 °C. Para la recolección de datos se registraron 160 barridos a 280 nm y 230 nm cada 5 minutos. El análisis de los datos se realizó usando el programa SEDFIT para la determinación de la distribución C(S). La determinación del volumen específico parcial de las proteínas se realizó con el programa informático SEDNTERP a partir de una combinación de su secuencia de aminoácidos y de su composición esperada de glicanos. También se usó SEDNTERP para determinar la viscosidad y la densidad del tampón, omitiendo la contribución del Pluronic F68, que no está representado en la base de datos de este programa informático. Los resultados se presentan en forma de un gráfico que representa la concentración de cada especie representada frente al peso molecular. La determinación de la abundancia relativa de todas las especies se ha realizado considerando el área total bajo la curva de la distribución global como el 100 % de la muestra y calculando el porcentaje de esta área total representada por la contribución de cada especie.

### Resultados

La FIG. 10 presenta de forma sucesiva el perfil de gB-DeltaTM, gB-SLP12 y gB-SLP1-Del2 purificados, analizado mediante ultracentrifugación analítica. El gráfico que corresponde con la muestra de gB-DeltaTM indica una distribución heterogénea representada por una pluralidad de picos. En particular, la población principal observada en dicha muestra son las especies de 417 kDa (35 %) y 723 kDa (30 %), que probablemente representen trímeros y hexámeros, respectivamente. También están presentes en dicha muestra multímeros de peso molecular más alto. Por el contrario, cuando los bucles de fusión FL1 y FL2 estaban mutados, el perfil del correspondiente polipéptido gB-SLP12 purificado indica una población más homogénea, ya que la población principal es una especie de 327 kDa (63 %) que probablemente represente trímeros. La presencia de multímeros de peso molecular más alto apenas se puede apreciar. Se observó un perfil similar en la muestra de gB-SLP1-Del2, en la que la población principal es una especie de 311 kDa (67 %) que probablemente también represente trímeros, aunque la presencia de multímeros de peso molecular más alto es sólo marginal.

En conclusión, los polipéptidos gB de la invención (gB-SLP12 y gB-SLP1-Del2) presentan un perfil de producto mejorado, dado que la población de trímeros aumenta aproximadamente en un factor de 2 en comparación con la población de trímeros del polipéptido gB de la técnica anterior (gB-DeltaTM).

### 3.3 Ultracentrifugación analítica - gB-SLP12-Delta725, gB-SLP12-Delta113

La ultracentrifugación analítica se realizó como se describe anteriormente en la sección 3.2 para determinar la homogeneidad y la distribución por tamaño en solución de las distintas especies en los polipéptidos purificados gB-SLP12-Delta725 y gB-SLP12-Delta113. Los polipéptidos se expresaron de forma recombinante como se describe en el Ejemplo 2 y se purificaron como se describe en el primer párrafo del presente Ejemplo 3. Tras la purificación, cada

uno de gB-SLP12-Delta725 and gB-SLP12-Delta113 se resuspendieron en un tampón que contenía Pluronic al 0,1 % o en un tampón sin Pluronic.

### Resultados

- 5 - La FIG. 11A presenta de forma sucesiva el perfil del polipéptido gB-SLP12-Delta113 purificado analizado mediante ultracentrifugación analítica en presencia o ausencia Pluronic al 0,1 %. En ausencia de Pluronic, el perfil observado era similar al perfil observado para gB-SLP12 y gB-SLP12-Del2 en la FIG. 10, con una población similar del 72 % representando trímeros en la población del polipéptido purificado, es decir, un perfil de producto mejorado en comparación con el polipéptido gB de la técnica anterior (gB-DeltaTM). Sin embargo, en presencia
- 10 (25 %) y la presencia de multímeros de un tamaño de alrededor de 230 kDa. Esta tendencia del polipéptido gB-SLP12-Delta113 a monomerizar en presencia de Pluronic es indicativa de una susceptibilidad al detergente.
- 15 - La FIG. 11B presenta de forma sucesiva el perfil del polipéptido gB-SLP12-Delta725 purificado analizado mediante ultracentrifugación analítica, en presencia o ausencia de Pluronic al 0,1 %. El perfil observado con este polipéptido purificado es similar haya o no Pluronic presente. De hecho, el porcentaje de trímeros en ambos casos es de alrededor del 70 %, es decir, tan alto como el porcentaje de trímeros observado con los polipéptidos gB-SLP12 y gB-SLP12-Del2 anteriores y, por lo tanto, gB-SLP12-Delta725 también presenta un perfil de producto mejorado en comparación con el polipéptido gB de la técnica anterior (gB-DeltaTM).

### Conclusión

- 20 Aunque tanto gB-SLP12-Delta113 como gB-SLP12-Delta725 muestran un perfil de producto mejorado, con una proporción enriquecida de trímeros, los resultados obtenidos indican que gB-SLP12-Delta725 presenta la ventaja adicional de tener una estabilidad estructural aumentada en solución, dado que su perfil de trímeros se mantiene en presencia o ausencia de Pluronic. De hecho, un tratamiento con detergente no tuvo ningún impacto observable sobre las propiedades de sedimentación de dicho polipéptido.

### 3.4 Cromatografía de exclusión por tamaño

- 25 El tamaño de proteína de gB-deltaTM y gB-SLP12 purificados también se determinó mediante cromatografía de exclusión por tamaño usando un detector de UV a 280 nm y una columna\_TSK G5000PWXL (Tosoh Bioscience). Las muestras se cargaron a temperatura ambiente a un caudal de 0,5 ml/min. La elución se realizó con PBS + Pluronic al 0,1 % al mismo caudal a temperatura ambiente. Para la calibración se usaron tiroglobulina (669 kDa), ferritina (440 kDa), catalasa (232 kDa), aldolasa (158 kDa), albúmina (68 kDa), conalbumina (75 kDa), ovoalbumina
- 30 (43 kDa), anhidrasa carbónica (29 kDa) y ribonucleasa (13,7 kDa).

### Resultados

- 35 Como se muestra en la FIG. 13, gB-SLP12 tiene un tamaño de 357 kDa, medido por cromatografía de exclusión por tamaño, lo que probablemente represente la forma trimérica. Dos polipéptidos de la técnica anterior, gB-DeltaTM y gB-S50-DeltaTM, es decir, los polipéptidos con bucles de fusión intactos, tienen un tamaño similar de 710 kDa, lo que representa multímeros de peso molecular más alto. Estos resultados confirman los resultados anteriores obtenidos por ultracentrifugación analítica, en cuanto a que los polipéptidos de la invención (gB-SLP12) tienen un perfil de producto distinto del de los polipéptidos de la técnica anterior (gB-DeltaTM).

## **Ejemplo 4: Recorte C-terminal de los polipéptidos gB-SLP12**

### 4.1 Expresión y purificación

- 40 Los polipéptidos gB-DeltaTM, gB-SLP12, gB-SLP12-Delta113 y gB-SLP12-Delta725 se transfectaron de forma transitoria y se expresaron como se describe en el Ejemplo 2. Los polipéptidos gB-SLP12, gB-SLP12-Delta113 y gB-SLP12-Delta725 se purificaron como se describe en el primer párrafo del Ejemplo 3. Tras la recolección en el día 6 de transfección, el sobrenadante de gB-DeltaTM se complementó con Bis-Tris y Empigen BB para alcanzar la concentración final de 20 mM y 0,4 % respectivamente. Después, se cargó en una columna Q-Sepharose XL (GE Healthcare) equilibrada en un tampón que comprende Bis-Tris 20 mM - Empigen BB al 0,4 %, pH 6,0. El polipéptido
- 45 unido se eluyó de la columna con una mezcla de 75 % del tampón que comprende Bis-Tris 20 mM - Empigen BB al 0,4 %, pH 6,0 y 25 % del tampón que comprende Bis-Tris 20 mM - Empigen BB al 0,4 %, NaCl 1 M, pH 6,0. El eluato se complementó después con fosfato sódico para alcanzar una concentración final de 10 mM y ajustar a pH 6,8. Después, se cargó en una columna de hidroxipatita de tipo II (Bio-Rad) equilibrada en un tampón que comprende fosfato sódico 10 mM - Empigen BB al 0,4 %, NaCl 0,25 M, pH 6,8. El flujo de paso que contiene el polipéptido se recuperó y se cargó en una columna de sulfato de Cellufine (JNC Corporation) equilibrada en un tampón que
- 50 comprende tampón de fosfato sódico 10 mM - Empigen BB al 0,4 %, NaCl 0,25 M, pH 6,8. El flujo de paso que contiene el polipéptido se recuperó, se concentró mediante ultrafiltración usando una membrana Pellicon XL de 100 kD (Millipore) y se cargó en una columna Superdex 200 (GE Healthcare) equilibrada en un tampón que
- 55 comprende fosfato sódico 10 mM- Empigen BB al 0,4 %, pH 7,2. El eluato se recogió, se concentró y se diafiltró con fosfato sódico 10 mM, pH 7,2.

#### 4.2 Análisis de transferencia de Western

Los polipéptidos purificados anteriormente se desglucosilaron usando el kit de desglucosilación N-glucosidasa F (Roche, N.º 11836552001) siguiendo las instrucciones del fabricante. Se corrieron cantidades equivalentes de cada uno de los polipéptidos desglucosilados purificados en un gel Criterion XT de Bis Tris al 4-12 % (Biorad) usando tampón MOPS. Las proteínas se transfirieron a membranas de nitrocelulosa y las membranas se exploraron con el anticuerpo anti-gB MAb 27-156 (Spaete y col., Virology 167, 207-225 (1988) (FIG. 14A, FIG. 14B, calle 3, FIG. 14C, calles B, y FIG. 14D, calle D) o el anticuerpo anti-marca de 6X His (Abcam, n.º ab9108) (FIG. 14B, calle 2, FIG. 14C, calles A, y FIG. 14D, calle C).

#### Resultados

- La FIG. 14A muestra que el anticuerpo anti-gB reconoce dos formas distintas en la población de polipéptido gB-DeltaTM purificado, lo que sugiere que el polipéptido existe en la población purificada al menos en dos formas de tamaños distintos, 92 kDa y 80 kDa, respectivamente. A base del valor medio del peso molecular de un aminoácido (110 Da), el peso molecular de gB-DeltaTM, que comprende 830 aminoácidos, debería ser de alrededor de 91 kDa. Por lo tanto, es probable que la banda de 92 kDa corresponda al polipéptido gB-DeltaTM de longitud completa, mientras que es probable que la banda de 80 kDa corresponda a una versión más corta del polipéptido, lo que sugiere que dentro de la población algunos polipéptidos se escinden y se producen productos recortados de alrededor de 80 kDa.
- La FIG. 14B muestra que, tras la expresión recombinante del polipéptido gB-SLP12 en las células, el anticuerpo anti-gB (calle 3) proporciona un perfil idéntico que reconoce dos formas de tamaños similares, 92 kDa y 80 kDa, respectivamente, lo que sugiere una escisión similar en este polipéptido. Cabe destacar aquí que el peso molecular esperado de gB-SLP12 es también de alrededor de 91 kDa, dado que el número de aminoácidos es el mismo que para gB-DeltaTM. Al explorar la membrana con un anticuerpo anti-marca de His (calle 2), sólo se detectó la banda de alrededor de 92 kDa. Dado que la marca de His se emplaza en el extremo C-terminal del polipéptido, estos datos sugieren que la escisión se produce en la parte C-terminal del polipéptido y genera así un fragmento de 80 kDa que carece del extremo C-terminal.
- La FIG. 14C muestra que, tras la expresión recombinante del polipéptido gB-SLP12-Delta113 en las células, el anticuerpo anti-gB (calle B) sólo reconoce una banda (en alrededor de 80 kDa). Dado que gB-SLP12-Delta comprende 717 aminoácidos, se espera entonces que el peso molecular medio deba estar alrededor de 79 kDa. Por lo tanto, la observación de sólo una banda a alrededor de 80 kDa indica que la población de este polipéptido purificado está constituida sólo del polipéptido de longitud completa, lo que sugiere que la escisión observada anteriormente en la parte C-terminal ya no se produce en esta población de polipéptidos. Esto se confirmó explorando la membrana con un anticuerpo anti-marca de His (calle A) y observando una banda idéntica a alrededor de 80 kDa, lo que indica que está presente el extremo C-terminal del polipéptido.
- Se puede extraer una conclusión similar de la transferencia de Western presentada en la FIG. 14D en relación al polipéptido gB-SLP12-Delta725. La calle D representa la membrana explorada con un anticuerpo anti-gB que reconoce sólo una banda (a alrededor de 80 kDa). El peso molecular medio esperado de este polipéptido que comprende 824 aminoácidos debería ser también de alrededor de 79 kDa. La calle C representa la membrana explorada con un anticuerpo anti-marca de His, y de forma similar reconoce únicamente una banda en alrededor de 80 kDa, lo que indica que está presente el extremo C-terminal del polipéptido.
- Los polipéptidos pueden precipitar en el curso de la desglucosilación, lo que puede tener como resultado una desglucosilación incompleta. Cuando la desglucosilación es completa, algunos polipéptidos permanecen en su forma glucosilada, formas que normalmente migran en el gel de un modo difuso, tal como se observa para los polipéptidos gB-SLP12-Delta113 y gB-SLP12-Delta725 en las transferencias de Western presentadas en las FIG. 14C y 14D.

#### Conclusión

Los datos presentados en la FIG. 14 muestran que el recorte que se produce con los polipéptidos gB-DeltaTM and gB-SLP12 en la parte C-terminal del polipéptido no se produce cuando al menos parte del dominio citoplasmático está suprimido.

#### Ejemplo 5: Heterogeneidad del N-terminal de gB-SLP12-Delta725 de los polipéptidos

Como se muestra en la FIG. 12A, el polipéptido gB-SLP12-Delta725 de CMV, cuando se expresa de forma recombinante en las células, tiene como resultado una población de polipéptidos maduros que son heterogéneos en el extremo N-terminal. De hecho, la peptidasa señal escinde la secuencia señal en distintas posiciones de aminoácidos, como se ha indicado. Este fenómeno también se denomina “oscilación” de la peptidasa señal.

#### 5.1 Expresión y purificación

Los polipéptidos que contienen marca de His gB-SLP12-Delta725, gB-SLP12-Delta725-LVL759, gB-SLP12-Delta725-LVL776 y gB-SLP12-Delta725-CD33, como se describe en el Ejemplo 1, se expresaron de forma recombinante como se describe en el Ejemplo 2. En el día 6 postransfección se recogieron los sobrenadantes de cultivo. A los sobrenadantes se añadió un cóctel inhibidor de proteasas sin EDTA (Roche, N.º 11873580001) y la

concentración de NaCl se ajustó a 500 mM y el pH final a 8,3. Se introdujo sefarosa 6 FF IMAC (GE Healthcare) en columnas de vidrio de 5 cm de diámetro (Waters). Las columnas se equilibraron con 5 volúmenes de columna de tampón de unión (Tris 10 mM, NaCl 500 mM, imidazol 10 mM, pH 8,3). Los sobrenadantes se cargaron en las columnas equilibradas a un caudal de 10 ml/min. El material no unido se lavó con dos volúmenes de columna del tampón de unión anterior. Se recogieron fracciones de 50 ml. Las columnas se lavaron adicionalmente con dos volúmenes de columna adicionales del tampón de unión anterior. Se recogieron fracciones de 10 ml. Las proteínas unidas a las columnas se eluyeron con 6 volúmenes de columna del tampón de elución (Tris 500 mM, NaCl 350 mM, imidazol, pH 8,30). Se recogieron fracciones de 10 ml. Las fracciones se cargaron en un gel de SDS-PAGE y las fracciones positivas se agruparon y concentraron con un dispositivo Centricon Ultrafiltration (Millipore). La proteína concentrada se cuantificó mediante ensayo colorimétrico de Lowry modificado con RCDC (Biorad). De 5 a 10 µg de la proteína purificada se desglucosilaron usando el kit de desglucosilación de N-glucosidasa F (Roche, N.º 11836552001) siguiendo las instrucciones del fabricante. La proteína desglucosilada se precipitó mediante reactante de precipitación RCDC (BioRad), se resuspendió en tampón de carga reductor de SDS-PAGE y se cargó en SDS-PAGE. La banda de proteína que migró en la posición correspondiente a la proteína desglucosilada se cortó para someter a digestión con tripsina y análisis del mapa peptídico con EM/EM.

## 5.2 Digestión con tripsina

Los trozos de gel que contienen la proteína purificada se deshidrataron con acetonitrilo (ACN). Las proteínas se redujeron añadiendo el tampón de reducción (DTT 10 mM, bicarbonato amónico 100 mM) durante 30 min a 40 °C y se alquilaron añadiendo el tampón de alquilación (yodoacetamida 55 mM, bicarbonato amónico 100 mM) durante 20 min a 40 °C. Los trozos de gel se deshidrataron adicionalmente y se lavaron a 40 °C añadiendo ACN durante 5 min antes de descartar todos los reactivos. Después, los trozos de gel se secaron durante 5 min a 40 °C y después se rehidrataron a 4 °C durante 40 min con la solución de tripsina (tripsina de calidad de secuenciación de Promega 6 ng/µl, bicarbonato amónico 25 mM). La digestión de proteínas se realizó a 58 °C durante 1 h y se detuvo con 15 µl de una mezcla de ácido fórmico al 1 % y ACN al 2 %. El sobrenadante se transfirió a una placa de 96 pocillos y la extracción de los péptidos digeridos con tripsina se realizó con dos etapas de extracción de 30 min a temperatura ambiente usando el tampón de extracción (ácido fórmico al 1 % y ACN al 50 %). Todos los péptidos extraídos se agruparon en la placa de 96 pocillos y después se secaron completamente en centrifuga de vacío. La placa se selló y almacenó a -20 °C hasta procesamiento adicional para el análisis de CL-EM/EM.

## 5.3 Espectrometría de masas

Antes del análisis por CL-EM/EM, los péptidos extraídos se resolubilizaron en agitación durante 15 min en 12 µl de ácido fórmico al 0,2 % y después se centrifugaron a 2000 rpm durante 1 min. La columna de CL es una columna de fase inversa C18 rellena con una celda de relleno de alta presión. Con el material de fase inversa C18 Jupiter 5 Im300 Å (Phenomenex) se rellenó un capilar de sílice fundida de 75 lm i-d de 100 mm de longitud. Esta columna se instaló en el sistema nano de CL-2D (Eksigent) y se acopló en el LTQ Orbitrap (ThermoFisher Scientific). Los tampones usados para cromatografía fueron ácido fórmico al 0,2 % (tampón A) y ACN al 100 %/ácido fórmico al 0,2 % (tampón B). Durante los primeros 12 min se cargan en la columna 5 µl de la muestra con un flujo de 650 nl/min y, posteriormente, el gradiente va del 2-80 % de tampón B en 20 min y, después, vuelve a tapón B al 2 % durante 10 min. La adquisición de datos de CL-EM/EM se llevó a cabo usando un ciclo de cuatro sucesos de barridos compuesto por una EM de barrido completo para el suceso de barrido 1 adquirido en el Orbitrap.

## Resultados

- La FIG. 12 muestra el resultado de la evaluación cuantitativa de la "oscilación" de la peptidasa señal que se produce en el sitio de escisión de la secuencia señal de los distintos polipéptidos analizados. La oscilación de la peptidasa señal conduce a la generación de diversas formas polipeptídicas maduras que comienzan con un aminoácido distinto en su extremo N-terminal en cada población del polipéptido indicado.
- La FIG. 12A muestra que, tras la digestión con tripsina del extracto de proteína total, seguida de la cuantificación relativa mediante ME/EM de los péptidos resultantes que comprenden el extremo N-terminal, se observó que la población del polipéptido gB-SLP12-Delta725, tras la escisión de la secuencia señal, estaba principalmente presente en solución como cinco formas polipeptídicas distintas en una proporción relativamente equivalente (que varía de aproximadamente el 10 % a aproximadamente el 30 %), cada uno comenzando con un aminoácido distinto, como se ha indicado.
- Las FIG. 12B y 12C muestran un análisis similar de la cuantificación relativa mediante EM/EM de las distintas formas de los polipéptidos presentes en la población de gB-SLP12-Delta725-LVL759 y gB-SLP12-Delta725-LVL776, respectivamente. Se observó que la población de los dos polipéptidos, tras la escisión de la secuencia señal, estaba principalmente presente en solución como una forma principal de polipéptido en un porcentaje superior al 99 %, comenzando con el aminoácido en la posición 23 de la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 14 y con el aminoácido en la posición 24 de la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 16, respectivamente. Los dos sitios de escisión alternativos escindidos por la peptidasa señal y que generan dos formas polipeptídicas adicionales que tenían un aminoácido distinto en el extremo N-terminal, representó tan poco como menos del 1 % en la respectiva población de polipéptidos.

- La FIG. 12D muestra un análisis similar de la cuantificación relativa por EM/EM de las distintas formas de los polipéptidos presentes en la población del polipéptido gB-SLP12-Delta725-CD33. Se observó que esta población, tras la escisión de la secuencia señal, estaba principalmente presente en solución como una forma principal del polipéptido en un porcentaje superior al 99 %, comenzando con el aminoácido en la posición 18 de la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 18. El otro sitio de escisión escindido por la peptidasa señal y que genera una forma polipeptídica adicional que tiene un aminoácido distinto en el extremo N-terminal representó tan poco como menos del 1 % en la población del polipéptido gB-SLP12-Delta725-CD33.

#### Conclusión

Los resultados indican que la oscilación ya no se producía en los polipéptidos gB-SLP12-Delta725-LVL759, gB-SLP12-Delta725-LVL776 y gB-SLP12-Delta725-CD33, dado que la peptidasa señal reconocía de forma consistente únicamente un sitio de escisión principal. Esto sugiere que las modificaciones realizadas en la secuencia señal y en la secuencia líder del polipéptido gB tienen un impacto positivo significativo sobre la heterogeneidad de la población de polipéptido maduro, haciendo que dichas poblaciones sean homogéneas en un grado mayor al 99 %.

#### Ejemplo 6: Inmunogenicidad de las composiciones inmunogénicas que contienen polipéptidos gB del CMV ejemplares de la invención

La inmunogenicidad de las composiciones inmunogénicas que contienen los siguientes polipéptidos que comprenden una marca de His C-terminal y que se expresaron y purificaron como se describe en la sección, gB-DeltaTM, gB-SLP12, gB-SLP12-Delta113, gB-SLP12-Delta725, LVL759, LVL776 y CD33, se analizó del siguiente modo.

##### 6.1 Diseño del experimento

Se vacunaron grupos de diez ratones C57BL/6 con dos dosis con intervalos de 21 días con las composiciones inmunogénicas ejemplares anteriores, como se indica en la Tabla 1. Las inmunizaciones se realizaron por vía intramuscular (1,5 µg de cada polipéptido de gB adyuvado con el sistema adyuvante ASA, que comprende 2,5 µg de 3D-MPL y 2,5 µg de QS21 en una formulación de liposomas en un volumen total de 50 µl).

**Tabla 1 - Grupos de estudio**

| Grupos/Polipéptidos                                                                | Concentración (µg/ml) | Arginina (mM) |
|------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|---------------|
| 1. gB-DeltaTM*                                                                     | 442 µg/ml             | 346           |
| 2. gB-SLP12*                                                                       | 987 µg/ml             | 600           |
| 3. gB-SLP12-Delta113*                                                              | 304 µg/ml             | 321           |
| 4. gB-SLP12-Delta725*                                                              | 718 µg/ml             | 366           |
| 5. CD33*                                                                           | 256 µg/ml             | 370           |
| 6. LVL759**                                                                        | 460 µg/ml             | 348           |
| 7. LVL776**                                                                        | 460 µg/ml             | 348           |
| * Tampón del polipéptido: Tampón K/K2 fosfato 10 mM - NaCl 500 mM – pH8 + Arginina |                       |               |
| ** Tampón del polipéptido: Tris 10 mM - NaCl 500 mM, pH 8,3 + Arginina             |                       |               |

La inmunogenicidad se evaluó analizando las respuestas inmunitarias humorales a la vacunación, medido mediante ensayo de neutralización (NT) y ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas) 21 días después de la inmunización 1 y 14 días después de la inmunización 2 (véanse las secciones 6.3 y 6.4, respectivamente).

##### 6.2 Análisis estadístico

Se diseñaron grupos de 10 ratones C57BL/6 para obtener una potencia del 90 % con una diferencia del doble para la lectura principal. El análisis estadístico se realizó con los datos de 14 días después de la inmunización 2 usando UNISTAT. El protocolo aplicado para el análisis de la varianza se puede describir brevemente del siguiente modo: transformación logarítmica de los datos, prueba de Shapiro-Wilk en cada población (grupo) para verificar la normalidad; prueba de Cochran para verificar la homogeneidad de la varianza entre distintas poblaciones (grupo): Análisis de la varianza en datos seleccionados (ANOVA 1 o 2), prueba de Tuckey-HSD para comparaciones múltiples.

##### 6.3 Ensayo de neutralización

Antes del ensayo se sembraron células MRC5 en placas de 96 pocillos y se incubaron durante 3 días a 37 °C. Se incubaron diluciones en serie de suero inactivado con calor con una cantidad fija de virus CMV AD169 durante 1 h a 37 °C. Tras la incubación, la mezcla de suero y virus se añadió a placas de 96 pocillos que contenían células MRC5.

Las placas se centrifugaron a 2000 rpm durante 1 h a 37 °C. Tras una incubación durante una noche a 37 °C, las placas se fijaron con una solución de acetona al 80 % (20-30 min a +4 °C). Se retiró la solución de acetona y los pocillos positivos para CMV se detectaron usando un anticuerpo monoclonal anti-inmediato temprano I (IT-I) específico conjugado con biotina durante 1 h a 37 °C. Las placas se lavaron 3 veces con PBS. Después de lavar se añadió estreptavidina-peroxidasa de rábano picante durante 30 min adicionales a 37 °C. Las placas se lavaron 3 veces y se incubaron durante 10 min con una solución de True-Blue. Las señales coloreadas específicas se registraron mediante examen visual al microscopio. Los títulos neutralizantes se expresaron como el recíproco de la dilución más alta de suero que proporciona una reducción del 50 % del número de pocillos positivos para CMV cuando se comparó con el control de dosis de virus sin suero.

## 10 Resultados

La respuesta de anticuerpos neutralizantes se midió en las muestras de suero recogidas 21 días después de la primera inmunización y 14 días después de la segunda inmunización. Se analizó la actividad neutralizante de las muestras frente al virus CMV AD169 humano. Los resultados se muestran en la FIG. 15A. Todos los polipéptidos analizados indujeron una respuesta significativa 14 días después de la inmunización 2 (véanse las barras grises). gB-SLP12, gB-SLP12-Delta113, gB SLP12-Delta725 y LVL759 indujeron títulos que no eran significativamente distintos\* de gB-DeltaTM. CD33 (valor p: 0,0006) y LVL776 (valor p: 0,0116) indujeron títulos significativamente menores que gB-DeltaTM.

\* valor  $p \geq 0,05 \rightarrow$  No hay diferencia estadística (con confianza del 95 %)

\*\* valor  $p < 0,05 \rightarrow$  Diferencia estadística

## 20 6.4 Ensayo ELISA

La cuantificación de los anticuerpos anti-gB se realizó por ELISA usando un polipéptido gB denominado gB\*\* (descrito en el documento EP0759995) como antígeno de recubrimiento. El antígeno se diluyó hasta una concentración final de 4 µg/ml en PBS (100 µl/pocillo) y se incubó durante una noche a 4 °C en placas de 96 pocillos. Después, las placas se saturaron durante 1 h a 37 °C con 200 µl de PBS que contenía seroalbúmina bovina al 1 %. Se añadieron a los pocillos diluciones serie con factor dos (100 µl/pocillo) y se incubó 1 h 30 minutos a 37 °C. Las placas se lavaron 4 veces con PBS/Tween 20 al 0,1 %. A cada pocillo se añadieron 100 µl de anti-Ig de ratón conjugado con biotina y se incubó durante 1 h a 37 °C. Tras 4 lavados con PBS/Tween 20 al 0,1 % se añadieron 100 µl de estreptavidina-peroxidasa de rábano picante durante una incubación adicional de 30 min a 37 °C. Las placas se lavaron 4 veces con PBS/Tween 20 al 0,1 % y una vez con agua. Después, las placas se incubaron durante 10 min a 22 °C con 100 µl de tetrametilbencidina al 75 % en tampón citrato 0,1 M, pH 5,8. Esta reacción se detuvo con 100 µl de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,4 N y se leyó la colorimetría en un espectrofotómetro a 450/620 nm. Como patrón en este experimento se usó un lote anterior de gB-DeltaTM purificado cuya concentración se conocía. Usando el programa informático SoftMax Pro se determinaron los títulos de ELISA y se expresan en Unidades de ELISA/ml.

## Resultados

El título de ELISA se midió en las muestras de suero recogidas 21 días después de la primera inmunización y 14 días después de la segunda inmunización. Los resultados se muestran en la FIG. 15B. Todos los polipéptidos analizados indujeron una respuesta significativa 14 días después de la inmunización 2 (véanse las barras grises). gB-SLP12-Delta113 y gB-SLP12-Delta725 indujeron títulos que no eran significativamente\* distintos del título inducido por gB-DeltaTM. gB-SLP12, CD33, LVL759 y LVL776 indujeron títulos que no eran significativamente\* distintos. gB-DeltaTM indujo títulos significativamente más altos\*\* que gB-SLP12 (valor p: 0,0002), CD33 (valor p: 0,0226), LVL759 (valor p: 0,0002) y LVL776 (valor p: 0,0001).

\* valor  $p \geq 0,05 \rightarrow$  No hay diferencia estadística (con confianza del 95 %)

\*\* valor  $p < 0,05 \rightarrow$  Diferencia estadística

## 45 LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Blais, Normand  
Baudoux, Guy  
Marchand, Martine

<120> Antígeno nuevo

<130> VB63857

<160> 38

<170> FastSEQ para Windows Versión 4.0

<210> 1  
 <211> 906  
 <212> PRT  
 <213> Citomegalovirus AD169

5

<220>  
 <223> Citomegalovirus AD169

<400> 1

10

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Glu | Ser | Arg | Ile | Trp | Cys | Leu | Val | Val | Cys | Val | Asn | Leu | Cys | Ile |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Val | Cys | Leu | Gly | Ala | Ala | Val | Ser | Ser | Ser | Ser | Thr | Ser | His | Ala | Thr |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Ser | Ser | Thr | His | Asn | Gly | Ser | His | Thr | Ser | Arg | Thr | Thr | Ser | Ala | Gln |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Thr | Arg | Ser | Val | Tyr | Ser | Gln | His | Val | Thr | Ser | Ser | Glu | Ala | Val | Ser |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| His | Arg | Ala | Asn | Glu | Thr | Ile | Tyr | Asn | Thr | Thr | Leu | Lys | Tyr | Gly | Asp |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Val | Val | Gly | Val | Asn | Thr | Thr | Lys | Tyr | Pro | Tyr | Arg | Val | Cys | Ser | Met |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Ala | Gln | Gly | Thr | Asp | Leu | Ile | Arg | Phe | Glu | Arg | Asn | Ile | Ile | Cys | Thr |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Ser | Met | Lys | Pro | Ile | Asn | Glu | Asp | Leu | Asp | Glu | Gly | Ile | Met | Val | Val |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Tyr | Lys | Arg | Asn | Ile | Val | Ala | His | Thr | Phe | Lys | Val | Arg | Val | Tyr | Gln |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Lys | Val | Leu | Thr | Phe | Arg | Arg | Ser | Tyr | Ala | Tyr | Ile | Tyr | Thr | Thr | Tyr |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Leu | Leu | Gly | Ser | Asn | Thr | Glu | Tyr | Val | Ala | Pro | Pro | Met | Trp | Glu | Ile |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| His | His | Ile | Asn | Lys | Phe | Ala | Gln | Cys | Tyr | Ser | Ser | Tyr | Ser | Arg | Val |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| Ile | Gly | Gly | Thr | Val | Phe | Val | Ala | Tyr | His | Arg | Asp | Ser | Tyr | Glu | Asn |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Lys | Thr | Met | Gln | Leu | Ile | Pro | Asp | Asp | Tyr | Ser | Asn | Thr | His | Ser | Thr |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Arg | Tyr | Val | Thr | Val | Lys | Asp | Gln | Trp | His | Ser | Arg | Gly | Ser | Thr | Trp |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Leu | Tyr | Arg | Glu | Thr | Cys | Asn | Leu | Asn | Cys | Met | Leu | Thr | Ile | Thr | Thr |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Ala | Arg | Ser | Lys | Tyr | Pro | Tyr | His | Phe | Phe | Ala | Thr | Ser | Thr | Gly | Asp |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Val | Val | Tyr | Ile | Ser | Pro | Phe | Tyr | Asn | Gly | Thr | Asn | Arg | Asn | Ala | Ser |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |  |
| Tyr | Phe | Gly | Glu | Asn | Ala | Asp | Lys | Phe | Phe | Ile | Phe | Pro | Asn | Tyr | Thr |  |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |  |
| Ile | Val | Ser | Asp | Phe | Gly | Arg | Pro | Asn | Ala | Ala | Pro | Glu | Thr | His | Arg |  |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |  |
| Leu | Val | Ala | Phe | Leu | Glu | Arg | Ala | Asp | Ser | Val | Ile | Ser | Trp | Asp | Ile |  |
|     |     |     |     |     | 325 |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |  |
| Gln | Asp | Glu | Lys | Asn | Val | Thr | Cys | Gln | Leu | Thr | Phe | Trp | Glu | Ala | Ser |  |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |  |
| Glu | Arg | Thr | Ile | Arg | Ser | Glu | Ala | Glu | Asp | Ser | Tyr | His | Phe | Ser | Ser |  |
|     |     |     | 355 |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |  |
| Ala | Lys | Met | Thr | Ala | Thr | Phe | Leu | Ser | Lys | Lys | Gln | Glu | Val | Asn | Met |  |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |  |
| Ser | Asp | Ser | Ala | Leu | Asp | Cys | Val | Arg | Asp | Glu | Ala | Ile | Asn | Lys | Leu |  |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |  |
| Gln | Gln | Ile | Phe | Asn | Thr | Ser | Tyr | Asn | Gln | Thr | Tyr | Glu | Lys | Tyr | Gly |  |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |  |
| Asn | Val | Ser | Val | Phe | Glu | Thr | Ser | Gly | Gly | Leu | Val | Val | Phe | Trp | Gln |  |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |  |
| Gly | Ile | Lys | Gln | Lys | Ser | Leu | Val | Glu | Leu | Glu | Arg | Leu | Ala | Asn | Arg |  |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |  |
| Ser | Ser | Leu | Asn | Ile | Thr | His | Arg | Thr | Arg | Arg | Ser | Thr | Ser | Asp | Asn |  |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |  |
| Asn | Thr | Thr | His | Leu | Ser | Ser | Met | Glu | Ser | Val | His | Asn | Leu | Val | Tyr |  |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |  |
| Ala | Gln | Leu | Gln | Phe | Thr | Tyr | Asp | Thr | Leu | Arg | Gly | Tyr | Ile | Asn | Arg |  |
|     |     |     |     | 485 |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     | 495 |     |  |
| Ala | Leu | Ala | Gln | Ile | Ala | Glu | Ala | Trp | Cys | Val | Asp | Gln | Arg | Arg | Thr |  |
|     |     |     | 500 |     |     |     |     | 505 |     |     |     |     | 510 |     |     |  |
| Leu | Glu | Val | Phe | Lys | Glu | Leu | Ser | Lys | Ile | Asn | Pro | Ser | Ala | Ile | Leu |  |
|     |     | 515 |     |     |     |     | 520 |     |     |     |     | 525 |     |     |     |  |
| Ser | Ala | Ile | Tyr | Asn | Lys | Pro | Ile | Ala | Ala | Arg | Phe | Met | Gly | Asp | Val |  |
|     | 530 |     |     |     |     | 535 |     |     |     |     | 540 |     |     |     |     |  |
| Leu | Gly | Leu | Ala | Ser | Cys | Val | Thr | Ile | Asn | Gln | Thr | Ser | Val | Lys | Val |  |
| 545 |     |     |     |     | 550 |     |     |     |     | 555 |     |     |     |     | 560 |  |
| Leu | Arg | Asp | Met | Asn | Val | Lys | Glu | Ser | Pro | Gly | Arg | Cys | Tyr | Ser | Arg |  |
|     |     |     |     | 565 |     |     |     |     | 570 |     |     |     |     | 575 |     |  |
| Pro | Val | Val | Ile | Phe | Asn | Phe | Ala | Asn | Ser | Ser | Tyr | Val | Gln | Tyr | Gly |  |
|     |     |     | 580 |     |     |     |     | 585 |     |     |     |     | 590 |     |     |  |
| Gln | Leu | Gly | Glu | Asp | Asn | Glu | Ile | Leu | Leu | Gly | Asn | His | Arg | Thr | Glu |  |
|     |     | 595 |     |     |     | 600 |     |     |     |     |     | 605 |     |     |     |  |
| Glu | Cys | Gln | Leu | Pro | Ser | Leu | Lys | Ile | Phe | Ile | Ala | Gly | Asn | Ser | Ala |  |
|     | 610 |     |     |     |     | 615 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
|     |     | 755 |     |     |     |     | 760 |     |     |     | 765 |     |     |     |     |
| Leu | Ile | Tyr | Thr | Arg | Gln | Arg | Arg | Leu | Cys | Thr | Gln | Pro | Leu | Gln | Asn |
|     | 770 |     |     |     |     | 775 |     |     |     |     | 780 |     |     |     |     |
| Leu | Phe | Pro | Tyr | Leu | Val | Ser | Ala | Asp | Gly | Thr | Thr | Val | Thr | Ser | Gly |
| 785 |     |     |     |     | 790 |     |     |     |     | 795 |     |     |     |     | 800 |
| Ser | Thr | Lys | Asp | Thr | Ser | Leu | Gln | Ala | Pro | Pro | Ser | Tyr | Glu | Glu | Ser |
|     |     |     |     | 805 |     |     |     |     | 810 |     |     |     |     | 815 |     |
| Val | Tyr | Asn | Ser | Gly | Arg | Lys | Gly | Pro | Gly | Pro | Pro | Ser | Ser | Asp | Ala |
|     |     |     | 820 |     |     |     |     | 825 |     |     |     |     | 830 |     |     |
| Ser | Thr | Ala | Ala | Pro | Pro | Tyr | Thr | Asn | Glu | Gln | Ala | Tyr | Gln | Met | Leu |
|     |     | 835 |     |     |     |     | 840 |     |     |     |     | 845 |     |     |     |
| Leu | Ala | Leu | Ala | Arg | Leu | Asp | Ala | Glu | Gln | Arg | Ala | Gln | Gln | Asn | Gly |
|     | 850 |     |     |     |     | 855 |     |     |     |     | 860 |     |     |     |     |
| Thr | Asp | Ser | Leu | Asp | Gly | Gln | Thr | Gly | Thr | Gln | Asp | Lys | Gly | Gln | Lys |
| 865 |     |     |     |     | 870 |     |     |     |     | 875 |     |     |     |     | 880 |
| Pro | Asn | Leu | Leu | Asp | Arg | Leu | Arg | His | Arg | Lys | Asn | Gly | Tyr | Arg | His |
|     |     |     |     | 885 |     |     |     |     | 890 |     |     |     |     | 895 |     |
| Leu | Lys | Asp | Ser | Asp | Glu | Glu | Glu | Asn | Val |     |     |     |     |     |     |
|     |     |     | 900 |     |     |     |     | 905 |     |     |     |     |     |     |     |

<210> 2  
 <211> 830  
 5 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

<220>  
 <223> Citomegalovirus AD169

10 <400> 2

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Glu | Ser | Arg | Ile | Trp | Cys | Leu | Val | Val | Cys | Val | Asn | Leu | Cys | Ile |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Val | Cys | Leu | Gly | Ala | Ala | Val | Ser | Ser | Ser | Ser | Thr | Ser | His | Ala | Thr |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Ser | Ser | Thr | His | Asn | Gly | Ser | His | Thr | Ser | Arg | Thr | Thr | Ser | Ala | Gln |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Thr | Arg | Ser | Val | Tyr | Ser | Gln | His | Val | Thr | Ser | Ser | Glu | Ala | Val | Ser |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| His | Arg | Ala | Asn | Glu | Thr | Ile | Tyr | Asn | Thr | Thr | Leu | Lys | Tyr | Gly | Asp |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Val | Val | Gly | Val | Asn | Thr | Thr | Lys | Tyr | Pro | Tyr | Arg | Val | Cys | Ser | Met |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Ala | Gln | Gly | Thr | Asp | Leu | Ile | Arg | Phe | Glu | Arg | Asn | Ile | Ile | Cys | Thr |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Ser | Met | Lys | Pro | Ile | Asn | Glu | Asp | Leu | Asp | Glu | Gly | Ile | Met | Val | Val |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Tyr | Lys | Arg | Asn | Ile | Val | Ala | His | Thr | Phe | Lys | Val | Arg | Val | Tyr | Gln |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Lys | Val | Leu | Thr | Phe | Arg | Arg | Ser | Tyr | Ala | Tyr | Ile | Tyr | Thr | Thr | Tyr |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Leu | Leu | Gly | Ser | Asn | Thr | Glu | Tyr | Val | Ala | Pro | Pro | Met | Trp | Glu | Ile |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| His | His | Ile | Asn | Lys | Phe | Ala | Gln | Cys | Tyr | Ser | Ser | Tyr | Ser | Arg | Val |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| Ile | Gly | Gly | Thr | Val | Phe | Val | Ala | Tyr | His | Arg | Asp | Ser | Tyr | Glu | Asn |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Lys | Thr | Met | Gln | Leu | Ile | Pro | Asp | Asp | Tyr | Ser | Asn | Thr | His | Ser | Thr |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Arg | Tyr | Val | Thr | Val | Lys | Asp | Gln | Trp | His | Ser | Arg | Gly | Ser | Thr | Trp |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Leu | Tyr | Arg | Glu | Thr | Cys | Asn | Leu | Asn | Cys | Met | Leu | Thr | Ile | Thr | Thr | 245 | 250 | 255 |
| Ala | Arg | Ser | Lys | Tyr | Pro | Tyr | His | Phe | Phe | Ala | Thr | Ser | Thr | Gly | Asp | 260 | 265 | 270 |
| Val | Val | Tyr | Ile | Ser | Pro | Phe | Tyr | Asn | Gly | Thr | Asn | Arg | Asn | Ala | Ser | 275 | 280 | 285 |
| Tyr | Phe | Gly | Glu | Asn | Ala | Asp | Lys | Phe | Phe | Ile | Phe | Pro | Asn | Tyr | Thr | 290 | 295 | 300 |
| Ile | Val | Ser | Asp | Phe | Gly | Arg | Pro | Asn | Ala | Ala | Pro | Glu | Thr | His | Arg | 305 | 310 | 315 |
| Leu | Val | Ala | Phe | Leu | Glu | Arg | Ala | Asp | Ser | Val | Ile | Ser | Trp | Asp | Ile | 325 | 330 | 335 |
| Gln | Asp | Glu | Lys | Asn | Val | Thr | Cys | Gln | Leu | Thr | Phe | Trp | Glu | Ala | Ser | 340 | 345 | 350 |
| Glu | Arg | Thr | Ile | Arg | Ser | Glu | Ala | Glu | Asp | Ser | Tyr | His | Phe | Ser | Ser | 355 | 360 | 365 |
| Ala | Lys | Met | Thr | Ala | Thr | Phe | Leu | Ser | Lys | Lys | Gln | Glu | Val | Asn | Met | 370 | 375 | 380 |
| Ser | Asp | Ser | Ala | Leu | Asp | Cys | Val | Arg | Asp | Glu | Ala | Ile | Asn | Lys | Leu | 385 | 390 | 395 |
| Gln | Gln | Ile | Phe | Asn | Thr | Ser | Tyr | Asn | Gln | Thr | Tyr | Glu | Lys | Tyr | Gly | 405 | 410 | 415 |
| Asn | Val | Ser | Val | Phe | Glu | Thr | Ser | Gly | Gly | Leu | Val | Val | Phe | Trp | Gln | 420 | 425 | 430 |
| Gly | Ile | Lys | Gln | Lys | Ser | Leu | Val | Glu | Leu | Glu | Arg | Leu | Ala | Asn | Arg | 435 | 440 | 445 |
| Ser | Ser | Leu | Asn | Ile | Thr | His | Thr | Thr | Gln | Thr | Ser | Thr | Ser | Asp | Asn | 450 | 455 | 460 |
| Asn | Thr | Thr | His | Leu | Ser | Ser | Met | Glu | Ser | Val | His | Asn | Leu | Val | Tyr | 465 | 470 | 475 |
| Ala | Gln | Leu | Gln | Phe | Thr | Tyr | Asp | Thr | Leu | Arg | Gly | Tyr | Ile | Asn | Arg | 485 | 490 | 495 |
| Ala | Leu | Ala | Gln | Ile | Ala | Glu | Ala | Trp | Cys | Val | Asp | Gln | Arg | Arg | Thr | 500 | 505 | 510 |
| Leu | Glu | Val | Phe | Lys | Glu | Leu | Ser | Lys | Ile | Asn | Pro | Ser | Ala | Ile | Leu | 515 | 520 | 525 |
| Ser | Ala | Ile | Tyr | Asn | Lys | Pro | Ile | Ala | Ala | Arg | Phe | Met | Gly | Asp | Val | 530 | 535 | 540 |
| Leu | Gly | Leu | Ala | Ser | Cys | Val | Thr | Ile | Asn | Gln | Thr | Ser | Val | Lys | Val | 545 | 550 | 555 |
| Leu | Arg | Asp | Met | Asn | Val | Lys | Glu | Ser | Pro | Gly | Arg | Cys | Tyr | Ser | Arg | 565 | 570 | 575 |
| Pro | Val | Val | Ile | Phe | Asn | Phe | Ala | Asn | Ser | Ser | Tyr | Val | Gln | Tyr | Gly | 580 | 585 | 590 |
| Gln | Leu | Gly | Glu | Asp | Asn | Glu | Ile | Leu | Leu | Gly | Asn | His | Arg | Thr | Glu | 595 | 600 | 605 |
| Glu | Cys | Gln | Leu | Pro | Ser | Leu | Lys | Ile | Phe | Ile | Ala | Gly | Asn | Ser | Ala | 610 | 615 | 620 |
| Tyr | Glu | Tyr | Val | Asp | Tyr | Leu | Phe | Lys | Arg | Met | Ile | Asp | Leu | Ser | Ser | 625 | 630 | 635 |
| Ile | Ser | Thr | Val | Asp | Ser | Met | Ile | Ala | Leu | Asp | Ile | Asp | Pro | Leu | Glu | 645 | 650 | 655 |
| Asn | Thr | Asp | Phe | Arg | Val | Leu | Glu | Leu | Tyr | Ser | Gln | Lys | Glu | Leu | Arg | 660 | 665 | 670 |
| Ser | Ser | Asn | Val | Phe | Asp | Leu | Glu | Glu | Ile | Met | Arg | Glu | Phe | Asn | Ser | 675 | 680 | 685 |
| Tyr | Lys | Gln | Arg | Val | Lys | Tyr | Val | Glu | Asp | Lys | Arg | Leu | Cys | Thr | Gln | 690 | 695 | 700 |
| Pro | Leu | Gln | Asn | Leu | Phe | Pro | Tyr | Leu | Val | Ser | Ala | Asp | Gly | Thr | Thr | 705 | 710 | 715 |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 720 |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
| Val | Thr | Ser | Gly | Ser | Thr | Lys | Asp | Thr | Ser | Leu | Gln | Ala | Pro | Pro | Ser |  |
|     |     |     |     | 725 |     |     |     |     | 730 |     |     |     |     |     | 735 |  |
| Tyr | Glu | Glu | Ser | Val | Tyr | Asn | Ser | Gly | Arg | Lys | Gly | Pro | Gly | Pro | Pro |  |
|     |     |     | 740 |     |     |     |     | 745 |     |     |     |     | 750 |     |     |  |
| Ser | Ser | Asp | Ala | Ser | Thr | Ala | Ala | Pro | Pro | Tyr | Thr | Asn | Glu | Gln | Ala |  |
|     |     | 755 |     |     |     |     | 760 |     |     |     |     | 765 |     |     |     |  |
| Tyr | Gln | Met | Leu | Leu | Ala | Leu | Ala | Arg | Leu | Asp | Ala | Glu | Gln | Arg | Ala |  |
|     | 770 |     |     |     |     | 775 |     |     |     |     | 780 |     |     |     |     |  |
| Gln | Gln | Asn | Gly | Thr | Asp | Ser | Leu | Asp | Gly | Gln | Thr | Gly | Thr | Gln | Asp |  |
| 785 |     |     |     |     | 790 |     |     |     |     | 795 |     |     |     |     | 800 |  |
| Lys | Gly | Gln | Lys | Pro | Asn | Leu | Leu | Asp | Arg | Leu | Arg | His | Arg | Lys | Asn |  |
|     |     |     |     | 805 |     |     |     |     | 810 |     |     |     |     | 815 |     |  |
| Gly | Tyr | Arg | His | Leu | Lys | Asp | Ser | Asp | Glu | Glu | Glu | Asn | Val |     |     |  |
|     |     |     | 820 |     |     |     |     | 825 |     |     |     |     | 830 |     |     |  |

<210> 3

<211> 830

5 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

10 <223> Citomegalovirus AD169

<400> 3

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
| Met | Glu | Ser | Arg | Ile | Trp | Cys | Leu | Val | Val | Cys | Val | Asn | Leu | Cys | Ile |  |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |  |
| Val | Cys | Leu | Gly | Ala | Ala | Val | Ser | Ser | Ser | Ser | Thr | Ser | His | Ala | Thr |  |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |  |
| Ser | Ser | Thr | His | Asn | Gly | Ser | His | Thr | Ser | Arg | Thr | Thr | Ser | Ala | Gln |  |
|     |     | 35  |     |     |     | 40  |     |     |     |     |     | 45  |     |     |     |  |
| Thr | Ser | Ser | Val | Tyr | Ser | Gln | His | Val | Thr | Ser | Ser | Glu | Ala | Val | Ser |  |
|     | 50  |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |     |  |
| His | Arg | Ala | Asn | Glu | Thr | Ile | Tyr | Asn | Thr | Thr | Leu | Lys | Tyr | Gly | Asp |  |
| 65  |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     |     | 80  |  |
| Val | Val | Gly | Val | Asn | Thr | Thr | Lys | Tyr | Pro | Tyr | Arg | Val | Cys | Ser | Met |  |
|     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |     |  |
| Ala | Gln | Gly | Thr | Asp | Leu | Ile | Arg | Phe | Glu | Arg | Asn | Ile | Ile | Cys | Thr |  |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     | 110 |     |     |     |  |
| Ser | Met | Lys | Pro | Ile | Asn | Glu | Asp | Leu | Asp | Glu | Gly | Ile | Met | Val | Val |  |
|     |     | 115 |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |     |  |
| Tyr | Lys | Arg | Asn | Ile | Val | Ala | His | Thr | Phe | Lys | Val | Arg | Val | Tyr | Gln |  |
|     | 130 |     |     |     | 135 |     |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |  |
| Lys | Val | Leu | Thr | Phe | Arg | Ser | Tyr | Ala | Gly | His | Arg | Thr | Thr | Tyr |     |  |
| 145 |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     |     | 160 |  |
| Leu | Leu | Gly | Ser | Asn | Thr | Glu | Tyr | Val | Ala | Pro | Pro | Met | Trp | Glu | Ile |  |
|     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |     |  |
| His | His | Ile | Asn | Lys | Phe | Ala | Gln | Cys | Tyr | Ser | Ser | Tyr | Ser | Arg | Val |  |
|     |     | 180 |     |     |     |     |     | 185 |     |     |     | 190 |     |     |     |  |
| Ile | Gly | Gly | Thr | Val | Phe | Val | Ala | Tyr | His | Arg | Asp | Ser | Tyr | Glu | Asn |  |
|     |     | 195 |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |     |  |
| Lys | Thr | Met | Gln | Leu | Ile | Pro | Asp | Asp | Tyr | Ser | Asn | Thr | His | Ser | Thr |  |
|     | 210 |     |     |     | 215 |     |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |  |
| Arg | Tyr | Val | Thr | Val | Lys | Asp | Gln | Trp | His | Ser | Arg | Gly | Ser | Thr | Ala |  |
| 225 |     |     |     | 230 |     |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |  |
| Phe | His | Arg | Glu | Thr | Cys | Asn | Leu | Asn | Cys | Met | Leu | Thr | Ile | Thr | Thr |  |
|     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |     |  |
| Ala | Arg | Ser | Lys | Tyr | Pro | Tyr | His | Phe | Phe | Ala | Thr | Ser | Thr | Gly | Asp |  |
|     |     | 260 |     |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |  |
| Val | Val | Tyr | Ile | Ser | Pro | Phe | Tyr | Asn | Gly | Thr | Asn | Arg | Asn | Ala | Ser |  |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
| Tyr | Phe | Gly | Glu | Asn | Ala | Asp | Lys | Phe | Phe | Ile | Phe | Pro | Asn | Tyr | Thr |  |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |  |
| Ile | Val | Ser | Asp | Phe | Gly | Arg | Pro | Asn | Ala | Ala | Pro | Glu | Thr | His | Arg |  |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |  |
| Leu | Val | Ala | Phe | Leu | Glu | Arg | Ala | Asp | Ser | Val | Ile | Ser | Trp | Asp | Ile |  |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |  |
| Gln | Asp | Glu | Lys | Asn | Val | Thr | Cys | Gln | Leu | Thr | Phe | Trp | Glu | Ala | Ser |  |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |  |
| Glu | Arg | Thr | Ile | Ser | Ser | Glu | Ala | Glu | Asp | Ser | Tyr | His | Phe | Ser | Ser |  |
|     |     |     | 355 |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |  |
| Ala | Lys | Met | Thr | Ala | Thr | Phe | Leu | Ser | Lys | Lys | Gln | Glu | Val | Asn | Met |  |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |  |
| Ser | Asp | Ser | Ala | Leu | Asp | Cys | Val | Arg | Asp | Glu | Ala | Ile | Asn | Lys | Leu |  |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |  |
| Gln | Gln | Ile | Phe | Asn | Thr | Ser | Tyr | Asn | Gln | Thr | Tyr | Glu | Lys | Tyr | Gly |  |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |  |
| Asn | Val | Ser | Val | Phe | Glu | Thr | Ser | Gly | Gly | Leu | Val | Val | Phe | Trp | Gln |  |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |  |
| Gly | Ile | Lys | Gln | Lys | Ser | Leu | Val | Glu | Leu | Glu | Arg | Leu | Ala | Asn | Arg |  |
|     |     |     | 435 |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |  |
| Ser | Ser | Leu | Asn | Ile | Thr | His | Thr | Thr | Gln | Thr | Ser | Thr | Ser | Asp | Asn |  |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |  |
| Asn | Thr | Thr | His | Leu | Ser | Ser | Met | Glu | Ser | Val | His | Asn | Leu | Val | Tyr |  |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |  |
| Ala | Gln | Leu | Gln | Phe | Thr | Tyr | Asp | Thr | Leu | Arg | Gly | Tyr | Ile | Asn | Arg |  |
|     |     |     |     | 485 |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     | 495 |     |  |
| Ala | Leu | Ala | Gln | Ile | Ala | Glu | Ala | Trp | Cys | Val | Asp | Gln | Arg | Arg | Thr |  |
|     |     |     | 500 |     |     |     |     | 505 |     |     |     |     | 510 |     |     |  |
| Leu | Glu | Val | Phe | Lys | Glu | Leu | Ser | Lys | Ile | Asn | Pro | Ser | Ala | Ile | Leu |  |
|     |     | 515 |     |     |     |     | 520 |     |     |     |     | 525 |     |     |     |  |
| Ser | Ala | Ile | Tyr | Asn | Lys | Pro | Ile | Ala | Ala | Arg | Phe | Met | Gly | Asp | Val |  |
|     | 530 |     |     |     |     | 535 |     |     |     |     | 540 |     |     |     |     |  |
| Leu | Gly | Leu | Ala | Ser | Cys | Val | Thr | Ile | Asn | Gln | Thr | Ser | Val | Lys | Val |  |
| 545 |     |     |     |     | 550 |     |     |     |     | 555 |     |     |     |     | 560 |  |
| Leu | Arg | Asp | Met | Asn | Val | Lys | Glu | Ser | Pro | Gly | Arg | Cys | Tyr | Ser | Arg |  |
|     |     |     |     | 565 |     |     |     |     | 570 |     |     |     |     | 575 |     |  |
| Pro | Val | Val | Ile | Phe | Asn | Phe | Ala | Asn | Ser | Ser | Tyr | Val | Gln | Tyr | Gly |  |
|     |     |     | 580 |     |     |     |     | 585 |     |     |     |     | 590 |     |     |  |
| Gln | Leu | Gly | Glu | Asp | Asn | Glu | Ile | Leu | Leu | Gly | Asn | His | Arg | Thr | Glu |  |
|     |     | 595 |     |     |     |     | 600 |     |     |     |     | 605 |     |     |     |  |
| Glu | Cys | Gln | Leu | Pro | Ser | Leu | Lys | Ile | Phe | Ile | Ala | Gly | Asn | Ser | Ala |  |
|     | 610 |     |     |     |     | 615 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
|     | 755 |     |     |     |     | 760 |     |     |     |     | 765 |     |     |     |     |  |
| Tyr | Gln | Met | Leu | Leu | Ala | Leu | Ala | Arg | Leu | Asp | Ala | Glu | Gln | Arg | Ala |  |
|     | 770 |     |     |     |     | 775 |     |     |     |     | 780 |     |     |     |     |  |
| Gln | Gln | Asn | Gly | Thr | Asp | Ser | Leu | Asp | Gly | Gln | Thr | Gly | Thr | Gln | Asp |  |
| 785 |     |     |     |     | 790 |     |     |     |     | 795 |     |     |     |     | 800 |  |
| Lys | Gly | Gln | Lys | Pro | Asn | Leu | Leu | Asp | Arg | Leu | Arg | His | Arg | Lys | Asn |  |
|     |     |     |     | 805 |     |     |     |     | 810 |     |     |     |     | 815 |     |  |
| Gly | Tyr | Arg | His | Leu | Lys | Asp | Ser | Asp | Glu | Glu | Glu | Asn | Val |     |     |  |
|     |     |     | 820 |     |     |     |     | 825 |     |     |     |     | 830 |     |     |  |

<210> 4

<211> 777

5 <212> PRT

### <213> Secuencia Artificial

$\langle 220 \rangle$

<223> Citomegalovirus AD169

10

$\langle 400 \rangle$  4

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Glu | Ser | Arg | Ile | Trp | Cys | Leu | Val | Val | Cys | Val | Asn | Leu | Cys | Ile |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     | 15  |     |     |
| Val | Cys | Leu | Gly | Ala | Ala | Val | Ser | Ser | Ser | Ser | Thr | Ser | His | Ala | Thr |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Ser | Ser | Thr | His | Asn | Gly | Ser | His | Thr | Ser | Arg | Thr | Thr | Ser | Ala | Gln |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Thr | Ser | Ser | Val | Tyr | Ser | Gln | His | Val | Thr | Ser | Ser | Glu | Ala | Val | Ser |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| His | Arg | Ala | Asn | Glu | Thr | Ile | Tyr | Asn | Thr | Thr | Leu | Lys | Tyr | Gly | Asp |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Val | Val | Gly | Val | Asn | Thr | Thr | Lys | Tyr | Pro | Tyr | Arg | Val | Cys | Ser | Met |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Ala | Gln | Gly | Thr | Asp | Leu | Ile | Arg | Phe | Glu | Arg | Asn | Ile | Ile | Cys | Thr |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Ser | Met | Lys | Pro | Ile | Asn | Glu | Asp | Leu | Asp | Glu | Gly | Ile | Met | Val | Val |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Tyr | Lys | Arg | Asn | Ile | Val | Ala | His | Thr | Phe | Lys | Val | Arg | Val | Tyr | Gln |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Lys | Val | Leu | Thr | Phe | Arg | Arg | Ser | Tyr | Ala | Gly | His | Arg | Thr | Thr | Tyr |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Leu | Leu | Gly | Ser | Asn | Thr | Glu | Tyr | Val | Ala | Pro | Pro | Met | Trp | Glu | Ile |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| His | His | Ile | Asn | Lys | Phe | Ala | Gln | Cys | Tyr | Ser | Ser | Tyr | Ser | Arg | Val |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| Ile | Gly | Gly | Thr | Val | Phe | Val | Ala | Tyr | His | Arg | Asp | Ser | Tyr | Glu | Asn |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Lys | Thr | Met | Gln | Leu | Ile | Pro | Asp | Asp | Tyr | Ser | Asn | Thr | His | Ser | Thr |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Arg | Tyr | Val | Thr | Val | Lys | Asp | Gln | Trp | His | Ser | Arg | Gly | Ser | Thr | Ala |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Phe | His | Arg | Glu | Thr | Cys | Asn | Leu | Asn | Cys | Met | Leu | Thr | Ile | Thr | Thr |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Ala | Arg | Ser | Lys | Tyr | Pro | Tyr | His | Phe | Phe | Ala | Thr | Ser | Thr | Gly | Asp |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Val | Val | Tyr | Ile | Ser | Pro | Phe | Tyr | Asn | Gly | Thr | Asn | Arg | Asn | Ala | Ser |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Tyr | Phe | Gly | Glu | Asn | Ala | Asp | Lys | Phe | Phe | Ile | Phe | Pro | Asn | Tyr | Thr |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Ile | Val | Ser | Asp | Phe | Gly | Arg | Pro | Asn | Ala | Ala | Pro | Glu | Thr | His | Arg |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Leu | Val | Ala | Phe | Leu | Glu | Arg | Ala | Asp | Ser | Val | Ile | Ser | Trp | Asp | Ile | 325 | 330 | 335 |
| Gln | Asp | Glu | Lys | Asn | Val | Thr | Cys | Gln | Leu | Thr | Phe | Trp | Glu | Ala | Ser | 340 | 345 | 350 |
| Glu | Arg | Thr | Ile | Ser | Ser | Glu | Ala | Glu | Asp | Ser | Tyr | His | Phe | Ser | Ser | 355 | 360 | 365 |
| Ala | Lys | Met | Thr | Ala | Thr | Phe | Leu | Ser | Lys | Lys | Gln | Glu | Val | Asn | Met | 370 | 375 | 380 |
| Ser | Asp | Ser | Ala | Leu | Asp | Cys | Val | Arg | Asp | Glu | Ala | Ile | Asn | Lys | Leu | 385 | 390 | 395 |
| Gln | Gln | Ile | Phe | Asn | Thr | Ser | Tyr | Asn | Gln | Thr | Tyr | Glu | Lys | Tyr | Gly | 405 | 410 | 415 |
| Asn | Val | Ser | Val | Phe | Glu | Thr | Ser | Gly | Gly | Leu | Val | Val | Phe | Trp | Gln | 420 | 425 | 430 |
| Gly | Ile | Lys | Gln | Lys | Ser | Leu | Val | Glu | Leu | Glu | Arg | Leu | Ala | Asn | Arg | 435 | 440 | 445 |
| Ser | Ser | Leu | Asn | Ile | Thr | His | Thr | Thr | Gln | Thr | Ser | Thr | Ser | Asp | Asn | 450 | 455 | 460 |
| Asn | Thr | Thr | His | Leu | Ser | Ser | Met | Glu | Ser | Val | His | Asn | Leu | Val | Tyr | 465 | 470 | 475 |
| Ala | Gln | Leu | Gln | Phe | Thr | Tyr | Asp | Thr | Leu | Arg | Gly | Tyr | Ile | Asn | Arg | 485 | 490 | 495 |
| Ala | Leu | Ala | Gln | Ile | Ala | Glu | Ala | Trp | Cys | Val | Asp | Gln | Arg | Arg | Thr | 500 | 505 | 510 |
| Leu | Glu | Val | Phe | Lys | Glu | Leu | Ser | Lys | Ile | Asn | Pro | Ser | Ala | Ile | Leu | 515 | 520 | 525 |
| Ser | Ala | Ile | Tyr | Asn | Lys | Pro | Ile | Ala | Ala | Arg | Phe | Met | Gly | Asp | Val | 530 | 535 | 540 |
| Leu | Gly | Leu | Ala | Ser | Cys | Val | Thr | Ile | Asn | Gln | Thr | Ser | Val | Lys | Val | 545 | 550 | 555 |
| Leu | Arg | Asp | Met | Asn | Val | Lys | Glu | Ser | Pro | Gly | Arg | Cys | Tyr | Ser | Arg | 565 | 570 | 575 |
| Pro | Val | Val | Ile | Phe | Asn | Phe | Ala | Asn | Ser | Ser | Tyr | Val | Gln | Tyr | Gly | 580 | 585 | 590 |
| Gln | Leu | Gly | Glu | Asp | Asn | Glu | Ile | Leu | Leu | Gly | Asn | His | Arg | Thr | Glu | 595 | 600 | 605 |
| Glu | Cys | Gln | Leu | Pro | Ser | Leu | Lys | Ile | Phe | Ile | Ala | Gly | Asn | Ser | Ala | 610 | 615 | 620 |
| Tyr | Glu | Tyr | Val | Asp | Tyr | Leu | Phe | Lys | Arg | Met | Ile | Asp | Leu | Ser | Ser | 625 | 630 | 635 |
| Ile | Ser | Thr | Val | Asp | Ser | Met | Ile | Ala | Leu | Asp | Ile | Asp | Pro | Leu | Glu | 645 | 650 | 655 |
| Asn | Thr | Asp | Phe | Arg | Val | Leu | Glu | Leu | Tyr | Ser | Gln | Lys | Glu | Leu | Arg | 660 | 665 | 670 |
| Ser | Ser | Asn | Val | Phe | Asp | Leu | Glu | Glu | Ile | Met | Arg | Glu | Phe | Asn | Ser | 675 | 680 | 685 |
| Tyr | Lys | Gln | Arg | Val | Lys | Tyr | Val | Glu | Asp | Lys | Arg | Leu | Ala | Thr | Gln | 690 | 695 | 700 |
| Pro | Leu | Gln | Asn | Leu | Phe | Pro | Tyr | Leu | Val | Ser | Ala | Asp | Gly | Thr | Thr | 705 | 710 | 715 |
| Val | Thr | Ser | Gly | Ser | Thr | Lys | Asp | Thr | Ser | Leu | Gln | Ala | Pro | Pro | Ser | 725 | 730 | 735 |
| Tyr | Glu | Glu | Ser | Val | Tyr | Asn | Ser | Gly | Arg | Lys | Gly | Gly | Gln | Lys | Pro | 740 | 745 | 750 |
| Asn | Leu | Leu | Asp | Arg | Leu | Arg | His | Arg | Lys | Asn | Gly | Tyr | Arg | His | Leu | 755 | 760 | 765 |
| Lys | Asp | Ser | Asp | Glu | Glu | Glu | Asn | Val |     |     |     |     |     |     |     | 770 | 775 |     |

<210> 5  
<211> 777  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

5

<220>  
<223> Citomegalovirus AD169

10

<400> 5

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Glu | Ser | Arg | Ile | Trp | Cys | Leu | Val | Val | Cys | Val | Asn | Leu | Cys | Ile |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Val | Cys | Leu | Gly | Ala | Ala | Val | Ser | Ser | Ser | Ser | Thr | Ser | His | Ala | Thr |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Ser | Ser | Thr | His | Asn | Gly | Ser | His | Thr | Ser | Arg | Thr | Thr | Ser | Ala | Gln |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Thr | Ser | Ser | Val | Tyr | Ser | Gln | His | Val | Thr | Ser | Ser | Glu | Ala | Val | Ser |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| His | Arg | Ala | Asn | Glu | Thr | Ile | Tyr | Asn | Thr | Thr | Leu | Lys | Tyr | Gly | Asp |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Val | Val | Gly | Val | Asn | Thr | Thr | Lys | Tyr | Pro | Tyr | Arg | Val | Cys | Ser | Met |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Ala | Gln | Gly | Thr | Asp | Leu | Ile | Arg | Phe | Glu | Arg | Asn | Ile | Ile | Cys | Thr |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Ser | Met | Lys | Pro | Ile | Asn | Glu | Asp | Leu | Asp | Glu | Gly | Ile | Met | Val | Val |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Tyr | Lys | Arg | Asn | Ile | Val | Ala | His | Thr | Phe | Lys | Val | Arg | Val | Tyr | Gln |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Lys | Val | Leu | Thr | Phe | Arg | Arg | Ser | Tyr | Ala | Gly | His | Arg | Thr | Thr | Tyr |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Leu | Leu | Gly | Ser | Asn | Thr | Glu | Tyr | Val | Ala | Pro | Pro | Met | Trp | Glu | Ile |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| His | His | Ile | Asn | Lys | Phe | Ala | Gln | Cys | Tyr | Ser | Ser | Tyr | Ser | Arg | Val |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| Ile | Gly | Gly | Thr | Val | Phe | Val | Ala | Tyr | His | Arg | Asp | Ser | Tyr | Glu | Asn |
|     | 195 |     |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Lys | Thr | Met | Gln | Leu | Ile | Pro | Asp | Asp | Tyr | Ser | Asn | Thr | His | Ser | Thr |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Arg | Tyr | Val | Thr | Val | Lys | Asp | Gln | Trp | His | Ser | Arg | Gly | Ser | Thr | Trp |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Leu | Tyr | Arg | Glu | Thr | Cys | Asn | Leu | Asn | Cys | Met | Leu | Thr | Ile | Thr | Thr |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Ala | Arg | Ser | Lys | Tyr | Pro | Tyr | His | Phe | Phe | Ala | Thr | Ser | Thr | Gly | Asp |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Val | Val | Tyr | Ile | Ser | Pro | Phe | Tyr | Asn | Gly | Thr | Asn | Arg | Asn | Ala | Ser |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Tyr | Phe | Gly | Glu | Asn | Ala | Asp | Lys | Phe | Phe | Ile | Phe | Pro | Asn | Tyr | Thr |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Ile | Val | Ser | Asp | Phe | Gly | Arg | Pro | Asn | Ala | Ala | Pro | Glu | Thr | His | Arg |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Leu | Val | Ala | Phe | Leu | Glu | Arg | Ala | Asp | Ser | Val | Ile | Ser | Trp | Asp | Ile |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Gln | Asp | Glu | Lys | Asn | Val | Thr | Cys | Gln | Leu | Thr | Phe | Trp | Glu | Ala | Ser |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Glu | Arg | Thr | Ile | Ser | Ser | Glu | Ala | Glu | Asp | Ser | Tyr | His | Phe | Ser | Ser |
|     |     | 355 |     |     |     | 360 |     |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Ala | Lys | Met | Thr | Ala | Thr | Phe | Leu | Ser | Lys | Lys | Gln | Glu | Val | Asn | Met |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Ser | Asp | Ser | Ala | Leu | Asp | Cys | Val | Arg | Asp | Glu | Ala | Ile | Asn | Lys | Leu |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Gln | Gln | Ile | Phe | Asn | Thr | Ser | Tyr | Asn | Gln | Thr | Tyr | Glu | Lys | Tyr | Gly |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |  |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|--|--|
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |  |  |  |  |
| Asn | Val | Ser | Val | Phe | Glu | Thr | Ser | Gly | Gly | Leu | Val | Val | Phe | Trp | Gln |  |  |  |  |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |  |  |  |  |
| Gly | Ile | Lys | Gln | Lys | Ser | Leu | Val | Glu | Leu | Glu | Arg | Leu | Ala | Asn | Arg |  |  |  |  |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |  |  |  |  |
| Ser | Ser | Leu | Asn | Ile | Thr | His | Thr | Thr | Gln | Thr | Ser | Thr | Ser | Asp | Asn |  |  |  |  |
|     | 450 |     |     |     | 455 |     |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |  |  |  |  |
| Asn | Thr | Thr | His | Leu | Ser | Ser | Met | Glu | Ser | Val | His | Asn | Leu | Val | Tyr |  |  |  |  |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |  |  |  |  |
| Ala | Gln | Leu | Gln | Phe | Thr | Tyr | Asp | Thr | Leu | Arg | Gly | Tyr | Ile | Asn | Arg |  |  |  |  |
|     |     |     | 485 |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     |     | 495 |     |  |  |  |  |
| Ala | Leu | Ala | Gln | Ile | Ala | Glu | Ala | Trp | Cys | Val | Asp | Gln | Arg | Arg | Thr |  |  |  |  |
|     |     |     | 500 |     |     |     |     | 505 |     |     |     |     |     | 510 |     |  |  |  |  |
| Leu | Glu | Val | Phe | Lys | Glu | Leu | Ser | Lys | Ile | Asn | Pro | Ser | Ala | Ile | Leu |  |  |  |  |
|     |     | 515 |     |     |     |     | 520 |     |     |     |     |     |     | 525 |     |  |  |  |  |
| Ser | Ala | Ile | Tyr | Asn | Lys | Pro | Ile | Ala | Ala | Arg | Phe | Met | Gly | Asp | Val |  |  |  |  |
|     | 530 |     |     |     | 535 |     |     |     |     | 540 |     |     |     |     |     |  |  |  |  |
| Leu | Gly | Leu | Ala | Ser | Cys | Val | Thr | Ile | Asn | Gln | Thr | Ser | Val | Lys | Val |  |  |  |  |
| 545 |     |     |     |     | 550 |     |     |     |     | 555 |     |     |     |     | 560 |  |  |  |  |
| Leu | Arg | Asp | Met | Asn | Val | Lys | Glu | Ser | Pro | Gly | Arg | Cys | Tyr | Ser | Arg |  |  |  |  |
|     |     |     | 565 |     |     |     |     | 570 |     |     |     |     |     |     | 575 |  |  |  |  |
| Pro | Val | Val | Ile | Phe | Asn | Phe | Ala | Asn | Ser | Ser | Tyr | Val | Gln | Tyr | Gly |  |  |  |  |
|     |     |     | 580 |     |     |     |     | 585 |     |     |     |     |     | 590 |     |  |  |  |  |
| Gln | Leu | Gly | Glu | Asp | Asn | Glu | Ile | Leu | Leu | Gly | Asn | His | Arg | Thr | Glu |  |  |  |  |
|     |     | 595 |     |     |     |     | 600 |     |     |     |     |     |     | 605 |     |  |  |  |  |
| Glu | Cys | Gln | Leu | Pro | Ser | Leu | Lys | Ile | Phe | Ile | Ala | Gly | Asn | Ser | Ala |  |  |  |  |
|     | 610 |     |     |     |     | 615 |     |     |     |     |     |     |     | 620 |     |  |  |  |  |
| Tyr | Glu | Tyr | Val | Asp | Tyr | Leu | Phe | Lys | Arg | Met | Ile | Asp | Leu | Ser | Ser |  |  |  |  |
| 625 |     |     |     |     | 630 |     |     |     |     | 635 |     |     |     |     | 640 |  |  |  |  |
| Ile | Ser | Thr | Val | Asp | Ser | Met | Ile | Ala | Leu | Asp | Ile | Asp | Pro | Leu | Glu |  |  |  |  |
|     |     |     | 645 |     |     |     |     | 650 |     |     |     |     |     |     | 655 |  |  |  |  |
| Asn | Thr | Asp | Phe | Arg | Val | Leu | Glu | Leu | Tyr | Ser | Gln | Lys | Glu | Leu | Arg |  |  |  |  |
|     |     |     | 660 |     |     |     |     | 665 |     |     |     |     |     | 670 |     |  |  |  |  |
| Ser | Ser | Asn | Val | Phe | Asp | Leu | Glu | Glu | Ile | Met | Arg | Glu | Phe | Asn | Ser |  |  |  |  |
|     |     | 675 |     |     |     |     | 680 |     |     |     |     |     |     | 685 |     |  |  |  |  |
| Tyr | Lys | Gln | Arg | Val | Lys | Tyr | Val | Glu | Asp | Lys | Arg | Leu | Ala | Thr | Gln |  |  |  |  |
|     | 690 |     |     |     | 695 |     |     |     |     | 700 |     |     |     |     |     |  |  |  |  |
| Pro | Leu | Gln | Asn | Leu | Phe | Pro | Tyr | Leu | Val | Ser | Ala | Asp | Gly | Thr | Thr |  |  |  |  |
| 705 |     |     |     |     | 710 |     |     |     |     | 715 |     |     |     |     | 720 |  |  |  |  |
| Val | Thr | Ser | Gly | Ser | Thr | Lys | Asp | Thr | Ser | Leu | Gln | Ala | Pro | Pro | Ser |  |  |  |  |
|     |     |     | 725 |     |     |     |     | 730 |     |     |     |     |     |     | 735 |  |  |  |  |
| Tyr | Glu | Glu | Ser | Val | Tyr | Asn | Ser | Gly | Arg | Lys | Gly | Gly | Gln | Lys | Pro |  |  |  |  |
|     |     |     | 740 |     |     |     |     | 745 |     |     |     |     |     | 750 |     |  |  |  |  |
| Asn | Leu | Leu | Asp | Arg | Leu | Arg | His | Arg | Lys | Asn | Gly | Tyr | Arg | His | Leu |  |  |  |  |
|     |     | 755 |     |     |     |     | 760 |     |     |     |     |     |     | 765 |     |  |  |  |  |
| Lys | Asp | Ser | Asp | Glu | Glu | Glu | Asn | Val |     |     |     |     |     |     |     |  |  |  |  |
|     | 770 |     |     |     |     |     | 775 |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |  |  |

<210> 6  
 <211> 2490  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia Artificial

<220>  
 <223> Citomegalovirus AD169

<400> 6

atggagagca ggatctggtg cctggtggtg tgcgtgaacc tgtgcatcgt gtgcctggga 60  
gccgccgtga gcagcagcag cacctcccac gccacctcca gcaccacaaa cggcagccac 120

accagcagga ccacctccgc ccagaccagc agcgtgtaca gccagcacgt gacctcttcc 180  
gaggccgtga gccacagggc caacgagaca atctacaaca ccacctgaa gtacggcgac 240  
gtggtgggag tgaacaccac caagtacccc tacagagtgt gcagcatggc ccagggcacc 300  
gacctgatca gattcgagcg gaacatcatc tgcaccagca tgaagcccat caacgaggac 360  
ctggacgagg gcatcatggt ggtgtacaag aggaacatcg tggcccacac cttcaaggtc 420  
cgcggtgacc agaaggtgct gaccttcagg cggagctacg ccggccacag gaccacctac 480  
ctgctgggca gcaacaccga gtacgtggcc ccacctatgt gggagatcca ccacatcaac 540  
aagttcgccc agtgctacag cagctacagc cgcgtgatcg gcggcacctg gtctgtggcc 600  
taccacaggg acagctacga gaacaagacc atgcagctga tccccgacga ctacagcaac 660  
acccacagca ccagatacgt gaccgtgaag gaccagtggc acagcagggg cagcacccgc 720  
ttccacagag agacatgcaa cctgaactgc atgctgacca tcaccaccgc cagaagcaag 780  
taccttacc acttcttcgc cacctctacc ggggacgtgg tgtacatcag ccccttctac 840  
aacggcacca acaggaacgc cagctacttc ggcgagaacg ccgacaagtt cttcatcttc 900  
cccaactaca ccatcgtgtc cgacttcggc aggcccaacg ctgccccga gacacacaga 960  
ctggtggcct ttctggagag ggccgacagc gtgatcagct gggacatcca ggacgagaag 1020  
aacgtgacct gccagctgac cttctgggag gccagcgaga ggaccatcag cagcgaggcc 1080  
gaggacagct accacttcag cagcgccaag atgaccgcca ccttctctgag caagaaacaa 1140  
gaggtgaaca tgagcgacag cgccctggac tgcgtgaggg acgaggccat caacaagctg 1200  
cagcagatct tcaacaccag ctacaaccag acctacgaga agtacggaaa cgtgtccgtg 1260  
ttcgagacaa gcggcggaact ggtggtgttc tggcagggca tcaagcagaa gtccctggtc 1320  
gagctggaga ggctggccaa caggtccagc ctgaacatca cccacaccac ccagaccagc 1380  
accagcgaca acaacaccac acacctgagc agcatggaaa gcgtgcacaa cctggtgtat 1440  
gccagctgc agttcaccta cgacacctg aggggctaca tcaacagagc cctggcccag 1500  
atcgccgagg cttggtgcgt ggaccagaga aggacctgg aggtgttcaa ggaactgtcc 1560  
aagatcaacc ccagcgccat cctgagcgcc atctacaaca agccaatcgc cgccagattc 1620  
atgggcgacg tgcctgggct ggccagctgc gtgaccatca accagaccag cgtgaagggtg 1680  
ctgcgggaca tgaacgtgaa ggaaagccca ggccgctgct actccaggcc cgtggtgate 1740  
ttcaacttcg ccaacagctc ctacgtgcag tacggccagc tgggcgagga caacgagatc 1800  
ctgctgggaa accacaggac cgaggaatgc cagctgcccc gcctgaagat ctttatcgcc 1860  
ggcaactccg cctacgagta cgtggactac ctgttcaaga ggatgatcga cctgtccagc 1920  
atcagcaccg tggacagcat gatcgccctg gatatcgatc ccctggagaa caccgacttc 1980  
aggggtgctg agctgtactc ccagaaggaa ctgaggtcca gcaacgtgtt cgacctggag 2040  
gaaatcatga gagagttcaa cagctacaag cagcgctga agtacgtgga ggacaagagg 2100  
ctgtgcaccc agcccctgca gaacctgttc ccctacctgg tgtccgcca cggcaccacc 2160  
gtgaccagcg gctccaccaa ggacaccagc ctgcaggccc ctcccagcta cgaggaaagc 2220  
gtgtacaaca gcggcaggaa gggcccaggc cccccaagca gcgacgccag cacagccgcc 2280  
ccacctaca ccaacgagca ggccctaccag atgctgctgg ccctggcccg gctggacgcc 2340  
gagcagaggg cccagcagaa cggcaccgac agcctggacg gccagaccgg caccaggac 2400  
aagggccaga agcccaacct gctggacagg ctgaggcaca ggaagaacgg ctacaggcac 2460  
ctgaaggaca gcgacgagga agaaaacgtg 2490

<210> 7  
<211> 2331  
5 <212> ADN  
<213> Secuencia Artificial

<220>  
<223> AD169 Citomegalovirus

<400> 7

```

atggagagca ggatctggtg cctggtggtg tgcgtgaacc tgtgcatcgt gtgcctggga 60
gccgccgtga gcagcagcag cacctccac gccacctcca gacccacaa cggcagccac 120
accagcagga ccacctccgc ccagaccagc agcgtgtaca gccagcacgt gacctcttc 180
gaggccgtga gccacagggc caacgagaca atctacaaca ccacctgaa gtacggcgac 240
gtggtgggag tgaacaccac caagtacccc tacagagtgt gcagcatggc ccagggcacc 300
gacctgatca gattcgagcg gaacatcatc tgcaccagca tgaagcccat caacgaggac 360
ctggacgagg gcatcatggt ggtgtacaag aggaacatcg tggcccacac cttcaaggtc 420
cgcggtgtacc agaaggtgct gaccttcagg cggagctacg ccggccacag gaccacctac 480
ctgctgggca gcaacaccga gtacgtggcc ccacccatgt gggagatcca ccacatcaac 540
aagttcgccc agtgctacag cagctacagc cgcgtgatcg gcggcacctg gttcgtggcc 600

```

```

taccacaggg acagctacga gaacaagacc atgcagctga tccccgacga ctacagcaac 660
acccacagca ccagatacgt gaccgtgaag gaccagtggc acagcagggg cagcacctgg 720
ctgtacagag agacatgcaa cctgaactgc atgctgacca tcaccaccgc cagaagcaag 780
taccttacc acttcttcgc cacctctacc ggggacgtgg tgtacatcag ccccttctac 840
aacggcacca acaggaacgc cagctacttc ggcgagaacg ccgacaagtt cttcatcttc 900
cccaactaca ccacgtgtc cgacttcggc agggcccaacg ctgccccga gacacacaga 960
ctggtggcct ttctggagag ggccgacagc gtgatcagct gggacatcca ggacgagaag 1020
aacgtgacct gccagctgac cttctgggag gccagcgaga ggaccatcag cagcgaggcc 1080
gaggacagct accacttcag cagcgccaag atgacgcgca ccttcctgag caagaaacaa 1140
gaggtgaaca tgagcgacag cgccctggac tgcgtgaggg acgaggccat caacaagctg 1200
cagcagatct tcaacaccag ctacaaccag acctacgaga agtacggaaa cgtgtccgtg 1260
ttcgagacaa gcggcggaact ggtggtgttc tggcagggca tcaagcagaa gtccctggtc 1320
gagctggaga ggctggccaa caggtccagc ctgaacatca cccacaccac ccagaccagc 1380
accagcgaca acaacaccac acacctgagc agcatggaaa gcgtgcacaa cctggtgtat 1440
gcccagctgc agttcaccta cgacaccctg aggggctaca tcaacagagc cctggcccag 1500
atcgccgagg cttggtgctg ggaccagaga aggaccctgg aggtgttcaa ggaactgtcc 1560
aagatcaacc ccagcgccat cctgagcgcc atctacaaca agccaatcgc cgccagattc 1620
atgggcgacg tgctgggcct ggccagctgc gtgacctca accagaccag cgtgaagggtg 1680
ctgcgggaca tgaacgtgaa ggaaagccca ggccgctgct actccaggcc cgtggtgatc 1740
ttcaacttcg ccaacagctc ctacgtgcag tacggccagc tgggcgagga caacgagatc 1800
ctgctgggaa accacaggac cgaggaatgc cagctgccc a gctgaagat ctttatcgcc 1860
ggcaactccg cctacgagta cgtggactac ctgttcaaga ggatgatcga cctgtccagc 1920
atcagcaccg tggacagcat gatcgccctg gatatogate ccctggagaa caccgacttc 1980
aggggtgctg agctgtactc ccagaaggaa ctgaggtcca gcaacgtgtt cgacctggag 2040
gaaatcatga gagagttcaa cagctacaag cagcgcgtga agtacgtgga ggacaagagg 2100
ctggccacc cagccctgca gaacctgttc cctacctgg tgtccgccga cggcaccacc 2160
gtgaccagcg gctccaccaa ggacaccagc ctgcaggccc ctcccagcta cgaggaaagc 2220
gtgtacaaca gcggcaggaa gggcggccag aagcccaacc tgctggacag gctgaggcac 2280
aggaagaacg gctacaggca cctgaaggac agcgacgagg aagaaaacgt g 2331

```

<210> 8

<211> 2331

5 <212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Citomegalovirus AD169

10

<400> 8

# ES 2 635 014 T3

|             |            |            |             |            |             |      |
|-------------|------------|------------|-------------|------------|-------------|------|
| atggagagca  | ggatctggtg | cctggtggtg | tgcgtgaacc  | tgtgcatcgt | gtgcctggga  | 60   |
| gccgccgtga  | gcagcagcag | cacctcccac | gccacctcca  | gcacccacaa | cggcagccac  | 120  |
| accagcagga  | ccacctccgc | ccagaccagc | agcgtgtaca  | gccagcacgt | gacctcttcc  | 180  |
| gaggccgtga  | gccacagggc | caacgagaca | atctacaaca  | ccaccctgaa | gtacggcgac  | 240  |
| gtggtgggag  | tgaacaccac | caagtacccc | tacagagtgt  | gcagcatggc | ccagggcacc  | 300  |
| gacctgatca  | gattcgagcg | gaacatcatc | tgcaccagca  | tgaagcccat | caacgaggac  | 360  |
| ctggacgagg  | gcatcatggt | ggtgtacaag | aggaacatcg  | tggcccacac | cttcaaggtc  | 420  |
| cgcggtgacc  | agaaggtgct | gaccttcagg | cggagctacg  | ccggccacag | gaccacctac  | 480  |
| ctgctgggca  | gcaacaccga | gtacgtggcc | ccacccatgt  | gggagatcca | ccacatcaac  | 540  |
| aagttcgccc  | agtgtctacg | cagctacagc | cgcgtgatcg  | gcggcaccgt | gttcgtggcc  | 600  |
| taccacaggg  | acagctacga | gaacaagacc | atgcagctga  | tccccgacga | ctacagcaac  | 660  |
| acccacagca  | ccagatacgt | gacctggaag | gaccagtggc  | acagcagggg | cagcaccgcc  | 720  |
| ttccacagag  | agacatgcaa | cctgaactgc | atgctgacca  | tcaccaccgc | cagaagcaag  | 780  |
| tacccttacc  | acttcttctc | cacctctacc | ggggacgtgg  | tgtacatcag | ccccttctac  | 840  |
| aacggcacca  | acaggaacgc | cagctacttc | ggcgagaacg  | ccgacaagtt | cttcatcttc  | 900  |
| cccaactaca  | ccatcgtgtc | cgacttcggc | aggcccaacg  | ctgcccccca | gacacacaga  | 960  |
| ctggtggcct  | ttctggagag | ggccgacagc | gtgatcagct  | gggacatcca | ggacgagaag  | 1020 |
| aacgtgacct  | gccagctgac | cttctgggag | gccagcgaga  | ggaccatcag | cagcgaggcc  | 1080 |
| gaggacagct  | accacttcag | cagcgccaag | atgaccgcca  | ccttcctgag | caagaaacaa  | 1140 |
| gaggtgaaca  | tgagcgacag | cgccctggac | tgcgtgaggg  | acgaggccat | caacaagctg  | 1200 |
| cagcagatct  | tcaacaccag | ctacaaccag | acctacgaga  | agtacggaaa | cgtgtccgtg  | 1260 |
|             |            |            |             |            |             |      |
| ttcgagacaa  | gcgggcgact | ggtggtgttc | tggcagggca  | tcaagcagaa | gtccctggtc  | 1320 |
| gagctggaga  | ggctggccaa | caggtccagc | ctgaacatca  | cccacaccac | ccagaccagc  | 1380 |
| accagcgaca  | acaacaccac | acacctgagc | agcatggaaa  | gcgtgcacaa | cctggtgtat  | 1440 |
| gcccagctgc  | agttcaccta | cgacaccctg | aggggctaca  | tcaacagagc | cctggccccag | 1500 |
| atcgccgagg  | cttgggtcgt | ggaccagaga | aggaccctgg  | aggtgttcaa | ggaactgtcc  | 1560 |
| aagatcaacc  | ccagcgccat | cctgagcgcc | atctacaaca  | agccaatcgc | cggccagattc | 1620 |
| atgggcgacg  | tgctgggcct | ggccagctgc | gtgaccatca  | accagaccag | cgtgaagggtg | 1680 |
| ctgcgggaca  | tgaacgtgaa | ggaaagccca | ggccgctgct  | actccaggcc | cgtggtgatc  | 1740 |
| ttcaacttcg  | ccaacagctc | ctacgtgcag | tacggccagc  | tgggcgagga | caacgagatc  | 1800 |
| ctgctgggaa  | accacaggac | cgaggaatgc | cagctgccca  | gcctgaagat | ctttatcgcc  | 1860 |
| ggcaactccg  | cctacgagta | cgtggactac | ctgttcaaga  | ggatgatcga | cctgtccagc  | 1920 |
| atcagcaccg  | tggacagcat | gatcgccctg | gatatcgatc  | ccctggagaa | caccgacttc  | 1980 |
| aggggtgctgg | agctgtactc | ccagaaggaa | ctgaggtcca  | gcaacgtgtt | cgacctggag  | 2040 |
| gaaatcatga  | gagagttcaa | cagctacaag | cagcgcgatga | agtacgtgga | ggacaagagg  | 2100 |
| ctggccacccc | agcccctgca | gaacctgttc | ccctacctgg  | tgtccgccga | cggcaccacc  | 2160 |
| gtgaccagcg  | gctccaccaa | ggacaccagc | ctgcaggccc  | ctcccagcta | cgaggaaagc  | 2220 |
| gtgtacaaca  | gcggcaggaa | gggcggccag | aagcccaacc  | tgctggacag | gctgaggcac  | 2280 |
| aggaagaacg  | gctacaggca | cctgaaggac | agcgacgagg  | aagaaaacgt | g           | 2331 |

<210> 9

<211> 2172

5 <212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Citomegalovirus AD169

10

<400> 9

|             |             |            |             |            |             |      |
|-------------|-------------|------------|-------------|------------|-------------|------|
| atggagagca  | ggatctggtg  | cctggtggtg | tgcgtgaacc  | tgtgcatcgt | gtgcctggga  | 60   |
| gccgccgtga  | gcagcagcag  | cacctccac  | gccacctcca  | gcaccacaa  | cggcagccac  | 120  |
| accagcagga  | ccacctccgc  | ccagaccaga | agcgtgtaca  | gccagcacgt | gacctcttcc  | 180  |
| gaggccgtga  | gccacagggc  | caacgagaca | atctacaaca  | ccacctgaa  | gtacggcgac  | 240  |
| gtggtgggag  | tgaacaccac  | caagtacccc | tacagagtgt  | gcagcatggc | ccagggcacc  | 300  |
| gacctgatca  | gattcgagcg  | gaacatcatc | tgcaccagca  | tgaagcccat | caacgaggac  | 360  |
| ctggacgagg  | gcatcatggt  | ggtgtacaag | aggaacatcg  | tggcccacac | cttcaaggtc  | 420  |
| cgcgtgtacc  | agaagggtgct | gaccttcagg | cggagctacg  | cgggccacag | gaccacctac  | 480  |
| ctgctgggca  | gcaacaccga  | gtacgtggcc | ccacctatgt  | gggagatcca | ccacatcaac  | 540  |
| aagttcgccc  | agtgtacacg  | cagctacagc | cgcgtgatcg  | gcggcacccg | gttcgtggcc  | 600  |
| taccacaggg  | acagctacga  | gaacaagacc | atgcagctga  | tccccgacga | ctacagcaac  | 660  |
| acccacagca  | ccagatacgt  | gaccgtgaag | gaccagtggc  | acagcagggg | cagcaccgcc  | 720  |
| ttccacagag  | agacatgcaa  | cctgaactgc | atgctgacca  | tcaccaccgc | cagaagcaag  | 780  |
| taccttacc   | acttcttcgc  | cacctctacc | ggggacgtgg  | tgtacatcag | ccccttctac  | 840  |
| aacggcacca  | acaggaacgc  | cagctacttc | ggcgagaacg  | ccgacaagtt | cttcatcttc  | 900  |
| cccaactaca  | ccatcgtgtc  | cgacttcggc | aggcccaacg  | ctgcccccca | gacacacaga  | 960  |
| ctggtggcct  | ttctggagag  | ggccgacagc | gtgatcagct  | gggacatcca | ggacgagaag  | 1020 |
| aacgtgacct  | gccagctgac  | cttctgggag | gccagcgaga  | ggaccatcag | aagcgaggcc  | 1080 |
| gaggacagct  | accacttcag  | cagcgccaag | atgaccgcca  | ccttcctgag | caagaaacaa  | 1140 |
| gaggtgaaca  | tgagcgacag  | cgccctggac | tgcgtgaggg  | acgaggccat | caacaagctg  | 1200 |
| cagcagatct  | tcaacaccag  | ctacaaccag | acctacgaga  | agtacggaaa | cgtgtccgtg  | 1260 |
| ttcgagacaa  | gcggcggaact | ggtggtgttc | tggcagggca  | tcaagcagaa | gtccctggtc  | 1320 |
| gagctggaga  | ggctggccaa  | caggtccagc | ctgaacatca  | cccacaccac | ccagaccagc  | 1380 |
| accagcgaca  | acaacaccac  | acacctgagc | agcatggaaa  | gcgtgcacaa | cctggtgtat  | 1440 |
| gcccagctgc  | agttcaccta  | cgacaccctg | aggggctaca  | tcaacagagc | cctggcccag  | 1500 |
| atcgccgagg  | cttggtgcgt  | ggaccagaga | aggacctgg   | aggtgttcaa | ggaactgtcc  | 1560 |
| aagatcaacc  | ccagcgccat  | cctgagcgcc | atctacaaca  | agccaatcgc | cgccagattc  | 1620 |
| atgggcgacg  | tgctgggcct  | ggccagctgc | gtgaccatca  | accagaccag | cgtgaagggtg | 1680 |
| ctgcgggaca  | tgaacgtgaa  | ggaaagccca | ggccgctgct  | actccaggcc | cgtggtgatc  | 1740 |
| ttcaacttcg  | ccaacagctc  | ctacgtgcag | tacggccagc  | tgggcgagga | caacgagatc  | 1800 |
| ctgctgggaa  | accacaggac  | cgaggaatgc | cagctgcccc  | gcctgaagat | ctttatcgcc  | 1860 |
| ggcaactccg  | cctacgagta  | cgtggactac | ctgttcaaga  | ggatgatcga | cctgtccagc  | 1920 |
|             |             |            |             |            |             |      |
| atcagcaccg  | tggacagcat  | gatcgccctg | gatatcgatc  | ccctggagaa | caccgacttc  | 1980 |
| aggggtgctg  | agctgtactc  | ccagaaggaa | ctgaggtcca  | gcaacgtgtt | cgacctggag  | 2040 |
| gaaatcatga  | gagagttcaa  | cagctacaag | cagcgcgctga | agtacgtgga | ggacaagggtg | 2100 |
| gtggaccccc  | tgcccccta   | cctgaagggc | ctggacgacc  | tgatgagcgg | actcggggct  | 2160 |
| gctggaaaagg | cc          |            |             |            |             | 2172 |

<210> 10

<211> 724

5 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Citomegalovirus AD169

10

<400> 10

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Glu | Ser | Arg | Ile | Trp | Cys | Leu | Val | Val | Cys | Val | Asn | Leu | Cys | Ile |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     | 15  |     |     |
| Val | Cys | Leu | Gly | Ala | Ala | Val | Ser | Ser | Ser | Ser | Thr | Ser | His | Ala | Thr |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Ser | Ser | Thr | His | Asn | Gly | Ser | His | Thr | Ser | Arg | Thr | Thr | Ser | Ala | Gln |
|     |     | 35  |     |     |     | 40  |     |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Thr | Arg | Ser | Val | Tyr | Ser | Gln | His | Val | Thr | Ser | Ser | Glu | Ala | Val | Ser |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| His | Arg | Ala | Asn | Glu | Thr | Ile | Tyr | Asn | Thr | Thr | Leu | Lys | Tyr | Gly | Asp |
| 65  |     |     |     | 70  |     |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Val | Val | Gly | Val | Asn | Thr | Thr | Lys | Tyr | Pro | Tyr | Arg | Val | Cys | Ser | Met |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Ala | Gln | Gly | Thr | Asp | Leu | Ile | Arg | Phe | Glu | Arg | Asn | Ile | Ile | Cys | Thr |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Ser | Met | Lys | Pro | Ile | Asn | Glu | Asp | Leu | Asp | Glu | Gly | Ile | Met | Val | Val |
|     |     | 115 |     |     |     | 120 |     |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Tyr | Lys | Arg | Asn | Ile | Val | Ala | His | Thr | Phe | Lys | Val | Arg | Val | Tyr | Gln |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Lys | Val | Leu | Thr | Phe | Arg | Arg | Ser | Tyr | Ala | Gly | His | Arg | Thr | Thr | Tyr |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Leu | Leu | Gly | Ser | Asn | Thr | Glu | Tyr | Val | Ala | Pro | Pro | Met | Trp | Glu | Ile |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| His | His | Ile | Asn | Lys | Phe | Ala | Gln | Cys | Tyr | Ser | Ser | Tyr | Ser | Arg | Val |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| Ile | Gly | Gly | Thr | Val | Phe | Val | Ala | Tyr | His | Arg | Asp | Ser | Tyr | Glu | Asn |
|     | 195 |     |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Lys | Thr | Met | Gln | Leu | Ile | Pro | Asp | Asp | Tyr | Ser | Asn | Thr | His | Ser | Thr |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Arg | Tyr | Val | Thr | Val | Lys | Asp | Gln | Trp | His | Ser | Arg | Gly | Ser | Thr | Ala |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     |     | 235 |     |     |     | 240 |
| Phe | His | Arg | Glu | Thr | Cys | Asn | Leu | Asn | Cys | Met | Leu | Thr | Ile | Thr | Thr |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Ala | Arg | Ser | Lys | Tyr | Pro | Tyr | His | Phe | Phe | Ala | Thr | Ser | Thr | Gly | Asp |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     |     | 270 |     |
| Val | Val | Tyr | Ile | Ser | Pro | Phe | Tyr | Asn | Gly | Thr | Asn | Arg | Asn | Ala | Ser |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Tyr | Phe | Gly | Glu | Asn | Ala | Asp | Lys | Phe | Phe | Ile | Phe | Pro | Asn | Tyr | Thr |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Ile | Val | Ser | Asp | Phe | Gly | Arg | Pro | Asn | Ala | Ala | Pro | Glu | Thr | His | Arg |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Leu | Val | Ala | Phe | Leu | Glu | Arg | Ala | Asp | Ser | Val | Ile | Ser | Trp | Asp | Ile |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Gln | Asp | Glu | Lys | Asn | Val | Thr | Cys | Gln | Leu | Thr | Phe | Trp | Glu | Ala | Ser |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Glu | Arg | Thr | Ile | Arg | Ser | Glu | Ala | Glu | Asp | Ser | Tyr | His | Phe | Ser | Ser |

[illegible]

<210> 11  
<211> 2151  
<212> ADN  
<213> Secuencia Artificial

<220>  
<223> Citomegalovirus AD169

<400> 11

atggagagca ggatctggtg cctggtggtg tgcgtgaacc tgtgcatcgt gtgcctggga 60  
gcccgcgtga gcagcagcag cacctccac gccacctcca gcacccacaa cggcagccac 120

accagcagga ccacctccgc ccagaccaga agcgtgtaca gccagcacgt gacctcttcc 180  
gaggccgtga gccacagggc caacgagaca atctacaaca ccacctgaa gtacggcgac 240  
gtggtgggag tgaacaccac caagtacccc tacagagtgt gcagcatggc ccagggcacc 300  
gacctgatca gattcgagcg gaacatcatc tgcaccagca tgaagcccat caacgaggac 360  
ctggacgagg gcatcatggt ggtgtacaag aggaacatcg tggccacac cttcaaggtc 420  
cgcggtgacc agaagggtct gaccttcagg cggagctacg ccggccacag gaccacctac 480  
ctgctgggca gcaacaccga gtacgtggcc ccacctatgt gggagatcca ccacatcaac 540  
aagttcgccc agtgctacag cagctacagc cgcgtgatcg gcggcaccgt gttcgtggcc 600  
taccacaggg acagctacga gaacaagacc atgcagctga tccccgacga ctacagcaac 660  
acccacagca ccagatacgt gacctggaag gaccagtggc acagcagggg cagcacccgc 720  
ttccacagag agacatgcaa cctgaactgc atgctgacca tcaccaccgc cagaagcaag 780  
taccttacc acttcttcgc cacctctacc ggggacgtgg tgtacatcag ccccttctac 840  
aacggcacca acaggaacgc cagctacttc ggcgagaacg ccgacaagtt cttcatcttc 900  
cccaactaca ccatcgtgtc cgacttcggc aggcccaacg ctgccccga gacacacaga 960  
ctggtggcct ttctggagag ggccgacagc gtgatcagct gggacatcca ggacgagaag 1020  
aacgtgacct gccagctgac cttctgggag gccagcgaga ggacctcag aagcgaggcc 1080  
gaggacagct accacttcag cagcgccaag atgaccgcca ccttcctgag caagaaacaa 1140  
gaggtgaaca tgagcgacag cgccctggac tgcgtgaggg acgaggccat caacaagctg 1200  
cagcagatct tcaacaccag ctacaaccag acctacgaga agtacggaaa cgtgtccgtg 1260  
ttcgagacaa gcggcggact ggtggtgttc tggcagggca tcaagcagaa gtccctggtc 1320  
gagctggaga ggctggccaa caggtccagc ctgaacatca cccacaccac ccagaccagc 1380  
accagcgaca acaacaccac acacctgagc agcatggaaa gcgtgcacaa cctggtgtat 1440  
gcccagctgc agttcaccta cgacacctg aggggctaca tcaacagagc cctggcccag 1500  
atcgccgagg cttggtgctg ggaccagaga aggacctgg aggtgttcaa ggaactgtcc 1560  
aagatcaacc ccagcgccat cctgagcgcc atctacaaca agccaatcgc cgccagattc 1620  
atgggcgacg tgcgtggcct ggccagctgc gtgacctca accagaccag cgtgaagggtg 1680  
ctgcgggaca tgaacgtgaa ggaaagccca ggccgctgct actccaggcc cgtggtgatc 1740  
ttcaacttcg ccaacagctc ctacgtgcag tacggccagc tgggcgagga caacgagatc 1800  
ctgctgggaa accacaggac cgaggaatgc cagctgccc gcctgaagat ctttatcgcc 1860  
ggcaactccg cctacgagta cgtggactac ctgttcaaga ggatgatcga cctgtccagc 1920  
atcagcaccg tggacagcat gatcgccctg gatatcgatc ccctggagaa caccgacttc 1980  
aggggtgctg agctgtactc ccagaaggaa ctgaggtcca gcaacgtgtt cgacctggag 2040  
gaaatcatga gagagtcaa cagctacaag cagcgctgga agtacgtgga ggacaagagg 2100  
ctggccaccc agccctgca gaacctgttc ccctacctgg tgtccgccga c 2151

<210> 12  
<211> 717  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

<220>  
<223> Citomegalovirus AD169

<400> 12

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Glu | Ser | Arg | Ile | Trp | Cys | Leu | Val | Val | Cys | Val | Asn | Leu | Cys | Ile |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Val | Cys | Leu | Gly | Ala | Ala | Val | Ser | Ser | Ser | Ser | Thr | Ser | His | Ala | Thr |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Ser | Ser | Thr | His | Asn | Gly | Ser | His | Thr | Ser | Arg | Thr | Thr | Ser | Ala | Gln |
|     |     | 35  |     |     |     | 40  |     |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Thr | Arg | Ser | Val | Tyr | Ser | Gln | His | Val | Thr | Ser | Ser | Glu | Ala | Val | Ser |
|     |     | 50  |     |     |     | 55  |     |     |     | 60  |     |     |     |     |     |
| His | Arg | Ala | Asn | Glu | Thr | Ile | Tyr | Asn | Thr | Thr | Leu | Lys | Tyr | Gly | Asp |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     | 80  |     |
| Val | Val | Gly | Val | Asn | Thr | Thr | Lys | Tyr | Pro | Tyr | Arg | Val | Cys | Ser | Met |
|     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |     |
| Ala | Gln | Gly | Thr | Asp | Leu | Ile | Arg | Phe | Glu | Arg | Asn | Ile | Ile | Cys | Thr |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     | 110 |     |     |     |
| Ser | Met | Lys | Pro | Ile | Asn | Glu | Asp | Leu | Asp | Glu | Gly | Ile | Met | Val | Val |
|     |     | 115 |     |     |     | 120 |     |     |     |     |     | 125 |     |     |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Tyr | Lys | Arg | Asn | Ile | Val | Ala | His | Thr | Phe | Lys | Val | Arg | Val | Tyr | Gln |
| 130 |     |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Lys | Val | Leu | Thr | Phe | Arg | Arg | Ser | Tyr | Ala | Gly | His | Arg | Thr | Thr | Tyr |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Leu | Leu | Gly | Ser | Asn | Thr | Glu | Tyr | Val | Ala | Pro | Pro | Met | Trp | Glu | Ile |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| His | His | Ile | Asn | Lys | Phe | Ala | Gln | Cys | Tyr | Ser | Ser | Tyr | Ser | Arg | Val |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| Ile | Gly | Gly | Thr | Val | Phe | Val | Ala | Tyr | His | Arg | Asp | Ser | Tyr | Glu | Asn |
|     | 195 |     |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Lys | Thr | Met | Gln | Leu | Ile | Pro | Asp | Asp | Tyr | Ser | Asn | Thr | His | Ser | Thr |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Arg | Tyr | Val | Thr | Val | Lys | Asp | Gln | Trp | His | Ser | Arg | Gly | Ser | Thr | Ala |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Phe | His | Arg | Glu | Thr | Cys | Asn | Leu | Asn | Cys | Met | Leu | Thr | Ile | Thr | Thr |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Ala | Arg | Ser | Lys | Tyr | Pro | Tyr | His | Phe | Phe | Ala | Thr | Ser | Thr | Gly | Asp |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Val | Val | Tyr | Ile | Ser | Pro | Phe | Tyr | Asn | Gly | Thr | Asn | Arg | Asn | Ala | Ser |
|     | 275 |     |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Tyr | Phe | Gly | Glu | Asn | Ala | Asp | Lys | Phe | Phe | Ile | Phe | Pro | Asn | Tyr | Thr |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Ile | Val | Ser | Asp | Phe | Gly | Arg | Pro | Asn | Ala | Ala | Pro | Glu | Thr | His | Arg |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Leu | Val | Ala | Phe | Leu | Glu | Arg | Ala | Asp | Ser | Val | Ile | Ser | Trp | Asp | Ile |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Gln | Asp | Glu | Lys | Asn | Val | Thr | Cys | Gln | Leu | Thr | Phe | Trp | Glu | Ala | Ser |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Glu | Arg | Thr | Ile | Arg | Ser | Glu | Ala | Glu | Asp | Ser | Tyr | His | Phe | Ser | Ser |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Ala | Lys | Met | Thr | Ala | Thr | Phe | Leu | Ser | Lys | Lys | Gln | Glu | Val | Asn | Met |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Ser | Asp | Ser | Ala | Leu | Asp | Cys | Val | Arg | Asp | Glu | Ala | Ile | Asn | Lys | Leu |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Gln | Gln | Ile | Phe | Asn | Thr | Ser | Tyr | Asn | Gln | Thr | Tyr | Glu | Lys | Tyr | Gly |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Asn | Val | Ser | Val | Phe | Glu | Thr | Ser | Gly | Gly | Leu | Val | Val | Phe | Trp | Gln |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Gly | Ile | Lys | Gln | Lys | Ser | Leu | Val | Glu | Leu | Glu | Arg | Leu | Ala | Asn | Arg |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Ser | Ser | Leu | Asn | Ile | Thr | His | Thr | Thr | Gln | Thr | Ser | Thr | Ser | Asp | Asn |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Asn | Thr | Thr | His | Leu | Ser | Ser | Met | Glu | Ser | Val | His | Asn | Leu | Val | Tyr |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |
| Ala | Gln | Leu | Gln | Phe | Thr | Tyr | Asp | Thr | Leu | Arg | Gly | Tyr | Ile | Asn | Arg |
|     |     |     |     | 485 |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     | 495 |     |
| Ala | Leu | Ala | Gln | Ile | Ala | Glu | Ala | Trp | Cys | Val | Asp | Gln | Arg | Arg | Thr |
|     |     |     | 500 |     |     |     |     | 505 |     |     |     |     | 510 |     |     |
| Leu | Glu | Val | Phe | Lys | Glu | Leu | Ser | Lys | Ile | Asn | Pro | Ser | Ala | Ile | Leu |
|     | 515 |     |     |     |     |     | 520 |     |     |     |     | 525 |     |     |     |
| Ser | Ala | Ile | Tyr | Asn | Lys | Pro | Ile | Ala | Ala | Arg | Phe | Met | Gly | Asp | Val |
|     | 530 |     |     |     |     | 535 |     |     |     |     | 540 |     |     |     |     |
| Leu | Gly | Leu | Ala | Ser | Cys | Val | Thr | Ile | Asn | Gln | Thr | Ser | Val | Lys | Val |
| 545 |     |     |     |     | 550 |     |     |     |     | 555 |     |     |     |     | 560 |
| Leu | Arg | Asp | Met | Asn | Val | Lys | Glu | Ser | Pro | Gly | Arg | Cys | Tyr | Ser | Arg |
|     |     |     | 565 |     |     |     |     |     | 570 |     |     |     |     | 575 |     |
| Pro | Val | Val | Ile | Phe | Asn | Phe | Ala | Asn | Ser | Ser | Tyr | Val | Gln | Tyr | Gly |
|     |     |     | 580 |     |     |     |     | 585 |     |     |     |     | 590 |     |     |
| Gln | Leu | Gly | Glu | Asp | Asn | Glu | Ile | Leu | Leu | Gly | Asn | His | Arg | Thr | Glu |
|     |     | 595 |     |     |     |     | 600 |     |     |     |     | 605 |     |     |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Glu | Cys | Gln | Leu | Pro | Ser | Leu | Lys | Ile | Phe | Ile | Ala | Gly | Asn | Ser | Ala |
| 610 |     |     |     |     | 615 |     |     |     |     | 620 |     |     |     |     |     |
| Tyr | Glu | Tyr | Val | Asp | Tyr | Leu | Phe | Lys | Arg | Met | Ile | Asp | Leu | Ser | Ser |
| 625 |     |     |     | 630 |     |     |     |     |     | 635 |     |     |     |     | 640 |
| Ile | Ser | Thr | Val | Asp | Ser | Met | Ile | Ala | Leu | Asp | Ile | Asp | Pro | Leu | Glu |
|     |     |     | 645 |     |     |     |     |     | 650 |     |     |     |     | 655 |     |
| Asn | Thr | Asp | Phe | Arg | Val | Leu | Glu | Leu | Tyr | Ser | Gln | Lys | Glu | Leu | Arg |
|     |     | 660 |     |     |     |     | 665 |     |     |     |     | 670 |     |     |     |
| Ser | Ser | Asn | Val | Phe | Asp | Leu | Glu | Glu | Ile | Met | Arg | Glu | Phe | Asn | Ser |
|     | 675 |     |     |     |     | 680 |     |     |     |     | 685 |     |     |     |     |
| Tyr | Lys | Gln | Arg | Val | Lys | Tyr | Val | Glu | Asp | Lys | Arg | Leu | Ala | Thr | Gln |
| 690 |     |     |     |     | 695 |     |     |     |     | 700 |     |     |     |     |     |
| Pro | Leu | Gln | Asn | Leu | Phe | Pro | Tyr | Leu | Val | Ser | Ala | Asp |     |     |     |
| 705 |     |     |     |     | 710 |     |     |     |     | 715 |     |     |     |     |     |

<210> 13

<211> 2049

5 <212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Citomegalovirus AD169

10

<400> 13

```

atggaatccc ggatctggtg cctggtggtg tgcgtgaacc tgtgcatcgt gtgcctggcc 60
ctggccagcc accgggccc aa cgagacaatc tacaacacca ccctgaagta cggcgacgtg 120
gtgggagtgga acaccaccaa gtacccttac agagtgtgct ccatggccca gggcaccgac 180
ctgatcagat tccagcggaa catcatctgc accagcatga agcccatcaa cgaggacctg 240
gacgaggggca tcatggtggt gtacaagagg aacatcgtgg ccacacactt caaggtccgc 300
gtgtaccaga aggtgctgac cttcaggcgg agctacgccg gccacaggac cactacctg 360
ctgggcagca acaccgagta cgtggcccca ccatgtggg agatccacca catcaacaag 420
ttcgccaggt gctacagcag ctacagccgc gtgatcggcg gcaccgtgtt cgtggcctac 480
cacagggaca gctacgagaa caagaccatg cagctgatcc ccgacgacta cagcaacacc 540
cacagcacca gatacgtgac cgtgaaggac cagtggcaca gcaggggcag caccgccttc 600
cacagagaga catgcaacct gaactgcatg ctgacctca ccaccgccag aagcaagtac 660
ccttaccact tcttcgccac ctctaccggg gacgtggtgt acatcagccc cttctacaac 720
ggcaccacaa ggaacgccag ctacttcggc gagaacgccg acaagttctt catcttcccc 780
aactacacca tctgttccga cttcggcagg cccaacgctg ccccgagac acacagactg 840
gtggcctttc tggagagggc cgacagcgtg atcagctggg acatccagga cgagaagaac 900
gtgacctgcc agctgacctt ctgggaggcc agcgagagga ccatcagaag cgaggccgag 960
gacagctacc acttcagcag cgccaagatg accgccacct tcctgagcaa gaaacaagag 1020
gtgaacatga gcgacagcgc cctggactgc gtgagggacg aggccatcaa caagctgcag 1080
cagatcttca acaccagcta caaccagacc tacgagaagt acggaaacgt gtccgtgttc 1140
gagacaagcg gcggactggt ggtgttctgg cagggcatca agcagaagtc cctggtcgag 1200
ctggagagggc tggccaacag gtccagcctg aacatcacc acaccacca gaccagcacc 1260
agcgacaaca acaccacaca cctgagcagc atggaaagcg tgcacaacct ggtgtatgcc 1320
cagctgcagt tcacctacga caccctgagg ggctacatca acagagccct ggcccagatc 1380
gccgaggctt ggtgcgtgga ccagagaagg accctggagg tgttcaagga actgtccaag 1440
atcaacccca gcgccatcct gagcgccatc tacaacaagc caatcgccgc cagattcatg 1500
ggcgacgtgc tgggcctggc cagctgcgtg accatcaacc agaccagcgt gaaggtgctg 1560
cgggacatga acgtgaagga aagcccaggc cgctgctact ccaggcccgt ggtgatcttc 1620
aacttcgcca acagctccta cgtgcagtac ggccagctgg gcgaggacaa cgagatcttc 1680
ctgggaaacc acaggaccga ggaatgccag ctgccagcc tgaagatctt tatcgccggc 1740
aactccgcct acgagtagct ggactacctg ttcaagagga tgatcgacct gtccagcatc 1800
agcaccgtgg acagcatgat cgcctggat atcgatcccc tggagaacac cgacttcagg 1860
gtgctggagc tgtactccca gaaggaaact aggtccagca acgtgttcga cctggaggaa 1920
atcatgagag agttcaacag ctacaagcag cgcgtgaagt acgtggagga caaggtggtg 1980
gacccctgc cccctacct gaagggcctg gacgacctga tgagcggact cggggctgct 2040
ggaaaggcc 2049

```

15

<210> 14  
<211> 683  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

5

<220>  
<223> Citomegalovirus AD169

10

<400> 14

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Glu | Ser | Arg | Ile | Trp | Cys | Leu | Val | Val | Cys | Val | Asn | Leu | Cys | Ile | 1   | 5   | 10  | 15  |
| Val | Cys | Leu | Ala | Leu | Ala | Ser | His | Arg | Ala | Asn | Glu | Thr | Ile | Tyr | Asn | 20  | 25  | 30  |     |
| Thr | Thr | Leu | Lys | Tyr | Gly | Asp | Val | Val | Gly | Val | Asn | Thr | Thr | Lys | Tyr | 35  | 40  | 45  |     |
| Pro | Tyr | Arg | Val | Cys | Ser | Met | Ala | Gln | Gly | Thr | Asp | Leu | Ile | Arg | Phe | 50  | 55  | 60  |     |
| Glu | Arg | Asn | Ile | Ile | Cys | Thr | Ser | Met | Lys | Pro | Ile | Asn | Glu | Asp | Leu | 65  | 70  | 75  | 80  |
| Asp | Glu | Gly | Ile | Met | Val | Val | Tyr | Lys | Arg | Asn | Ile | Val | Ala | His | Thr | 85  | 90  | 95  |     |
| Phe | Lys | Val | Arg | Val | Tyr | Gln | Lys | Val | Leu | Thr | Phe | Arg | Arg | Ser | Tyr | 100 | 105 | 110 |     |
| Ala | Gly | His | Arg | Thr | Thr | Tyr | Leu | Leu | Gly | Ser | Asn | Thr | Glu | Tyr | Val | 115 | 120 | 125 |     |
| Ala | Pro | Pro | Met | Trp | Glu | Ile | His | His | Ile | Asn | Lys | Phe | Ala | Gln | Cys | 130 | 135 | 140 |     |
| Tyr | Ser | Ser | Tyr | Ser | Arg | Val | Ile | Gly | Gly | Thr | Val | Phe | Val | Ala | Tyr | 145 | 150 | 155 | 160 |
| His | Arg | Asp | Ser | Tyr | Glu | Asn | Lys | Thr | Met | Gln | Leu | Ile | Pro | Asp | Asp | 165 | 170 | 175 |     |
| Tyr | Ser | Asn | Thr | His | Ser | Thr | Arg | Tyr | Val | Thr | Val | Lys | Asp | Gln | Trp | 180 | 185 | 190 |     |
| His | Ser | Arg | Gly | Ser | Thr | Ala | Phe | His | Arg | Glu | Thr | Cys | Asn | Leu | Asn | 195 | 200 | 205 |     |
| Cys | Met | Leu | Thr | Ile | Thr | Thr | Ala | Arg | Ser | Lys | Tyr | Pro | Tyr | His | Phe | 210 | 215 | 220 |     |
| Phe | Ala | Thr | Ser | Thr | Gly | Asp | Val | Val | Tyr | Ile | Ser | Pro | Phe | Tyr | Asn | 225 | 230 | 235 | 240 |
| Gly | Thr | Asn | Arg | Asn | Ala | Ser | Tyr | Phe | Gly | Glu | Asn | Ala | Asp | Lys | Phe | 245 | 250 | 255 |     |
| Phe | Ile | Phe | Pro | Asn | Tyr | Thr | Ile | Val | Ser | Asp | Phe | Gly | Arg | Pro | Asn | 260 | 265 | 270 |     |
| Ala | Ala | Pro | Glu | Thr | His | Arg | Leu | Val | Ala | Phe | Leu | Glu | Arg | Ala | Asp | 275 | 280 | 285 |     |
| Ser | Val | Ile | Ser | Trp | Asp | Ile | Gln | Asp | Glu | Lys | Asn | Val | Thr | Cys | Gln | 290 | 295 | 300 |     |
| Leu | Thr | Phe | Trp | Glu | Ala | Ser | Glu | Arg | Thr | Ile | Arg | Ser | Glu | Ala | Glu | 305 | 310 | 315 | 320 |
| Asp | Ser | Tyr | His | Phe | Ser | Ser | Ala | Lys | Met | Thr | Ala | Thr | Phe | Leu | Ser | 325 | 330 | 335 |     |
| Lys | Lys | Gln | Glu | Val | Asn | Met | Ser | Asp | Ser | Ala | Leu | Asp | Cys | Val | Arg | 340 | 345 | 350 |     |
| Asp | Glu | Ala | Ile | Asn | Lys | Leu | Gln | Gln | Ile | Phe | Asn | Thr | Ser | Tyr | Asn | 355 | 360 | 365 |     |
| Gln | Thr | Tyr | Glu | Lys | Tyr | Gly | Asn | Val | Ser | Val | Phe | Glu | Thr | Ser | Gly | 370 | 375 | 380 |     |
| Gly | Leu | Val | Val | Phe | Trp | Gln | Gly | Ile | Lys | Gln | Lys | Ser | Leu | Val | Glu | 385 | 390 | 395 | 400 |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
| Leu | Glu | Arg | Leu | Ala | Asn | Arg | Ser | Ser | Leu | Asn | Ile | Thr | His | Thr | Thr |  |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     |     | 415 |  |
| Gln | Thr | Ser | Thr | Ser | Asp | Asn | Asn | Thr | Thr | His | Leu | Ser | Ser | Met | Glu |  |
|     |     |     |     | 420 |     |     |     | 425 |     |     |     |     |     | 430 |     |  |
| Ser | Val | His | Asn | Leu | Val | Tyr | Ala | Gln | Leu | Gln | Phe | Thr | Tyr | Asp | Thr |  |
|     |     |     |     | 435 |     |     | 440 |     |     |     |     |     |     | 445 |     |  |
| Leu | Arg | Gly | Tyr | Ile | Asn | Arg | Ala | Leu | Ala | Gln | Ile | Ala | Glu | Ala | Trp |  |
|     |     |     |     | 450 |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |  |
| Cys | Val | Asp | Gln | Arg | Arg | Thr | Leu | Glu | Val | Phe | Lys | Glu | Leu | Ser | Lys |  |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |  |
| Ile | Asn | Pro | Ser | Ala | Ile | Leu | Ser | Ala | Ile | Tyr | Asn | Lys | Pro | Ile | Ala |  |
|     |     |     |     | 485 |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     |     | 495 |  |
| Ala | Arg | Phe | Met | Gly | Asp | Val | Leu | Gly | Leu | Ala | Ser | Cys | Val | Thr | Ile |  |
|     |     |     |     | 500 |     |     |     | 505 |     |     |     |     |     | 510 |     |  |
| Asn | Gln | Thr | Ser | Val | Lys | Val | Leu | Arg | Asp | Met | Asn | Val | Lys | Glu | Ser |  |
|     |     |     |     | 515 |     |     | 520 |     |     |     |     |     |     | 525 |     |  |
| Pro | Gly | Arg | Cys | Tyr | Ser | Arg | Pro | Val | Val | Ile | Phe | Asn | Phe | Ala | Asn |  |
|     |     |     |     | 530 |     | 535 |     |     |     |     | 540 |     |     |     |     |  |
| Ser | Ser | Tyr | Val | Gln | Tyr | Gly | Gln | Leu | Gly | Glu | Asp | Asn | Glu | Ile | Leu |  |
| 545 |     |     |     |     | 550 |     |     |     |     | 555 |     |     |     |     | 560 |  |
| Leu | Gly | Asn | His | Arg | Thr | Glu | Glu | Cys | Gln | Leu | Pro | Ser | Leu | Lys | Ile |  |
|     |     |     |     | 565 |     |     |     |     | 570 |     |     |     |     |     | 575 |  |
| Phe | Ile | Ala | Gly | Asn | Ser | Ala | Tyr | Glu | Tyr | Val | Asp | Tyr | Leu | Phe | Lys |  |
|     |     |     |     | 580 |     |     |     | 585 |     |     |     |     |     | 590 |     |  |
| Arg | Met | Ile | Asp | Leu | Ser | Ser | Ile | Ser | Thr | Val | Asp | Ser | Met | Ile | Ala |  |
|     |     |     |     | 595 |     |     | 600 |     |     |     |     |     |     | 605 |     |  |
| Leu | Asp | Ile | Asp | Pro | Leu | Glu | Asn | Thr | Asp | Phe | Arg | Val | Leu | Glu | Leu |  |
|     |     |     |     | 610 |     | 615 |     |     |     |     | 620 |     |     |     |     |  |
| Tyr | Ser | Gln | Lys | Glu | Leu | Arg | Ser | Ser | Asn | Val | Phe | Asp | Leu | Glu | Glu |  |
| 625 |     |     |     |     | 630 |     |     |     |     | 635 |     |     |     |     | 640 |  |
| Ile | Met | Arg | Glu | Phe | Asn | Ser | Tyr | Lys | Gln | Arg | Val | Lys | Tyr | Val | Glu |  |
|     |     |     |     | 645 |     |     |     |     | 650 |     |     |     |     |     | 655 |  |
| Asp | Lys | Val | Val | Asp | Pro | Leu | Pro | Pro | Tyr | Leu | Lys | Gly | Leu | Asp | Asp |  |
|     |     |     |     | 660 |     |     | 665 |     |     |     |     |     |     | 670 |     |  |
| Leu | Met | Ser | Gly | Leu | Gly | Ala | Ala | Gly | Lys | Ala |     |     |     |     |     |  |
|     |     |     |     | 675 |     |     | 680 |     |     |     |     |     |     |     |     |  |

<210> 15

<211> 2049

5 <212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Citomegalovirus AD169

10

<400> 15

```

atggaatccc ggatctgggtg cctgggtgggtg tgcgtgaacc tgtgcatcgt gctcctggga 60
gccctggccc accgggceaa cgagacaatc tacaacacca ccctgaagta cggcgacgtg 120
gtgggagtga acaccaccaa gtacccttac agagtgtgct ccatggccca gggcaccgac 180
ctgatcagat tcgagcggaa catcatctgc accagcatga agcccatcaa cgaggacctg 240
gacgagggca tcatgggtgt gtacaagagg aacatcgtgg cccacacctt caaggtccgc 300
gtgtaccaga aggtgctgac cttcaggcgg agctacgccg gccacaggac cacctacctg 360
ctgggcagca acaccgagta cgtggcecca cccatgtggg agatccacca catcaacaag 420
ttcgcccagt gctacagcag ctacagccgc gtgatcggcg gcaccgtgtt cgtggcctac 480
cacagggaca gctacgagaa caagaccatg cagctgatcc ccgacgacta cagcaacacc 540
cacagcacca gatacgtgac cgtgaaggac cagtggcaca gcaggggcag caccgccttc 600
cacagagaga catgcaacct gaactgcatg ctgaccatca ccaccgccag aagcaagtac 660
ccttaccact tcttcgccac ctctaccggg gacgtggtgt acatcagccc cttctacaac 720
ggcaccaaca ggaacgccag ctacttcggc gagaacgccg acaagttctt catcttcccc 780

```

```

aactacacca tcgtgtccga cttcggcagg cccaacgctg ccccgagac acacagactg 840
gtggcctttc tggagagggc cgacagcgtg atcagctggg acatccagga cgagaagaac 900
gtgacctgcc agctgacctt ctgggaggcc agcgagagga ccatcagaag cgaggccgag 960
gacagctacc acttcagcag cgccaagatg accgccacct tcctgagcaa gaaacaagag 1020
gtgaacatga gcgacagcgc cctggactgc gtgagggacg aggccatcaa caagctgcag 1080
cagatcttca acaccagcta caaccagacc tacgagaagt acggaaacgt gtccgtgttc 1140
gagacaagcg gcggactggt ggtgttctgg cagggcatca agcagaagtc cctggtcgag 1200
ctggagaggg tggccaacag gtccagcctg aacatcacc acaccacca gaccagcacc 1260
atcgacaaca acaccacaca cctgagcagc atggaaagcg tgcacaacct ggtgtatgcc 1320
cagctgcagt tcacctacga caccctgagg ggctacatca acagagccct ggcccagatc 1380
gccgaggctt ggtgcgtgga ccagagaagg accctggagg tgttcaagga actgtccaag 1440
atcaacccca gcgccatcct gagcgccatc tacaacaagc caatcgccgc cagattcatg 1500
ggcgacgtgc tgggcctggc cagctgcgtg accatcaacc agaccagcgt gaaggtgctg 1560
cgggacatga acgtgaagga aagcccaggc cgctgctact ccaggcccgt ggtgatcttc 1620
aacttcgcca acagctccta cgtgcagtac ggccagctgg gcgaggacaa cgagatcctg 1680
ctgggaaacc acaggaccga ggaatgccag ctgcccagcc tgaagatctt tatcgccggc 1740
aactccgcct acgagtacgt ggactacctg ttcaagagga tgatcgacct gtccagcatc 1800
agcaccgtgg acagcatgat cgccctggat atcgatcccc tggagaacac cgacttcagg 1860
gtgctggagc tgtactccca gaaggaaact aggtccagca acgtgttcga cctggaggaa 1920
atcatgagag agttcaacag ctacaagcag cgcgtgaagt acgtggagga caaggtggtg 1980
gacccctgc cccctacct gaagggcctg gacgacctga tgagcggact cggggctgct 2040
ggaaaggcc 2049

```

<210> 16

<211> 683

5 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Citomegalovirus AD169

10

<400> 16

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Glu | Ser | Arg | Ile | Trp | Cys | Leu | Val | Val | Cys | Val | Asn | Leu | Cys | Ile |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Val | Leu | Leu | Gly | Ala | Leu | Ala | His | Arg | Ala | Asn | Glu | Thr | Ile | Tyr | Asn |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Thr | Thr | Leu | Lys | Tyr | Gly | Asp | Val | Val | Gly | Val | Asn | Thr | Thr | Lys | Tyr |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Pro | Tyr | Arg | Val | Cys | Ser | Met | Ala | Gln | Gly | Thr | Asp | Leu | Ile | Arg | Phe |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Glu | Arg | Asn | Ile | Ile | Cys | Thr | Ser | Met | Lys | Pro | Ile | Asn | Glu | Asp | Leu |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Asp | Glu | Gly | Ile | Met | Val | Val | Tyr | Lys | Arg | Asn | Ile | Val | Ala | His | Thr |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Phe | Lys | Val | Arg | Val | Tyr | Gln | Lys | Val | Leu | Thr | Phe | Arg | Arg | Ser | Tyr |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Ala | Gly | His | Arg | Thr | Thr | Tyr | Leu | Leu | Gly | Ser | Asn | Thr | Glu | Tyr | Val |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Ala | Pro | Pro | Met | Trp | Glu | Ile | His | His | Ile | Asn | Lys | Phe | Ala | Gln | Cys |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Tyr | Ser | Ser | Tyr | Ser | Arg | Val | Ile | Gly | Gly | Thr | Val | Phe | Val | Ala | Tyr |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| His | Arg | Asp | Ser | Tyr | Glu | Asn | Lys | Thr | Met | Gln | Leu | Ile | Pro | Asp | Asp |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Tyr | Ser | Asn | Thr | His | Ser | Thr | Arg | Tyr | Val | Thr | Val | Lys | Asp | Gln | Trp |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| His | Ser | Arg | Gly | Ser | Thr | Ala | Phe | His | Arg | Glu | Thr | Cys | Asn | Leu | Asn |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Cys | Met | Leu | Thr | Ile | Thr | Thr | Ala | Arg | Ser | Lys | Tyr | Pro | Tyr | His | Phe |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Phe | Ala | Thr | Ser | Thr | Gly | Asp | Val | Val | Tyr | Ile | Ser | Pro | Phe | Tyr | Asn |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Gly | Thr | Asn | Arg | Asn | Ala | Ser | Tyr | Phe | Gly | Glu | Asn | Ala | Asp | Lys | Phe |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Phe | Ile | Phe | Pro | Asn | Tyr | Thr | Ile | Val | Ser | Asp | Phe | Gly | Arg | Pro | Asn |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Ala | Ala | Pro | Glu | Thr | His | Arg | Leu | Val | Ala | Phe | Leu | Glu | Arg | Ala | Asp |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Ser | Val | Ile | Ser | Trp | Asp | Ile | Gln | Asp | Glu | Lys | Asn | Val | Thr | Cys | Gln |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Leu | Thr | Phe | Trp | Glu | Ala | Ser | Glu | Arg | Thr | Ile | Arg | Ser | Glu | Ala | Glu |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Asp | Ser | Tyr | His | Phe | Ser | Ser | Ala | Lys | Met | Thr | Ala | Thr | Phe | Leu | Ser |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Lys | Lys | Gln | Glu | Val | Asn | Met | Ser | Asp | Ser | Ala | Leu | Asp | Cys | Val | Arg |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Asp | Glu | Ala | Ile | Asn | Lys | Leu | Gln | Gln | Ile | Phe | Asn | Thr | Ser | Tyr | Asn |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Gln | Thr | Tyr | Glu | Lys | Tyr | Gly | Asn | Val | Ser | Val | Phe | Glu | Thr | Ser | Gly |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Gly | Leu | Val | Val | Phe | Trp | Gln | Gly | Ile | Lys | Gln | Lys | Ser | Leu | Val | Glu |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Leu | Glu | Arg | Leu | Ala | Asn | Arg | Ser | Ser | Leu | Asn | Ile | Thr | His | Thr | Thr |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Gln | Thr | Ser | Thr | Ser | Asp | Asn | Asn | Thr | Thr | His | Leu | Ser | Ser | Met | Glu |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Ser | Val | His | Asn | Leu | Val | Tyr | Ala | Gln | Leu | Gln | Phe | Thr | Tyr | Asp | Thr |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Leu | Arg | Gly | Tyr | Ile | Asn | Arg | Ala | Leu | Ala | Gln | Ile | Ala | Glu | Ala | Trp |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Cys | Val | Asp | Gln | Arg | Arg | Thr | Leu | Glu | Val | Phe | Lys | Glu | Leu | Ser | Lys |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |
| Ile | Asn | Pro | Ser | Ala | Ile | Leu | Ser | Ala | Ile | Tyr | Asn | Lys | Pro | Ile | Ala |
|     |     |     |     | 485 |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     | 495 |     |
| Ala | Arg | Phe | Met | Gly | Asp | Val | Leu | Gly | Leu | Ala | Ser | Cys | Val | Thr | Ile |
|     |     |     | 500 |     |     |     |     | 505 |     |     |     |     | 510 |     |     |
| Asn | Gln | Thr | Ser | Val | Lys | Val | Leu | Arg | Asp | Met | Asn | Val | Lys | Glu | Ser |
|     |     | 515 |     |     |     |     | 520 |     |     |     |     | 525 |     |     |     |
| Pro | Gly | Arg | Cys | Tyr | Ser | Arg | Pro | Val | Val | Ile | Phe | Asn | Phe | Ala | Asn |
|     | 530 |     |     |     |     | 535 |     |     |     |     | 540 |     |     |     |     |
| Ser | Ser | Tyr | Val | Gln | Tyr | Gly | Gln | Leu | Gly | Glu | Asp | Asn | Glu | Ile | Leu |
| 545 |     |     |     |     | 550 |     |     |     |     | 555 |     |     |     |     | 560 |
| Leu | Gly | Asn | His | Arg | Thr | Glu | Glu | Cys | Gln | Leu | Pro | Ser | Leu | Lys | Ile |
|     |     |     |     | 565 |     |     |     |     | 570 |     |     |     |     | 575 |     |
| Phe | Ile | Ala | Gly | Asn | Ser | Ala | Tyr | Glu | Tyr | Val | Asp | Tyr | Leu | Phe | Lys |
|     |     |     | 580 |     |     |     |     | 585 |     |     |     |     | 590 |     |     |
| Arg | Met | Ile | Asp | Leu | Ser | Ser | Ile | Ser | Thr | Val | Asp | Ser | Met | Ile | Ala |
|     |     | 595 |     |     |     |     | 600 |     |     |     |     | 605 |     |     |     |
| Leu | Asp | Ile | Asp | Pro | Leu | Glu | Asn | Thr | Asp | Phe | Arg | Val | Leu | Glu | Leu |
|     | 610 |     |     |     |     | 615 |     |     |     |     | 620 |     |     |     |     |
| Tyr | Ser | Gln | Lys | Glu | Leu | Arg | Ser | Ser | Asn | Val | Phe | Asp | Leu | Glu | Glu |
| 625 |     |     |     |     | 630 |     |     |     |     | 635 |     |     |     |     | 640 |
| Ile | Met | Arg | Glu | Phe | Asn | Ser | Tyr | Lys | Gln | Arg | Val | Lys | Tyr | Val | Glu |
|     |     |     |     | 645 |     |     |     |     | 650 |     |     |     |     | 655 |     |
| Asp | Lys | Val | Val | Asp | Pro | Leu | Pro | Pro | Tyr | Leu | Lys | Gly | Leu | Asp | Asp |
|     |     |     | 660 |     |     |     | 665 |     |     |     |     |     | 670 |     |     |
| Leu | Met | Ser | Gly | Leu | Gly | Ala | Ala | Gly | Lys | Ala |     |     |     |     |     |
|     |     | 675 |     |     |     |     | 680 |     |     |     |     |     |     |     |     |

<210> 17  
 <211> 2031  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia Artificial

5

<220>  
 <223> Citomegalovirus AD169

<400> 17

10

```

atggccccc tgctgcttct gctgcccctg ctttgggcag gggccctggc ccaccgggccc 60
aacgagacaa tctacaacac caccctgaag tacggcgacg tgggtgggagt gaacaccacc 120
aagtaccctt acagagtgtg ctccatggcc cagggcaccg acctgatcag attcgagcgg 180
aacatcatct gcaccagcat gaagcccatc aacgaggacc tggacgaggg catcatggtg 240
gtgtacaaga ggaacatcgt ggcccacacc ttcaagggtc gogtgtacca gaaggtgctg 300
accttcaggc ggagctacgc cggccacagg accacctacc tgctgggcag caacaccgag 360
tacgtggccc caccatgtg ggagatccac cacatcaaca agttcgccca gtgctacagc 420
agctacagcc gcgtgatcgg cggcaccgtg ttctgtggctt accacagggg cagctacgag 480
aacaagacca tgcagctgat ccccgacgac tacagcaaca cccacagcac cagatacgtg 540
accgtgaagg accagtggca cagcaggggc agcaccgcct tccacagaga gacatgcaac 600
ctgaactgca tgctgaccat caccaccgcc agaagcaagt acccttacca cttcttcgcc 660
acctctaccg gggacgtggt gtacatcagc cccttctaca acggcaccaa caggaacgcc 720
agctacttcg gcgagaacgc cgacaagttc ttcatcttcc ccaactacac catcgtgtcc 780
gacttcggca ggcccaacgc tgccccgag acacacagac tgggtggcctt tctggagagg 840
gccgacagcg tgatcagctg ggacatccag gacgagaaga acgtgacctg ccagctgacc 900
ttctgggagg ccagcgagag gaccatcaga agcgaggccg aggacagcta ccacttcagc 960
agcgccaaga tgaccgccac cttcctgagc aagaacaag aggtgaacat gagcgacagc 1020
gccctggact gcgtgaggga cgaggccatc aacaagctgc agcagatctt caacaccagc 1080
tacaaccaga cctacgagaa gtacggaaac gtgtccgtgt tccgagacaag cggcgagactg 1140
gtggtgttct ggcagggcat caagcagaag tccctggtcg agctggagag gctggccaac 1200
aggtccagcc tgaacatcac ccacaccacc cagaccagca ccagcgacaa caacaccaca 1260
cacctgagca gcatggaaa cgtgcacaac ctggtgtatg cccagctgca gttcacctac 1320
gacaccctga ggggtacat caacagagcc ctggcccaga tcgccgagggc ttggtgctgtg 1380
gaccagagaa ggaccctgga ggtgttcaag gaactgtcca agatcaaccc cagcgccatc 1440
ctgagcgcca tctacaacaa gccaatcgcc gccagattca tgggcgacgt gctgggcctg 1500
gccagctgcg tgaccatcaa ccagaccagc gtgaagggtg tcggggacat gaacgtgaag 1560
gaaagcccag gccgctgcta ctccaggccc gtggtgatct tcaacttcgc caacagctcc 1620
tacgtgcagt acggccagct gggcgaggac aacgagatcc tgctgggaaa ccacaggacc 1680
gaggaatgcc agctgccag cctgaagatc tttatcgccg gcaactccgc ctacgagtac 1740
gtggactacc tgttcaagag gatgatcgac ctgtccagca tcagcaccgt ggacagcatg 1800
atcgccctgg atatcgatcc cctggagaac accgacttca ggggtgctga gctgtactcc 1860
cagaaggaac tgaggtccag caacgtgttc gacctggagg aaatcatgag agagttcaac 1920
agctacaagc agcgcgtgaa gtacgtggag gacaagggtg tggacccctt gccccctac 1980
ctgaagggcc tggacgacct gatgagcgga ctcggggctg ctggaaaggc c 2031
    
```

<210> 18  
 <211> 677  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

15

<220>  
 <223> Citomegalovirus AD169

<400> 18

20

```

Met Ala Pro Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu Trp Ala Gly Ala Leu
 1           5           10           15
Ala His Arg Ala Asn Glu Thr Ile Tyr Asn Thr Thr Leu Lys Tyr Gly
          20          25          30
Asp Val Val Gly Val Asn Thr Thr Lys Tyr Pro Tyr Arg Val Cys Ser
          35          40          45
Met Ala Gln Gly Thr Asp Leu Ile Arg Phe Glu Arg Asn Ile Ile Cys
    
```

|                                                                 |     |     |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 50                                                              | 55  | 60  |
| Thr Ser Met Lys Pro Ile Asn Glu Asp Leu Asp Glu Gly Ile Met Val |     |     |
| 65                                                              | 70  | 75  |
| Val Tyr Lys Arg Asn Ile Val Ala His Thr Phe Lys Val Arg Val Tyr |     | 80  |
|                                                                 | 85  | 90  |
| Gln Lys Val Leu Thr Phe Arg Arg Ser Tyr Ala Gly His Arg Thr Thr |     | 95  |
|                                                                 | 100 | 105 |
| Tyr Leu Leu Gly Ser Asn Thr Glu Tyr Val Ala Pro Pro Met Trp Glu |     | 110 |
|                                                                 | 115 | 120 |
| Ile His His Ile Asn Lys Phe Ala Gln Cys Tyr Ser Ser Tyr Ser Arg |     | 125 |
|                                                                 | 130 | 135 |
| Val Ile Gly Gly Thr Val Phe Val Ala Tyr His Arg Asp Ser Tyr Glu |     | 140 |
| 145                                                             | 150 | 155 |
| Asn Lys Thr Met Gln Leu Ile Pro Asp Asp Tyr Ser Asn Thr His Ser |     | 160 |
|                                                                 | 165 | 170 |
| Thr Arg Tyr Val Thr Val Lys Asp Gln Trp His Ser Arg Gly Ser Thr |     | 175 |
|                                                                 | 180 | 185 |
| Ala Phe His Arg Glu Thr Cys Asn Leu Asn Cys Met Leu Thr Ile Thr |     | 190 |
|                                                                 | 195 | 200 |
| Thr Ala Arg Ser Lys Tyr Pro Tyr His Phe Phe Ala Thr Ser Thr Gly |     | 205 |
|                                                                 | 210 | 215 |
| Asp Val Val Tyr Ile Ser Pro Phe Tyr Asn Gly Thr Asn Arg Asn Ala |     | 220 |
| 225                                                             | 230 | 235 |
| Ser Tyr Phe Gly Glu Asn Ala Asp Lys Phe Phe Ile Phe Pro Asn Tyr |     | 240 |
|                                                                 | 245 | 250 |
| Thr Ile Val Ser Asp Phe Gly Arg Pro Asn Ala Ala Pro Glu Thr His |     | 255 |
|                                                                 | 260 | 265 |
| Arg Leu Val Ala Phe Leu Glu Arg Ala Asp Ser Val Ile Ser Trp Asp |     | 270 |
|                                                                 | 275 | 280 |
| Ile Gln Asp Glu Lys Asn Val Thr Cys Gln Leu Thr Phe Trp Glu Ala |     | 285 |
|                                                                 | 290 | 295 |
| Ser Glu Arg Thr Ile Arg Ser Glu Ala Glu Asp Ser Tyr His Phe Ser |     | 300 |
| 305                                                             | 310 | 315 |
| Ser Ala Lys Met Thr Ala Thr Phe Leu Ser Lys Lys Gln Glu Val Asn |     | 320 |
|                                                                 | 325 | 330 |
| Met Ser Asp Ser Ala Leu Asp Cys Val Arg Asp Glu Ala Ile Asn Lys |     | 335 |
|                                                                 | 340 | 345 |
| Leu Gln Gln Ile Phe Asn Thr Ser Tyr Asn Gln Thr Tyr Glu Lys Tyr |     | 350 |
|                                                                 | 355 | 360 |
| Gly Asn Val Ser Val Phe Glu Thr Ser Gly Gly Leu Val Val Phe Trp |     | 365 |
|                                                                 | 370 | 375 |
| Gln Gly Ile Lys Gln Lys Ser Leu Val Glu Leu Glu Arg Leu Ala Asn |     | 380 |
| 385                                                             | 390 | 395 |
| Arg Ser Ser Leu Asn Ile Thr His Thr Thr Gln Thr Ser Thr Ser Asp |     | 400 |
|                                                                 | 405 | 410 |
| Asn Asn Thr Thr His Leu Ser Ser Met Glu Ser Val His Asn Leu Val |     | 415 |
|                                                                 | 420 | 425 |
| Tyr Ala Gln Leu Gln Phe Thr Tyr Asp Thr Leu Arg Gly Tyr Ile Asn |     | 430 |
|                                                                 | 435 | 440 |
| Arg Ala Leu Ala Gln Ile Ala Glu Ala Trp Cys Val Asp Gln Arg Arg |     | 445 |
|                                                                 | 450 | 455 |
| Thr Leu Glu Val Phe Lys Glu Leu Ser Lys Ile Asn Pro Ser Ala Ile |     | 460 |
| 465                                                             | 470 | 475 |
| Leu Ser Ala Ile Tyr Asn Lys Pro Ile Ala Ala Arg Phe Met Gly Asp |     | 480 |
|                                                                 | 485 | 490 |
| Val Leu Gly Leu Ala Ser Cys Val Thr Ile Asn Gln Thr Ser Val Lys |     | 495 |
|                                                                 | 500 | 505 |
| Val Leu Arg Asp Met Asn Val Lys Glu Ser Pro Gly Arg Cys Tyr Ser |     | 510 |
|                                                                 | 515 | 520 |
| Arg Pro Val Val Ile Phe Asn Phe Ala Asn Ser Ser Tyr Val Gln Tyr |     | 525 |

|                                                                 |     |     |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 530                                                             | 535 | 540 |
| Gly Gln Leu Gly Glu Asp Asn Glu Ile Leu Leu Gly Asn His Arg Thr |     |     |
| 545                                                             | 550 | 555 |
| Glu Glu Cys Gln Leu Pro Ser Leu Lys Ile Phe Ile Ala Gly Asn Ser |     | 560 |
|                                                                 | 565 | 570 |
| Ala Tyr Glu Tyr Val Asp Tyr Leu Phe Lys Arg Met Ile Asp Leu Ser |     | 575 |
|                                                                 | 580 | 585 |
| Ser Ile Ser Thr Val Asp Ser Met Ile Ala Leu Asp Ile Asp Pro Leu |     | 590 |
|                                                                 | 595 | 600 |
| Glu Asn Thr Asp Phe Arg Val Leu Glu Leu Tyr Ser Gln Lys Glu Leu |     | 605 |
| 610                                                             | 615 | 620 |
| Arg Ser Ser Asn Val Phe Asp Leu Glu Glu Ile Met Arg Glu Phe Asn |     |     |
| 625                                                             | 630 | 635 |
| Ser Tyr Lys Gln Arg Val Lys Tyr Val Glu Asp Lys Val Val Asp Pro |     | 640 |
|                                                                 | 645 | 650 |
| Leu Pro Pro Tyr Leu Lys Gly Leu Asp Asp Leu Met Ser Gly Leu Gly |     | 655 |
|                                                                 | 660 | 665 |
| Ala Ala Gly Lys Ala                                             |     | 670 |
| 675                                                             |     |     |

<210> 19  
 <211> 661  
 5 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

<220>  
 <223> Citomegalovirus AD169

<400> 19

|                                                                 |
|-----------------------------------------------------------------|
| Ser His Arg Ala Asn Glu Thr Ile Tyr Asn Thr Thr Leu Lys Tyr Gly |
| 1 5 10 15                                                       |
| Asp Val Val Gly Val Asn Thr Thr Lys Tyr Pro Tyr Arg Val Cys Ser |
| 20 25 30                                                        |
| Met Ala Gln Gly Thr Asp Leu Ile Arg Phe Glu Arg Asn Ile Ile Cys |
| 35 40 45                                                        |
| Thr Ser Met Lys Pro Ile Asn Glu Asp Leu Asp Glu Gly Ile Met Val |
| 50 55 60                                                        |
| Val Tyr Lys Arg Asn Ile Val Ala His Thr Phe Lys Val Arg Val Tyr |
| 65 70 75 80                                                     |
| Gln Lys Val Leu Thr Phe Arg Arg Ser Tyr Ala Gly His Arg Thr Thr |
| 85 90 95                                                        |
| Tyr Leu Leu Gly Ser Asn Thr Glu Tyr Val Ala Pro Pro Met Trp Glu |
| 100 105 110                                                     |
| Ile His His Ile Asn Lys Phe Ala Gln Cys Tyr Ser Ser Tyr Ser Arg |
| 115 120 125                                                     |
| Val Ile Gly Gly Thr Val Phe Val Ala Tyr His Arg Asp Ser Tyr Glu |
| 130 135 140                                                     |
| Asn Lys Thr Met Gln Leu Ile Pro Asp Asp Tyr Ser Asn Thr His Ser |
| 145 150 155 160                                                 |
| Thr Arg Tyr Val Thr Val Lys Asp Gln Trp His Ser Arg Gly Ser Thr |
| 165 170 175                                                     |
| Ala Phe His Arg Glu Thr Cys Asn Leu Asn Cys Met Leu Thr Ile Thr |
| 180 185 190                                                     |
| Thr Ala Arg Ser Lys Tyr Pro Tyr His Phe Phe Ala Thr Ser Thr Gly |
| 195 200 205                                                     |
| Asp Val Val Tyr Ile Ser Pro Phe Tyr Asn Gly Thr Asn Arg Asn Ala |
| 210 215 220                                                     |
| Ser Tyr Phe Gly Glu Asn Ala Asp Lys Phe Phe Ile Phe Pro Asn Tyr |
| 225 230 235 240                                                 |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Thr | Ile | Val | Ser | Asp | Phe | Gly | Arg | Pro | Asn | Ala | Ala | Pro | Glu | Thr | His |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Arg | Leu | Val | Ala | Phe | Leu | Glu | Arg | Ala | Asp | Ser | Val | Ile | Ser | Trp | Asp |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Ile | Gln | Asp | Glu | Lys | Asn | Val | Thr | Cys | Gln | Leu | Thr | Phe | Trp | Glu | Ala |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Ser | Glu | Arg | Thr | Ile | Arg | Ser | Glu | Ala | Glu | Asp | Ser | Tyr | His | Phe | Ser |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Ser | Ala | Lys | Met | Thr | Ala | Thr | Phe | Leu | Ser | Lys | Lys | Gln | Glu | Val | Asn |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Met | Ser | Asp | Ser | Ala | Leu | Asp | Cys | Val | Arg | Asp | Glu | Ala | Ile | Asn | Lys |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Leu | Gln | Gln | Ile | Phe | Asn | Thr | Ser | Tyr | Asn | Gln | Thr | Tyr | Glu | Lys | Tyr |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Gly | Asn | Val | Ser | Val | Phe | Glu | Thr | Ser | Gly | Gly | Leu | Val | Val | Phe | Trp |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Gln | Gly | Ile | Lys | Gln | Lys | Ser | Leu | Val | Glu | Leu | Glu | Arg | Leu | Ala | Asn |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Arg | Ser | Ser | Leu | Asn | Ile | Thr | His | Thr | Thr | Gln | Thr | Ser | Thr | Ser | Asp |
| 385 |     |     |     | 390 |     |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Asn | Asn | Thr | Thr | His | Leu | Ser | Ser | Met | Glu | Ser | Val | His | Asn | Leu | Val |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Tyr | Ala | Gln | Leu | Gln | Phe | Thr | Tyr | Asp | Thr | Leu | Arg | Gly | Tyr | Ile | Asn |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Arg | Ala | Leu | Ala | Gln | Ile | Ala | Glu | Ala | Trp | Cys | Val | Asp | Gln | Arg | Arg |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Thr | Leu | Glu | Val | Phe | Lys | Glu | Leu | Ser | Lys | Ile | Asn | Pro | Ser | Ala | Ile |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Leu | Ser | Ala | Ile | Tyr | Asn | Lys | Pro | Ile | Ala | Ala | Arg | Phe | Met | Gly | Asp |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |
| Val | Leu | Gly | Leu | Ala | Ser | Cys | Val | Thr | Ile | Asn | Gln | Thr | Ser | Val | Lys |
|     |     |     |     | 485 |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     | 495 |     |
| Val | Leu | Arg | Asp | Met | Asn | Val | Lys | Glu | Ser | Pro | Gly | Arg | Cys | Tyr | Ser |
|     |     |     | 500 |     |     |     |     | 505 |     |     |     |     | 510 |     |     |
| Arg | Pro | Val | Val | Ile | Phe | Asn | Phe | Ala | Asn | Ser | Ser | Tyr | Val | Gln | Tyr |
|     |     | 515 |     |     |     |     | 520 |     |     |     |     |     | 525 |     |     |
| Gly | Gln | Leu | Gly | Glu | Asp | Asn | Glu | Ile | Leu | Leu | Gly | Asn | His | Arg | Thr |
|     | 530 |     |     |     |     | 535 |     |     |     |     | 540 |     |     |     |     |
| Glu | Glu | Cys | Gln | Leu | Pro | Ser | Leu | Lys | Ile | Phe | Ile | Ala | Gly | Asn | Ser |
| 545 |     |     |     |     | 550 |     |     |     |     | 555 |     |     |     |     | 560 |
| Ala | Tyr | Glu | Tyr | Val | Asp | Tyr | Leu | Phe | Lys | Arg | Met | Ile | Asp | Leu | Ser |
|     |     |     |     | 565 |     |     |     |     | 570 |     |     |     |     | 575 |     |
| Ser | Ile | Ser | Thr | Val | Asp | Ser | Met | Ile | Ala | Leu | Asp | Ile | Asp | Pro | Leu |
|     |     |     | 580 |     |     |     | 585 |     |     |     |     |     | 590 |     |     |
| Glu | Asn | Thr | Asp | Phe | Arg | Val | Leu | Glu | Leu | Tyr | Ser | Gln | Lys | Glu | Leu |
|     |     | 595 |     |     |     |     | 600 |     |     |     |     | 605 |     |     |     |
| Arg | Ser | Ser | Asn | Val | Phe | Asp | Leu | Glu | Glu | Ile | Met | Arg | Glu | Phe | Asn |
|     | 610 |     |     |     |     | 615 |     |     |     |     | 620 |     |     |     |     |
| Ser | Tyr | Lys | Gln | Arg | Val | Lys | Tyr | Val | Glu | Asp | Lys | Val | Val | Asp | Pro |
| 625 |     |     |     |     | 630 |     |     |     |     | 635 |     |     |     |     | 640 |
| Leu | Pro | Pro | Tyr | Leu | Lys | Gly | Leu | Asp | Asp | Leu | Met | Ser | Gly | Leu | Gly |
|     |     |     |     | 645 |     |     |     |     | 650 |     |     |     |     | 655 |     |
| Ala | Ala | Gly | Lys | Ala |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|     |     |     | 660 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

<210> 20  
<211> 660  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

5

<220>  
<223> Citomegalovirus AD169

10

<400> 20

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| His | Arg | Ala | Asn | Glu | Thr | Ile | Tyr | Asn | Thr | Thr | Leu | Lys | Tyr | Gly | Asp |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Val | Val | Gly | Val | Asn | Thr | Thr | Lys | Tyr | Pro | Tyr | Arg | Val | Cys | Ser | Met |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Ala | Gln | Gly | Thr | Asp | Leu | Ile | Arg | Phe | Glu | Arg | Asn | Ile | Ile | Cys | Thr |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Ser | Met | Lys | Pro | Ile | Asn | Glu | Asp | Leu | Asp | Glu | Gly | Ile | Met | Val | Val |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Tyr | Lys | Arg | Asn | Ile | Val | Ala | His | Thr | Phe | Lys | Val | Arg | Val | Tyr | Gln |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Lys | Val | Leu | Thr | Phe | Arg | Arg | Ser | Tyr | Ala | Gly | His | Arg | Thr | Thr | Tyr |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Leu | Leu | Gly | Ser | Asn | Thr | Glu | Tyr | Val | Ala | Pro | Pro | Met | Trp | Glu | Ile |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| His | His | Ile | Asn | Lys | Phe | Ala | Gln | Cys | Tyr | Ser | Ser | Tyr | Ser | Arg | Val |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Ile | Gly | Gly | Thr | Val | Phe | Val | Ala | Tyr | His | Arg | Asp | Ser | Tyr | Glu | Asn |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Lys | Thr | Met | Gln | Leu | Ile | Pro | Asp | Asp | Tyr | Ser | Asn | Thr | His | Ser | Thr |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Arg | Tyr | Val | Thr | Val | Lys | Asp | Gln | Trp | His | Ser | Arg | Gly | Ser | Thr | Ala |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Phe | His | Arg | Glu | Thr | Cys | Asn | Leu | Asn | Cys | Met | Leu | Thr | Ile | Thr | Thr |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| Ala | Arg | Ser | Lys | Tyr | Pro | Tyr | His | Phe | Phe | Ala | Thr | Ser | Thr | Gly | Asp |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Val | Val | Tyr | Ile | Ser | Pro | Phe | Tyr | Asn | Gly | Thr | Asn | Arg | Asn | Ala | Ser |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Phe | Gly | Glu | Asn | Ala | Asp | Lys | Phe | Phe | Ile | Phe | Pro | Asn | Tyr | Thr |
| 225 |     |     |     | 230 |     |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Ile | Val | Ser | Asp | Phe | Gly | Arg | Pro | Asn | Ala | Ala | Pro | Glu | Thr | His | Arg |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Leu | Val | Ala | Phe | Leu | Glu | Arg | Ala | Asp | Ser | Val | Ile | Ser | Trp | Asp | Ile |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Gln | Asp | Glu | Lys | Asn | Val | Thr | Cys | Gln | Leu | Thr | Phe | Trp | Glu | Ala | Ser |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Glu | Arg | Thr | Ile | Arg | Ser | Glu | Ala | Glu | Asp | Ser | Tyr | His | Phe | Ser | Ser |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Ala | Lys | Met | Thr | Ala | Thr | Phe | Leu | Ser | Lys | Lys | Gln | Glu | Val | Asn | Met |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Ser | Asp | Ser | Ala | Leu | Asp | Cys | Val | Arg | Asp | Glu | Ala | Ile | Asn | Lys | Leu |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     | 335 |     |     |
| Gln | Gln | Ile | Phe | Asn | Thr | Ser | Tyr | Asn | Gln | Thr | Tyr | Glu | Lys | Tyr | Gly |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Asn | Val | Ser | Val | Phe | Glu | Thr | Ser | Gly | Gly | Leu | Val | Val | Phe | Trp | Gln |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Gly | Ile | Lys | Gln | Lys | Ser | Leu | Val | Glu | Leu | Glu | Arg | Leu | Ala | Asn | Arg |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Ser | Ser | Leu | Asn | Ile | Thr | His | Thr | Thr | Gln | Thr | Ser | Thr | Ser | Asp | Asn |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     |     | 395 |     |     |     | 400 |
| Asn | Thr | Thr | His | Leu | Ser | Ser | Met | Glu | Ser | Val | His | Asn | Leu | Val | Tyr |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Ala | Gln | Leu | Gln | Phe | Thr | Tyr | Asp | Thr | Leu | Arg | Gly | Tyr | Ile | Asn | Arg |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Ala | Leu | Ala | Gln | Ile | Ala | Glu | Ala | Trp | Cys | Val | Asp | Gln | Arg | Arg | Thr |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Leu | Glu | Val | Phe | Lys | Glu | Leu | Ser | Lys | Ile | Asn | Pro | Ser | Ala | Ile | Leu |
| 450 |     |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Ser | Ala | Ile | Tyr | Asn | Lys | Pro | Ile | Ala | Ala | Arg | Phe | Met | Gly | Asp | Val |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |
| Leu | Gly | Leu | Ala | Ser | Cys | Val | Thr | Ile | Asn | Gln | Thr | Ser | Val | Lys | Val |
|     |     |     |     | 485 |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     | 495 |     |
| Leu | Arg | Asp | Met | Asn | Val | Lys | Glu | Ser | Pro | Gly | Arg | Cys | Tyr | Ser | Arg |
|     |     |     | 500 |     |     |     |     | 505 |     |     |     |     | 510 |     |     |
| Pro | Val | Val | Ile | Phe | Asn | Phe | Ala | Asn | Ser | Ser | Tyr | Val | Gln | Tyr | Gly |
|     |     | 515 |     |     |     |     | 520 |     |     |     |     | 525 |     |     |     |
| Gln | Leu | Gly | Glu | Asp | Asn | Glu | Ile | Leu | Leu | Gly | Asn | His | Arg | Thr | Glu |
| 530 |     |     |     |     |     | 535 |     |     |     |     | 540 |     |     |     |     |
| Glu | Cys | Gln | Leu | Pro | Ser | Leu | Lys | Ile | Phe | Ile | Ala | Gly | Asn | Ser | Ala |
| 545 |     |     |     |     | 550 |     |     |     |     | 555 |     |     |     |     | 560 |
| Tyr | Glu | Tyr | Val | Asp | Tyr | Leu | Phe | Lys | Arg | Met | Ile | Asp | Leu | Ser | Ser |
|     |     |     |     | 565 |     |     |     |     | 570 |     |     |     |     | 575 |     |
| Ile | Ser | Thr | Val | Asp | Ser | Met | Ile | Ala | Leu | Asp | Ile | Asp | Pro | Leu | Glu |
|     |     |     | 580 |     |     |     |     | 585 |     |     |     |     | 590 |     |     |
| Asn | Thr | Asp | Phe | Arg | Val | Leu | Glu | Leu | Tyr | Ser | Gln | Lys | Glu | Leu | Arg |
|     |     | 595 |     |     |     |     | 600 |     |     |     |     | 605 |     |     |     |
| Ser | Ser | Asn | Val | Phe | Asp | Leu | Glu | Glu | Ile | Met | Arg | Glu | Phe | Asn | Ser |
| 610 |     |     |     |     |     | 615 |     |     |     |     | 620 |     |     |     |     |
| Tyr | Lys | Gln | Arg | Val | Lys | Tyr | Val | Glu | Asp | Lys | Val | Val | Asp | Pro | Leu |
| 625 |     |     |     |     | 630 |     |     |     |     | 635 |     |     |     |     | 640 |
| Pro | Pro | Tyr | Leu | Lys | Gly | Leu | Asp | Asp | Leu | Met | Ser | Gly | Leu | Gly | Ala |
|     |     |     |     | 645 |     |     |     |     | 650 |     |     |     |     | 655 |     |
| Ala | Gly | Lys | Ala |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|     |     |     | 660 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

<210> 21  
 <211> 660  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

<220>  
 <223> Citomegalovirus AD169

<400> 21

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| His | Arg | Ala | Asn | Glu | Thr | Ile | Tyr | Asn | Thr | Thr | Leu | Lys | Tyr | Gly | Asp |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     | 10  |     |     |     |     |     | 15  |     |
| Val | Val | Gly | Val | Asn | Thr | Thr | Lys | Tyr | Pro | Tyr | Arg | Val | Cys | Ser | Met |
|     |     |     | 20  |     |     |     | 25  |     |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Ala | Gln | Gly | Thr | Asp | Leu | Ile | Arg | Phe | Glu | Arg | Asn | Ile | Ile | Cys | Thr |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Ser | Met | Lys | Pro | Ile | Asn | Glu | Asp | Leu | Asp | Glu | Gly | Ile | Met | Val | Val |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Tyr | Lys | Arg | Asn | Ile | Val | Ala | His | Thr | Phe | Lys | Val | Arg | Val | Tyr | Gln |
| 65  |     |     |     | 70  |     |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Lys | Val | Leu | Thr | Phe | Arg | Arg | Ser | Tyr | Ala | Gly | His | Arg | Thr | Thr | Tyr |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Leu | Leu | Gly | Ser | Asn | Thr | Glu | Tyr | Val | Ala | Pro | Pro | Met | Trp | Glu | Ile |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| His | His | Ile | Asn | Lys | Phe | Ala | Gln | Cys | Tyr | Ser | Ser | Tyr | Ser | Arg | Val |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Ile | Gly | Gly | Thr | Val | Phe | Val | Ala | Tyr | His | Arg | Asp | Ser | Tyr | Glu | Asn |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Lys | Thr | Met | Gln | Leu | Ile | Pro | Asp | Asp | Tyr | Ser | Asn | Thr | His | Ser | Thr |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|
| Arg | Tyr | Val | Thr | Val | Lys | Asp | Gln | Trp | His | Ser | Arg | Gly | Ser | Thr | Ala |  |  |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     |     | 175 |  |  |
| Phe | His | Arg | Glu | Thr | Cys | Asn | Leu | Asn | Cys | Met | Leu | Thr | Ile | Thr | Thr |  |  |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |  |  |
| Ala | Arg | Ser | Lys | Tyr | Pro | Tyr | His | Phe | Phe | Ala | Thr | Ser | Thr | Gly | Asp |  |  |
|     |     | 195 |     |     |     | 200 |     |     |     |     |     | 205 |     |     |     |  |  |
| Val | Val | Tyr | Ile | Ser | Pro | Phe | Tyr | Asn | Gly | Thr | Asn | Arg | Asn | Ala | Ser |  |  |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |  |  |
| Tyr | Phe | Gly | Glu | Asn | Ala | Asp | Lys | Phe | Phe | Ile | Phe | Pro | Asn | Tyr | Thr |  |  |
| 225 |     |     |     | 230 |     |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |  |  |
| Ile | Val | Ser | Asp | Phe | Gly | Arg | Pro | Asn | Ala | Ala | Pro | Glu | Thr | His | Arg |  |  |
|     |     |     | 245 |     |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |  |  |
| Leu | Val | Ala | Phe | Leu | Glu | Arg | Ala | Asp | Ser | Val | Ile | Ser | Trp | Asp | Ile |  |  |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     |     | 270 |     |  |  |
| Gln | Asp | Glu | Lys | Asn | Val | Thr | Cys | Gln | Leu | Thr | Phe | Trp | Glu | Ala | Ser |  |  |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     |     | 285 |     |     |  |  |
| Glu | Arg | Thr | Ile | Arg | Ser | Glu | Ala | Glu | Asp | Ser | Tyr | His | Phe | Ser | Ser |  |  |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |  |  |
| Ala | Lys | Met | Thr | Ala | Thr | Phe | Leu | Ser | Lys | Lys | Gln | Glu | Val | Asn | Met |  |  |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |  |  |
| Ser | Asp | Ser | Ala | Leu | Asp | Cys | Val | Arg | Asp | Glu | Ala | Ile | Asn | Lys | Leu |  |  |
|     |     |     | 325 |     |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |  |  |
| Gln | Gln | Ile | Phe | Asn | Thr | Ser | Tyr | Asn | Gln | Thr | Tyr | Glu | Lys | Tyr | Gly |  |  |
|     |     | 340 |     |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |  |  |
| Asn | Val | Ser | Val | Phe | Glu | Thr | Ser | Gly | Gly | Leu | Val | Val | Phe | Trp | Gln |  |  |
|     | 355 |     |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |  |  |
| Gly | Ile | Lys | Gln | Lys | Ser | Leu | Val | Glu | Leu | Glu | Arg | Leu | Ala | Asn | Arg |  |  |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |  |  |
| Ser | Ser | Leu | Asn | Ile | Thr | His | Thr | Thr | Gln | Thr | Ser | Thr | Ser | Asp | Asn |  |  |
| 385 |     |     |     | 390 |     |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |  |  |
| Asn | Thr | Thr | His | Leu | Ser | Ser | Met | Glu | Ser | Val | His | Asn | Leu | Val | Tyr |  |  |
|     |     |     | 405 |     |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |  |  |
| Ala | Gln | Leu | Gln | Phe | Thr | Tyr | Asp | Thr | Leu | Arg | Gly | Tyr | Ile | Asn | Arg |  |  |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |  |  |
| Ala | Leu | Ala | Gln | Ile | Ala | Glu | Ala | Trp | Cys | Val | Asp | Gln | Arg | Arg | Thr |  |  |
|     | 435 |     |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |  |  |
| Leu | Glu | Val | Phe | Lys | Glu | Leu | Ser | Lys | Ile | Asn | Pro | Ser | Ala | Ile | Leu |  |  |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |  |  |
| Ser | Ala | Ile | Tyr | Asn | Lys | Pro | Ile | Ala | Ala | Arg | Phe | Met | Gly | Asp | Val |  |  |
| 465 |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |     |  |  |
| Leu | Gly | Leu | Ala | Ser | Cys | Val | Thr | Ile | Asn | Gln | Thr | Ser | Val | Lys | Val |  |  |
|     |     |     | 485 |     |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     | 495 |     |  |  |
| Leu | Arg | Asp | Met | Asn | Val | Lys | Glu | Ser | Pro | Gly | Arg | Cys | Tyr | Ser | Arg |  |  |
|     |     | 500 |     |     |     |     |     | 505 |     |     |     |     | 510 |     |     |  |  |
| Pro | Val | Val | Ile | Phe | Asn | Phe | Ala | Asn | Ser | Ser | Tyr | Val | Gln | Tyr | Gly |  |  |
|     | 515 |     |     |     |     |     | 520 |     |     |     |     | 525 |     |     |     |  |  |
| Gln | Leu | Gly | Glu | Asp | Asn | Glu | Ile | Leu | Leu | Gly | Asn | His | Arg | Thr | Glu |  |  |
|     | 530 |     |     |     |     | 535 |     |     |     |     | 540 |     |     |     |     |  |  |
| Glu | Cys | Gln | Leu | Pro | Ser | Leu | Lys | Ile | Phe | Ile | Ala | Gly | Asn | Ser | Ala |  |  |
| 545 |     |     |     | 550 |     |     |     |     |     | 555 |     |     |     |     | 560 |  |  |
| Tyr | Glu | Tyr | Val | Asp | Tyr | Leu | Phe | Lys | Arg | Met | Ile | Asp | Leu | Ser | Ser |  |  |
|     |     |     | 565 |     |     |     |     |     | 570 |     |     |     |     | 575 |     |  |  |
| Ile | Ser | Thr | Val | Asp | Ser | Met | Ile | Ala | Leu | Asp | Ile | Asp | Pro | Leu | Glu |  |  |
|     |     | 580 |     |     |     |     |     | 585 |     |     |     |     | 590 |     |     |  |  |
| Asn | Thr | Asp | Phe | Arg | Val | Leu | Glu | Leu | Tyr | Ser | Gln | Lys | Glu | Leu | Arg |  |  |
|     | 595 |     |     |     |     |     | 600 |     |     |     |     | 605 |     |     |     |  |  |
| Ser | Ser | Asn | Val | Phe | Asp | Leu | Glu | Glu | Ile | Met | Arg | Glu | Phe | Asn | Ser |  |  |
|     | 610 |     |     |     |     | 615 |     |     |     |     | 620 |     |     |     |     |  |  |
| Tyr | Lys | Gln | Arg | Val | Lys | Tyr | Val | Glu | Asp | Lys | Val | Val | Asp | Pro | Leu |  |  |
| 625 |     |     |     |     | 630 |     |     |     |     | 635 |     |     |     |     | 640 |  |  |

Pro Pro Tyr Leu Lys Gly Leu Asp Asp Leu Met Ser Gly Leu Gly Ala  
645 650 655  
Ala Gly Lys Ala  
660

5 <210> 22  
<211> 24  
<212> ADN  
<213> Secuencia Artificial

10 <220>  
<223> Citomegalovirus AD169

<400> 22  
gaaagcgggc agtgagcgga aggc 24

15 <210> 23  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Secuencia Artificial

20 <220>  
<223> Citomegalovirus AD169

<400> 23  
tgtcctccac gtacttcacg cgctgc 26

25 <210> 24  
<211> 26  
<212> ADN  
<213> Secuencia Artificial

30 <220>  
<223> Citomegalovirus AD169

<400> 24  
cccgaacgac cgagcgcagc gagtca 26

35 <210> 25  
<211> 24  
<212> ADN  
<213> Secuencia Artificial

40 <220>  
<223> Citomegalovirus AD169

<400> 25  
ccagctggcg aaaggggat gtgc 24

45 <210> 26  
<211> 228  
<212> ADN  
<213> Secuencia Artificial

50 <220>  
<223> Citomegalovirus AD169

55 <400> 26

atcgatcccc tggagaacac cgacttcagg gtgctggagc tgtactccca gaaggaactg 60

aggtccagca acgtgttcga cctggaggaa atcatgagag agttcaacag ctacaagcag 120  
cgcggtgaagt acgtggagga caagggtggtg gacccctgc cccctacct gaagggcctg 180  
gacgacctga tgagcggact cggggctgct ggaaaggcct gaggatcc 228

<210> 27

<211> 91

5 <212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Citomegalovirus AD169

10

<400> 27

aatcaaaagc ttactagtgc cgccaccatg gccccctgc tgcttctgct gccccctgctt 60  
tgggcagggg ccctggccca ccggggcaac g 91

15 <210> 28

<211> 38

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

20 <220>

<223> Citomegalovirus AD169

<400> 28

gtaataggat ccgtacctc atcaggcctt tccagcag 38

25

<210> 29

<211> 42

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

30

<220>

<223> Citomegalovirus AD169

<400> 29

35 aatcaaaagc ttactagtgc cgccaccatg gccccctgc tg 42

<210> 30

<211> 59

<212> ADN

40 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Citomegalovirus AD169

45 <400> 30

gacttatagg atcctcatca gtggtgtga tgatggtggc cgccggcctt tccagcagc 59

<210> 31

<211> 40

50 <212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Citomegalovirus AD169

55

<400> 31

gtgcatctg tgctgggat ccgaggccgt gagccacagg 40

<210> 32  
 <211> 40  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia Artificial  
 5  
 <220>  
 <223> Citomegalovirus AD169  
 <400> 32  
 10 cctgtggctc acggcctcgg atcccaggca cacgatgcac 40  
 <210> 33  
 <211> 55  
 <212> ADN  
 15 <213> Secuencia Artificial  
 <220>  
 <223> Citomegalovirus AD169  
 20 <400> 33  
 gtgaacctgt gcatcgtgtg cctggccctg gccagccacc gggccaacga gacaa 55  
 <210> 34  
 <211> 55  
 25 <212> ADN  
 <213> Secuencia Artificial  
 <220>  
 <223> Citomegalovirus AD169  
 30 <400> 34  
 ttgtctcgtt ggcccgtgtg ctggccaggg ccaggcacac gatgcacagg ttcac 55  
 <210> 35  
 <211> 55  
 35 <212> ADN  
 <213> Secuencia Artificial  
 <220>  
 40 <223> Citomegalovirus AD169  
 <400> 35  
 cctgtgcatc gtgtgcctgg gagccctggc cagccaccgg gccaacgaga caatc 55  
 45 <210> 36  
 <211> 55  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia Artificial  
 50 <220>  
 <223> Citomegalovirus AD169  
 <400> 36  
 gattgtctcg ttggcccgtg ggctggccag ggctcccagg cacacgatgc acagg 55  
 55 <210> 37  
 <211> 68  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia Artificial  
 60 <220>  
 <223> Citomegalovirus AD169  
 <400> 37  
 65

## ES 2 635 014 T3

tggtgtgcgt gaacctgtgc atcgtgctcc tgggagccct ggcccaccgg gccaacgaga 60  
caatctac 68

<210> 38

<211> 68

5 <212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

10 <223> Citomegalovirus AD169

<400> 38

gtagattgtc tcgttggccc ggtggggccag ggctcccagg agcacgatgc acaggttcac 60  
gcacacca 68

15

## REIVINDICACIONES

1. Un polipéptido gB del citomegalovirus (CMV) que comprende un dominio transmembrana (TM) no funcional, en el que al menos el 50 %, al menos el 70 %, al menos el 80 % o al menos el 90 % de los aminoácidos del dominio TM está suprimido, y al menos una porción del dominio extracelular de la proteína gB que comprende un dominio de bucle de fusión 1 (FL1) definido por los aminoácidos Y.I.Y emplazados en la posición 155-157 de la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 1, o en una posición correspondiente en otros polipéptidos gB del CMV, y un dominio de bucle de fusión 2 (FL2) definido por los aminoácidos W.L.Y emplazados en la posición 240-242 de la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 1, o en una posición correspondiente en otros polipéptidos gB del CMV, en el que al menos el dominio FL1 comprende la sustitución de al menos un aminoácido seleccionado de Y.I.Y emplazados en la posición 155-157 de la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 1, o en una posición correspondiente en otros polipéptidos gB del CMV, por un aminoácido polar que no sea un aminoácido aromático.
2. El polipéptido gB del CMV de la reivindicación 1, en el que el dominio TM se hace no funcional suprimiendo los aminoácidos de aminoácido 701 a 775 de la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 1, o en una posición correspondiente en otros polipéptidos gB del CMV.
3. El polipéptido gB del CMV de la reivindicación 1 o reivindicación 2, que comprende una delección de al menos el 80 %, al menos el 90 %, al menos el 95 % de los aminoácidos del dominio citoplasmático, o una delección del dominio citoplasmático completo.
4. El polipéptido gB del CMV de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el aminoácido polar se selecciona del grupo de aminoácidos con carga positiva que consiste en lisina (K), histidina (H) y arginina (R).
5. El polipéptido gB del CMV de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que los aminoácidos Y.I.Y emplazados en la posición 155-157 en el dominio de bucle de fusión FL1 de la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 1, o en una posición correspondiente en otros polipéptidos gB del CMV, están sustituidos por los aminoácidos G.H.R, respectivamente.
6. El polipéptido gB del CMV de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que los aminoácidos Y.I.Y emplazados en la posición 155-157 en el dominio de bucle de fusión FL1 de la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 1, o en una posición correspondientes en otros polipéptidos gB del CMV, están sustituidos por un tramo de aminoácidos que tiene una puntuación de hidrofobicidad inferior a -3, inferior a -7, inferior a -8, medido por la escala de Kyte y Doolittle.
7. El polipéptido gB del CMV de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que el dominio de bucle de fusión FL2 comprende la sustitución de al menos un aminoácido seleccionado de W.L.Y emplazados en la posición 240-242 de la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 1, o en una posición correspondiente en otros polipéptidos gB del CMV, por un aminoácido con carga positiva seleccionado del grupo que consiste en lisina (K), histidina (H) y arginina (R).
8. El polipéptido gB del CMV de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que los aminoácidos W.L.Y emplazados en la posición 240-242 en el dominio de bucle de fusión FL2 de la secuencia expuesta en SEQ ID NO: 1, o en una posición correspondiente en otros polipéptidos gB del CMV, están sustituidos por los aminoácidos A.F.H, respectivamente.
9. El polipéptido gB del CMV de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, que comprende una delección de al menos el 40 %, al menos el 50 %, al menos el 70 %, al menos el 80 %, al menos el 90 % de los aminoácidos de la secuencia líder, o de la secuencia líder completa.
10. Un polipéptido gB del CMV que tiene la secuencia seleccionada del grupo que consiste en las secuencias expuestas en: SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20 y SEQ ID NO: 21.
11. Una composición inmunogénica que comprende el polipéptido gB del CMV de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, mezclado con un vehículo farmacéutico adecuado.
12. La composición inmunogénica de la reivindicación 11, que comprende adicionalmente un adyuvante que comprende 3D-MPL y QS21 en una formulación liposomal.
13. Un polinucleótido que codifica el polipéptido gB del CMV de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9.
14. Un polinucleótido que tiene la secuencia seleccionada del grupo que consiste en las secuencias expuestas en: SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15 y SEQ ID NO: 17.
15. Un vector recombinante que comprende el polinucleótido de la reivindicación 13 o reivindicación 14.
16. Una célula hospedadora transformada con el vector recombinante de la reivindicación 15.

17. El polipéptido gB del CMV de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 o la composición de cualquiera de las reivindicaciones 11 y 12, para su uso en la prevención y/o el tratamiento de una infección por CMV.

18. El polipéptido gB del CMV de la reivindicación 17, para su uso en la prevención de una infección congénita por CMV en un recién nacido.

FIG. 1

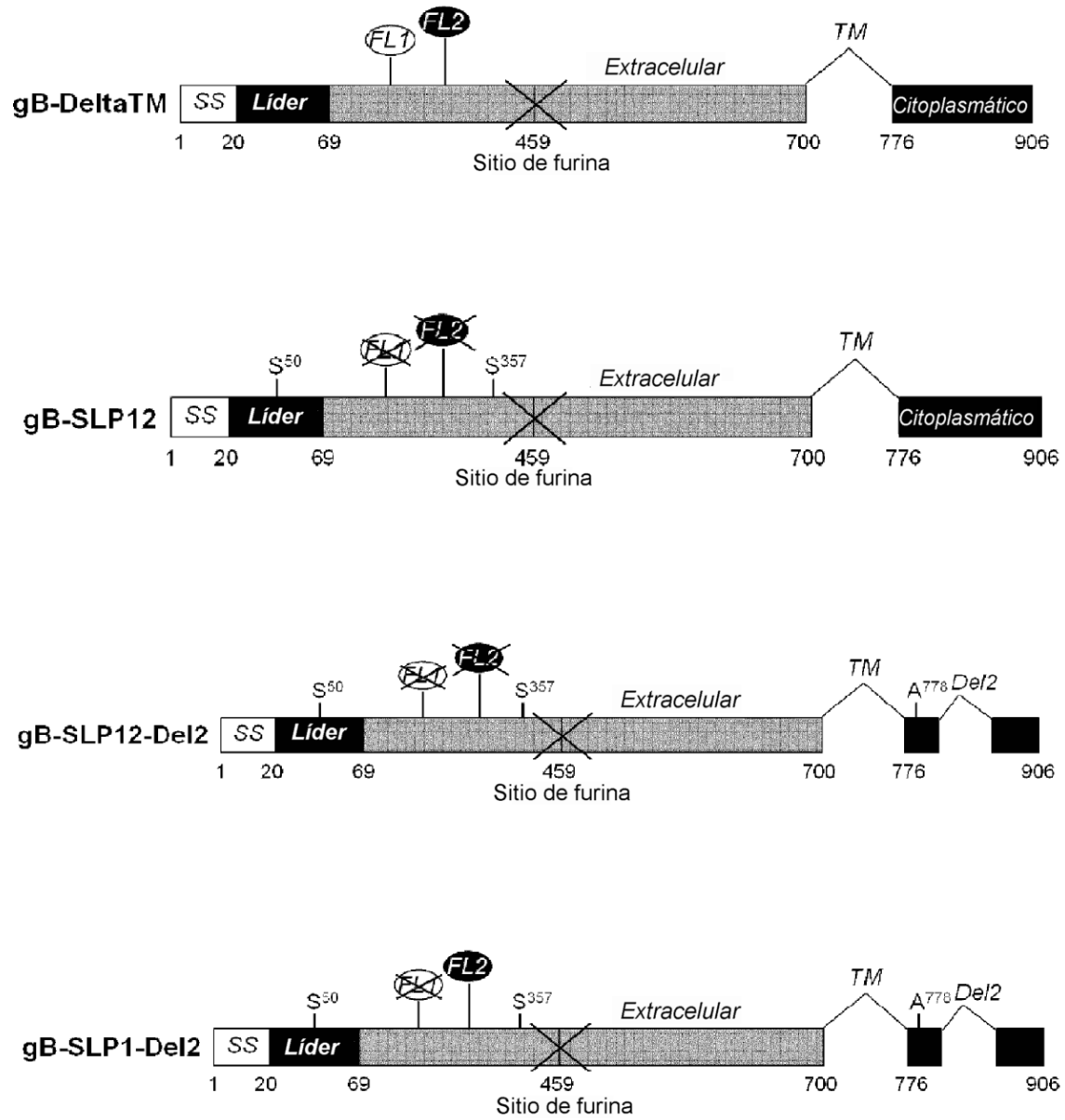


FIG. 2

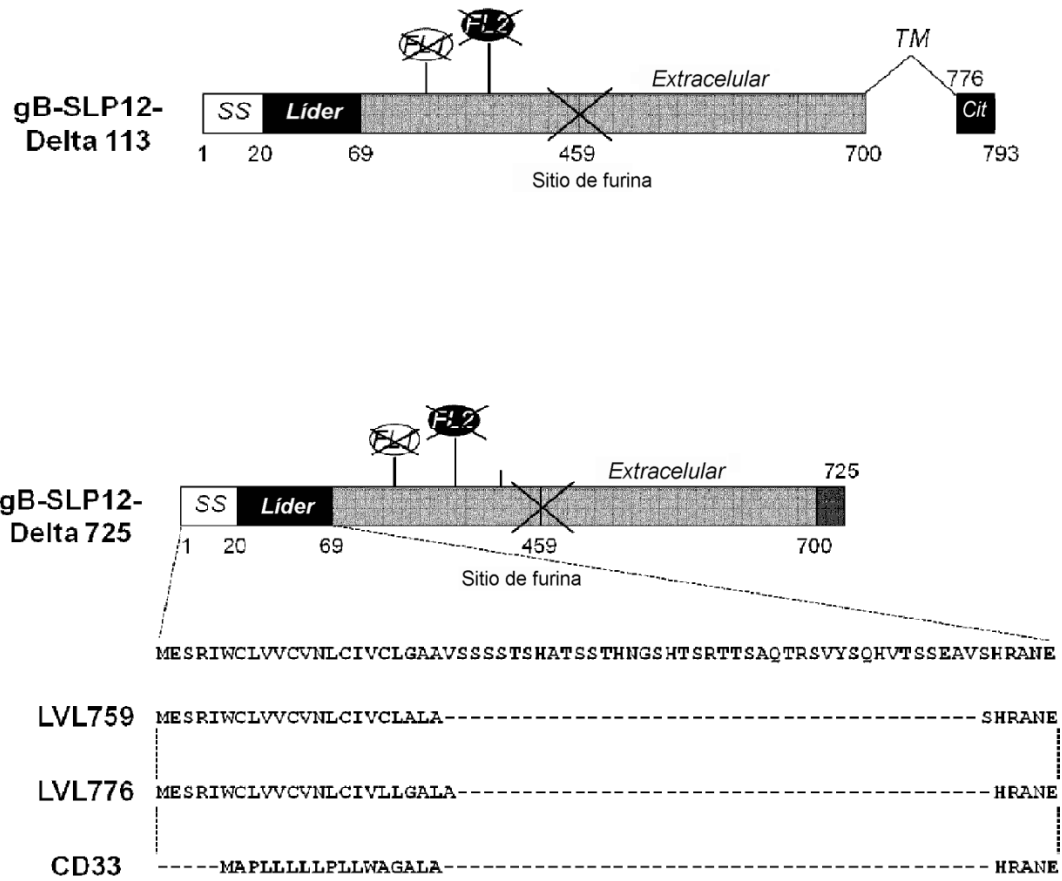


FIG. 3

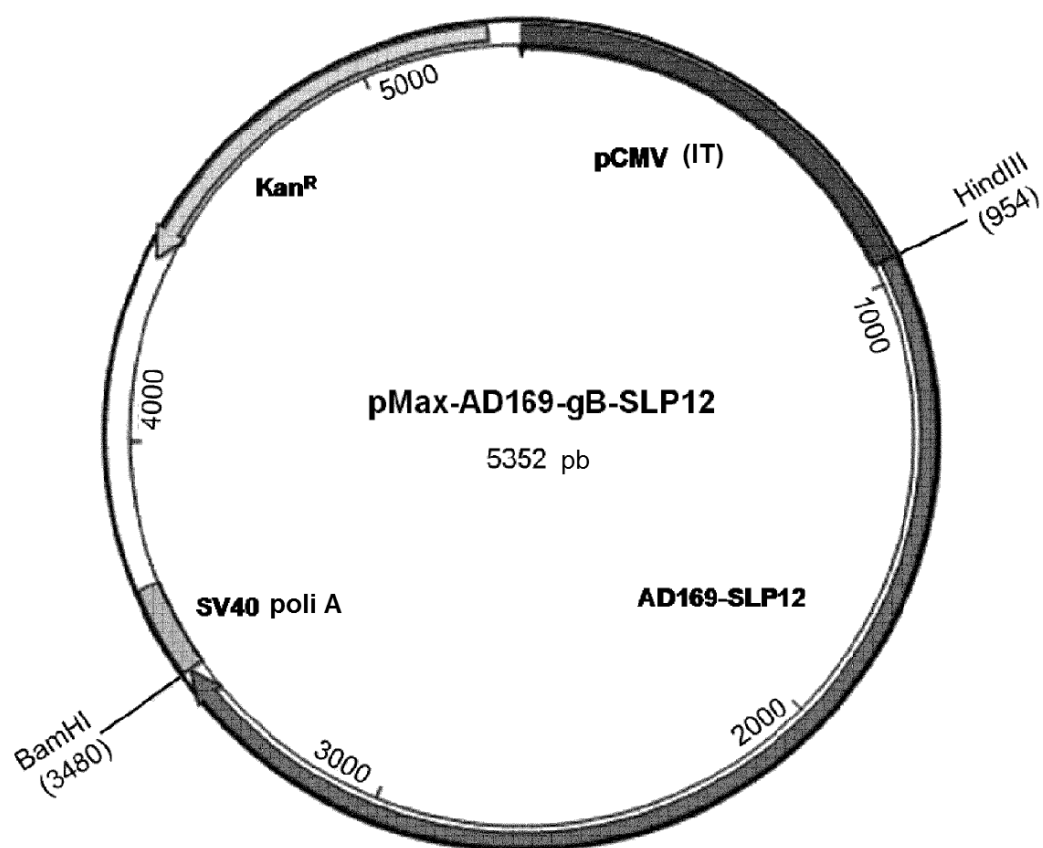
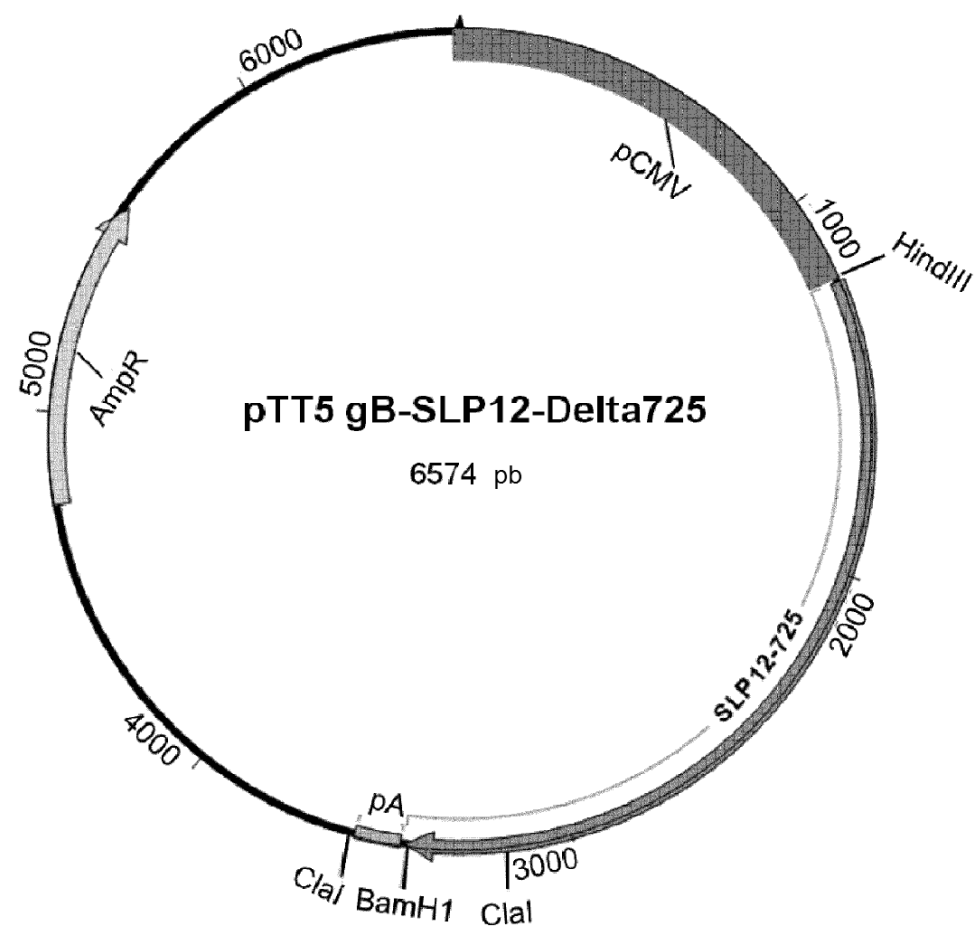


FIG. 4



**FIG. 5**

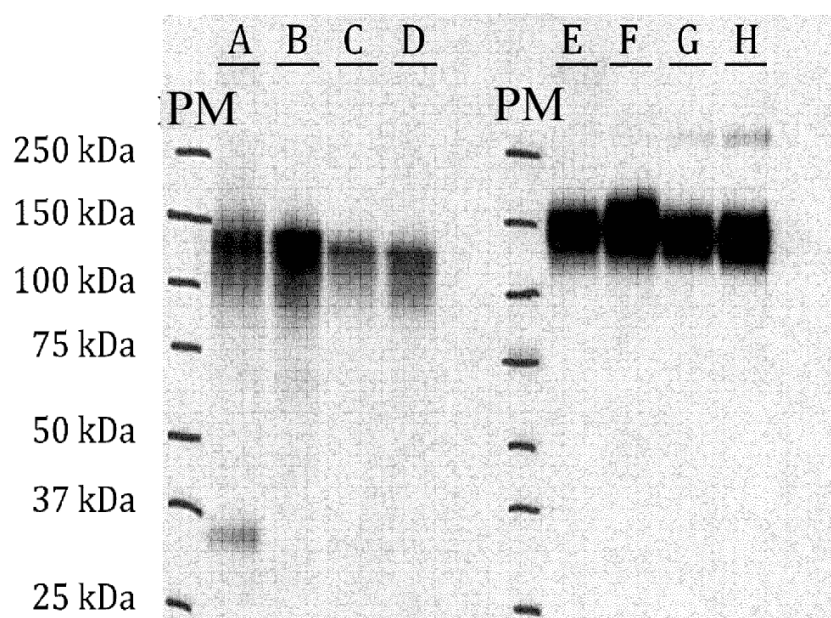
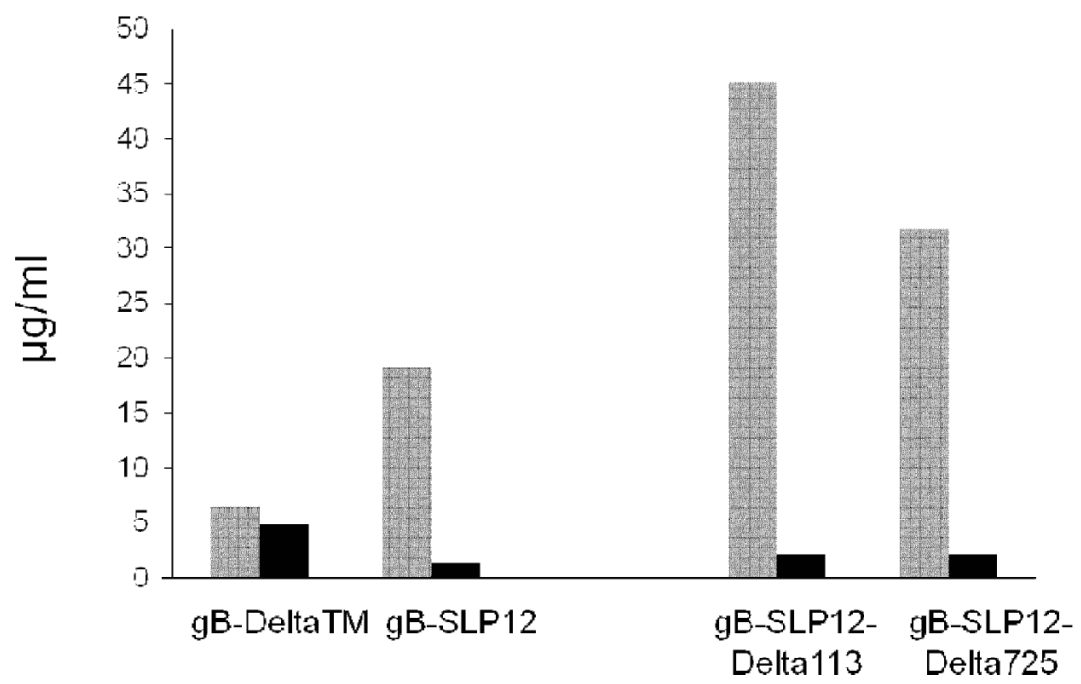
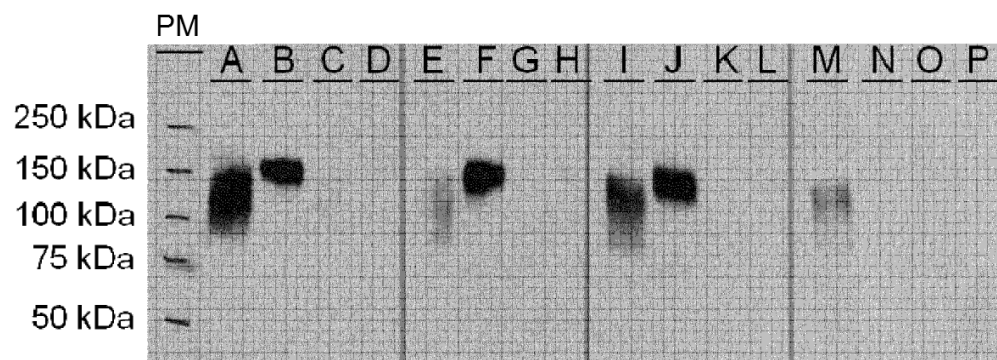


FIG. 6



**FIG. 7A**



**FIG. 7B**

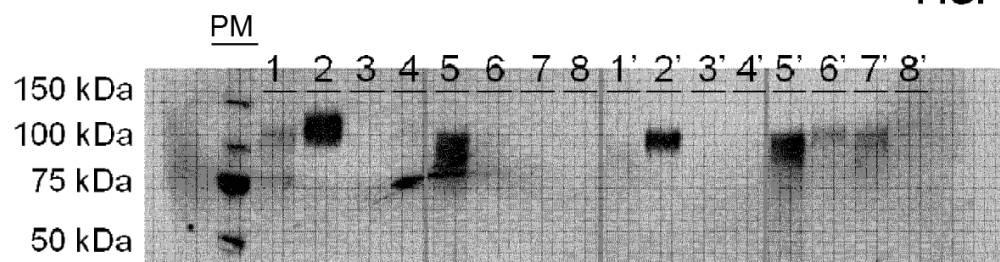


FIG. 8A

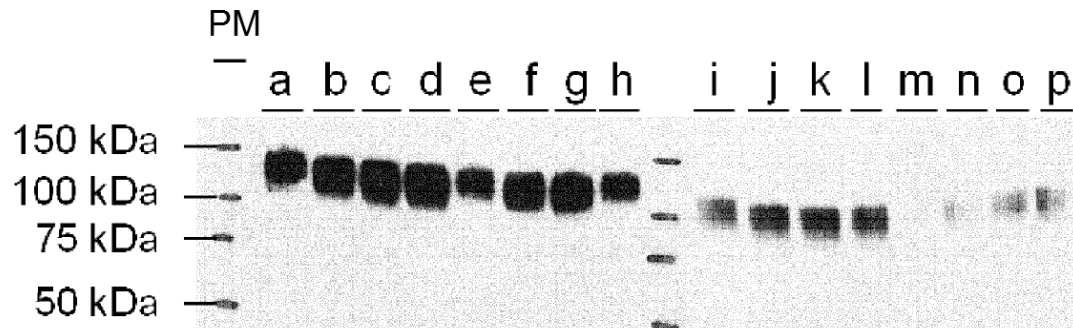
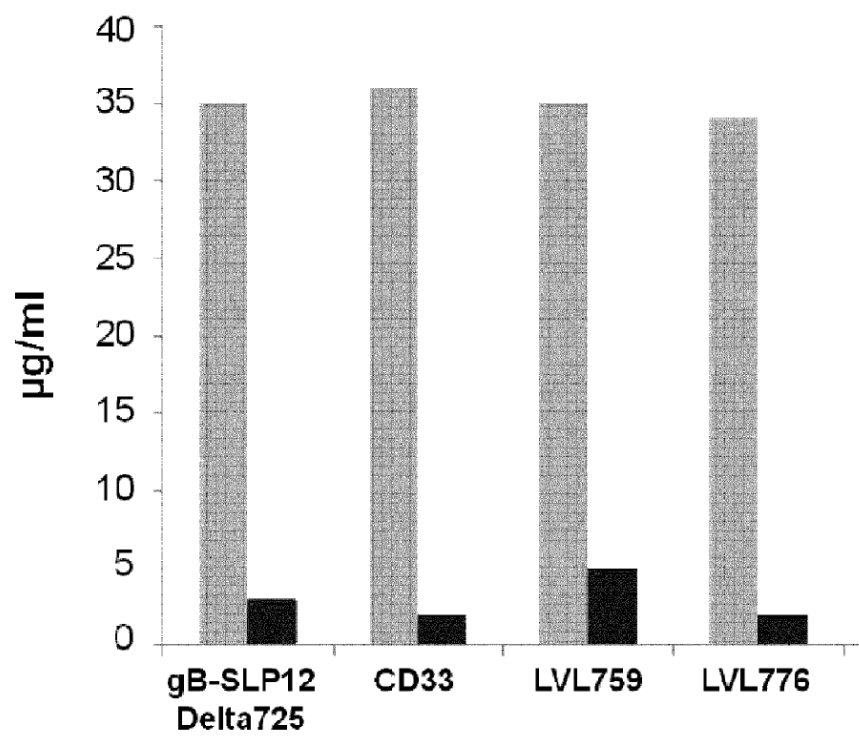


FIG. 8B



**FIG. 9**

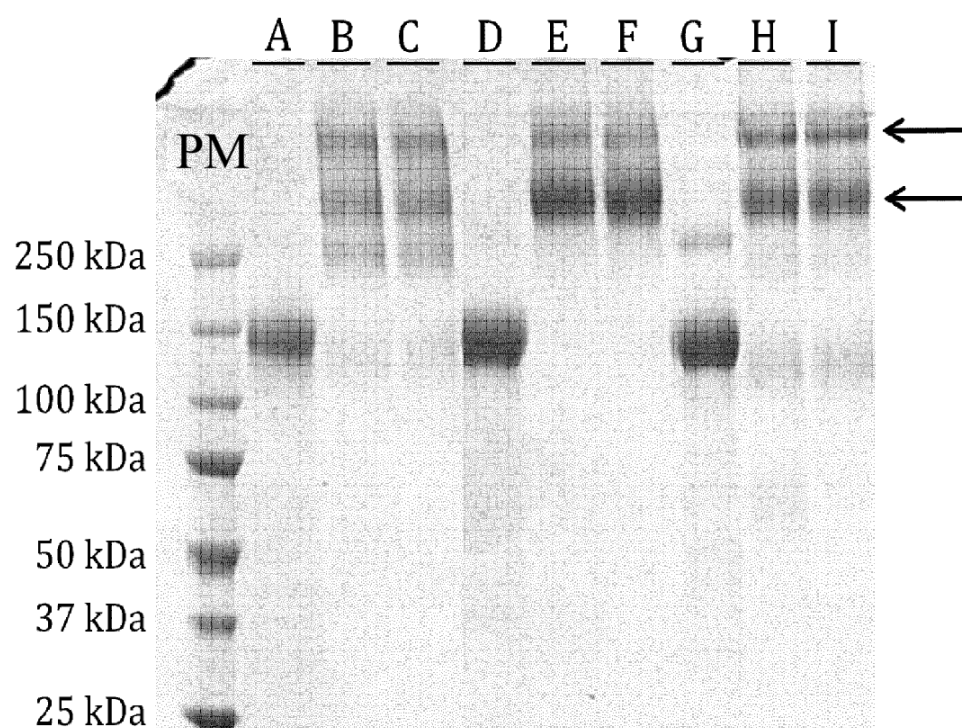
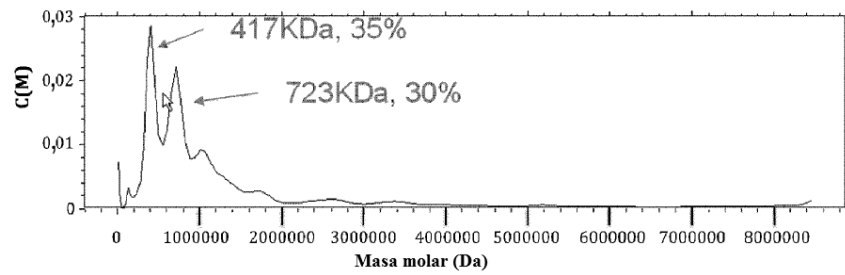
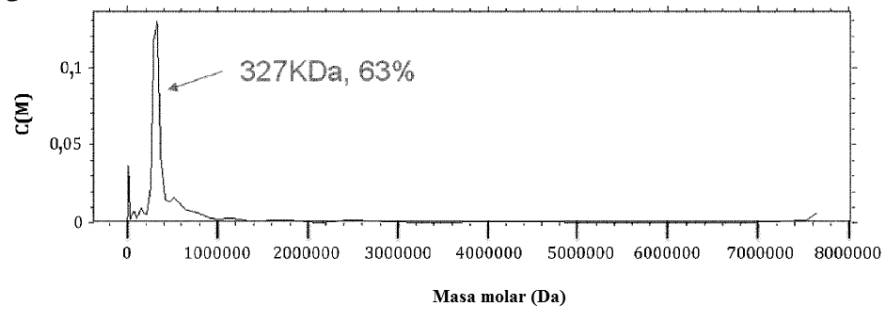


FIG. 10

**gB-DeltaTM**



**gB-SLP12**



**gB-SLP1-Del2**

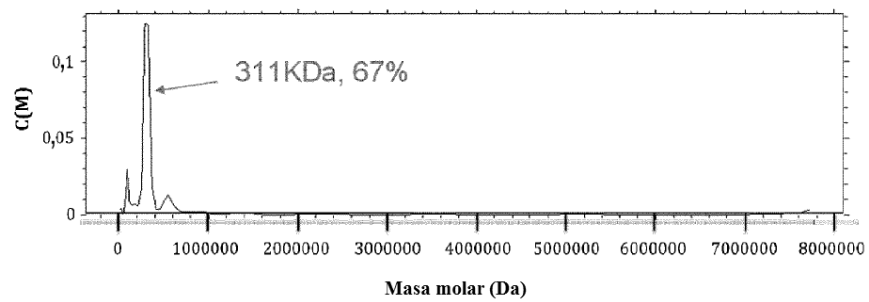
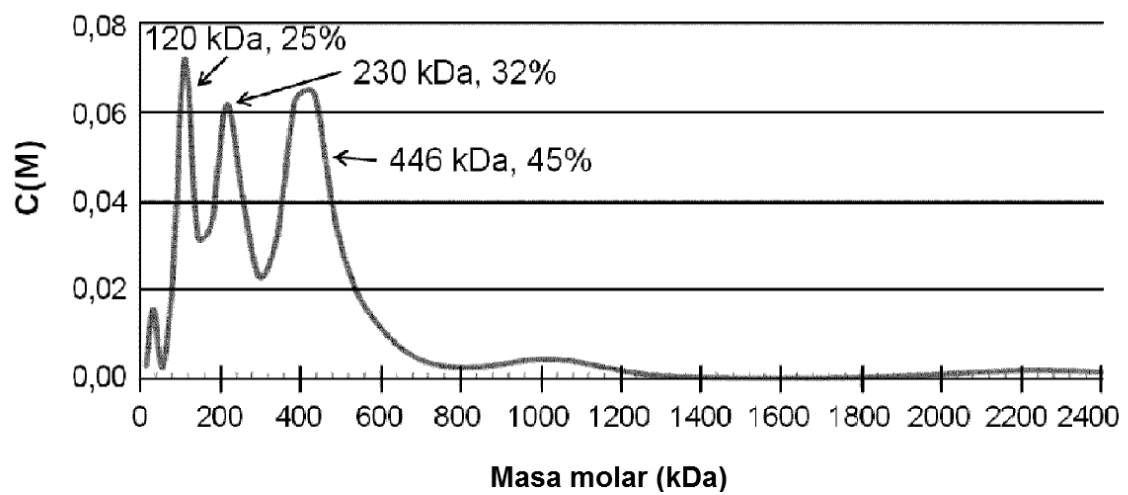


FIG. 11A

**gB-Delta113 - Pluronic al 0,1 %**



**gB-Delta113 - Sin detergente**

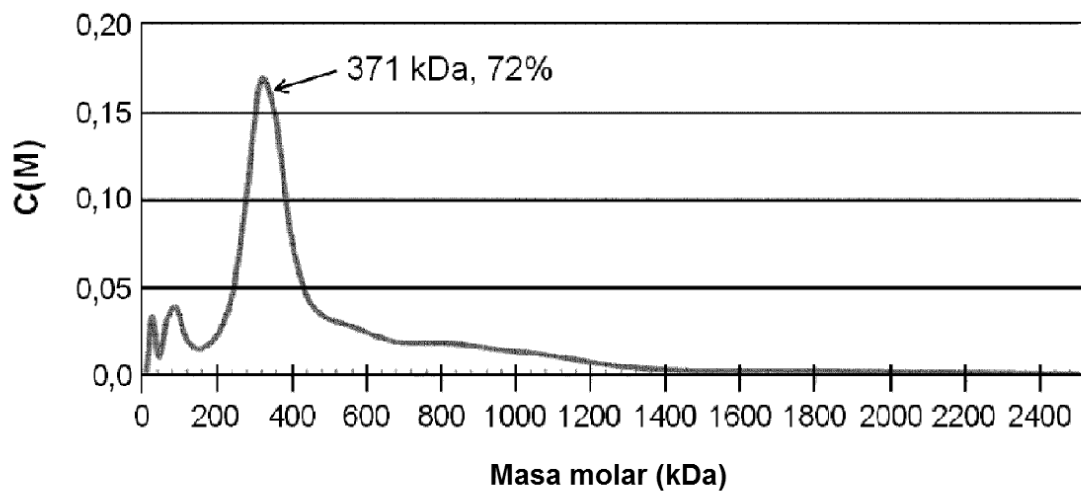
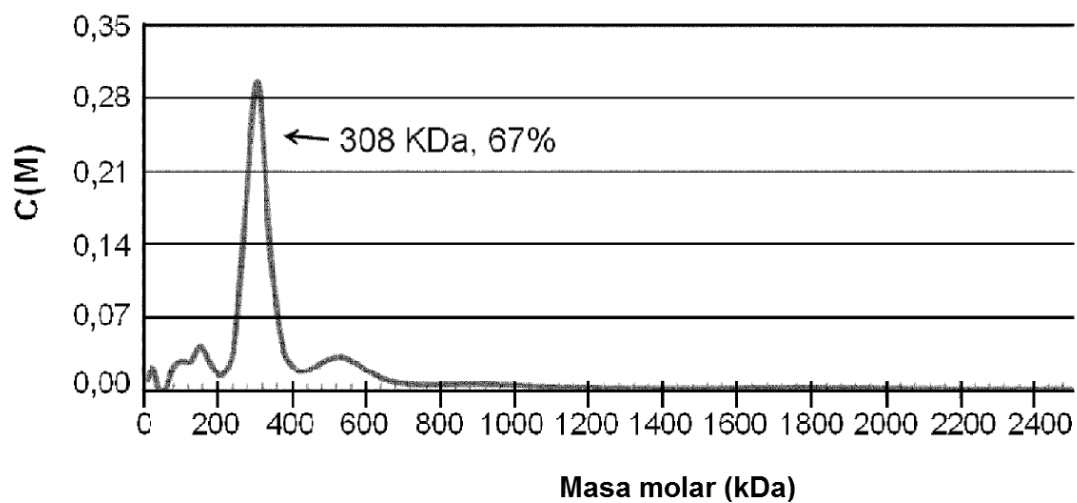


FIG. 11B

**gB-Delta725 - Pluronic al 0,1 %**



**gB-Delta725 - Sin detergente**

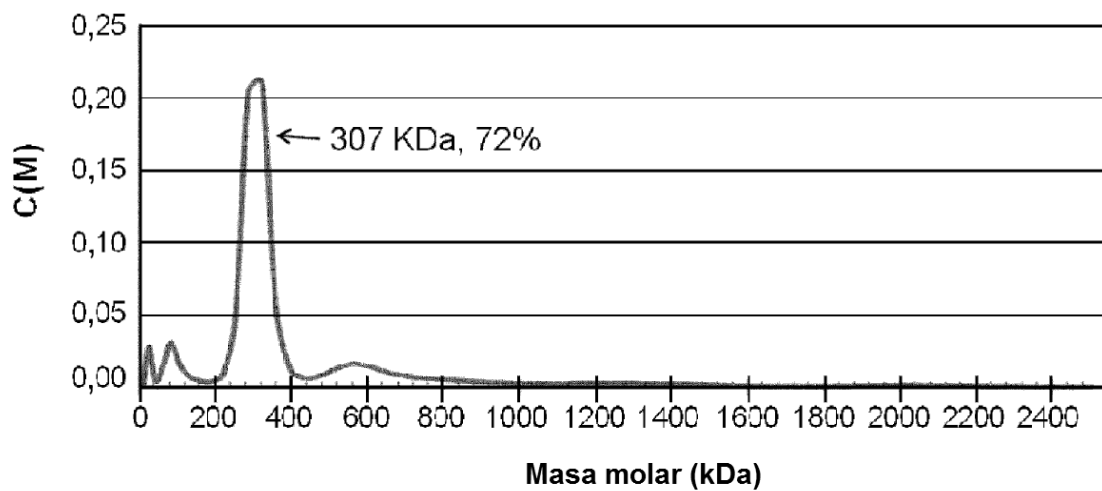
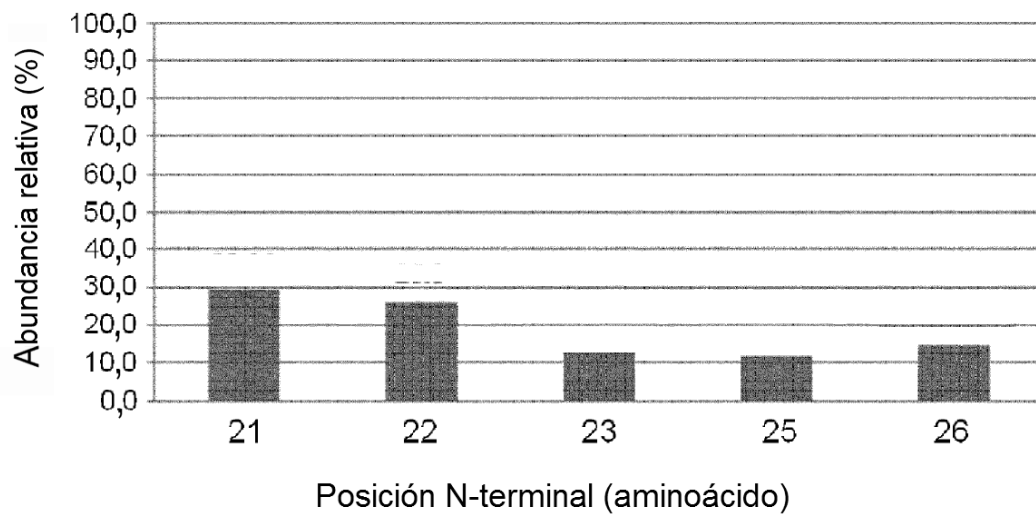


FIG. 12A

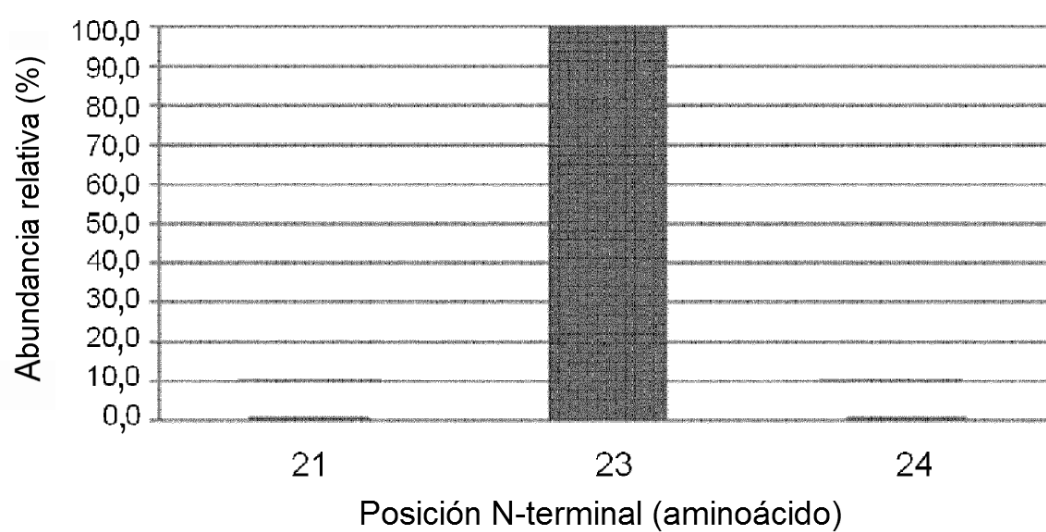
**gB-SLP12-Delta725**



MESRIWCLVV CVNLCIVCLG <sup>21</sup>A <sup>23</sup>A <sup>26</sup>VS <sup>22</sup>S <sup>25</sup>SSTSHATSSTHNGSHTSRTTSAQTR...

FIG. 12B

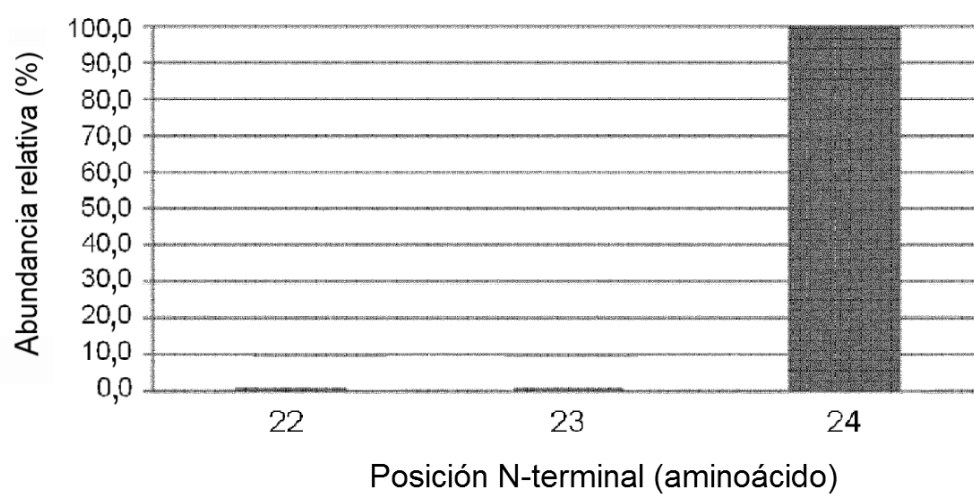
**gB-SLP12-Delta725-LVL759**



21 23  
 MESRIWCLVV CVNLCIVCLA |LA|S|HRANETIYNTTLKYGDVVGVNNTTKYPY...  
 24

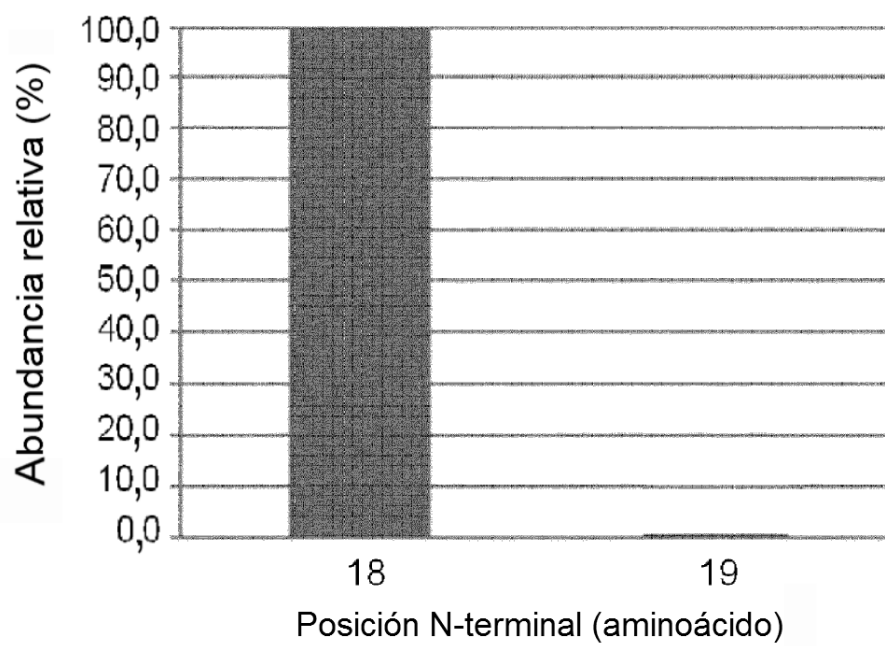
FIG. 12C

**gB-SLP12-Delta725-LVL776**



MESRIWCLVV CVNLCIVLLG A <sup>22</sup> <sup>24</sup>  
 | <sup>23</sup> |  
 L A H R A N E T I Y N T T L K Y G D V V G V N T T K Y P Y ...

FIG. 12D

**gB-SLP12-Delta725-CD33**

18 19  
MAPLLLLLPL LWAGALA | H | RA NETIYNTTLKYGDVVGVNTTKYPYRVCSMA ...

FIG. 13

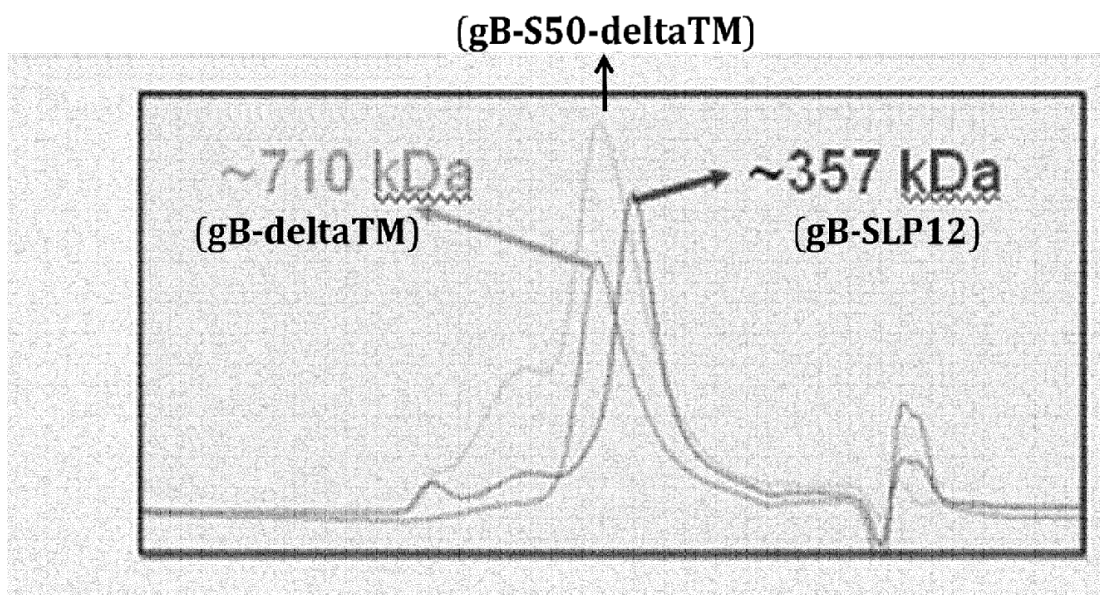


FIG. 14A

**gB-DeltaTM**

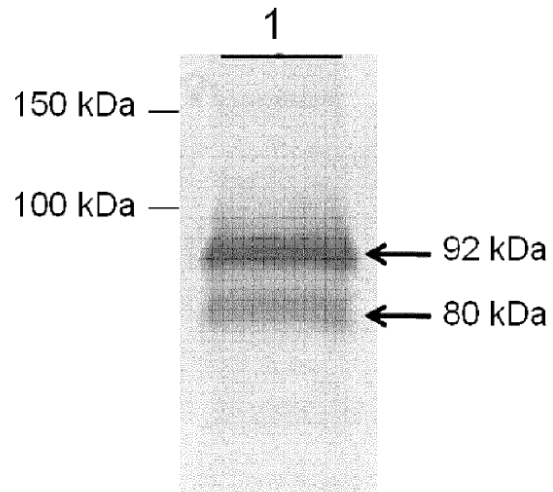


FIG. 14B

**gB-SLP12**

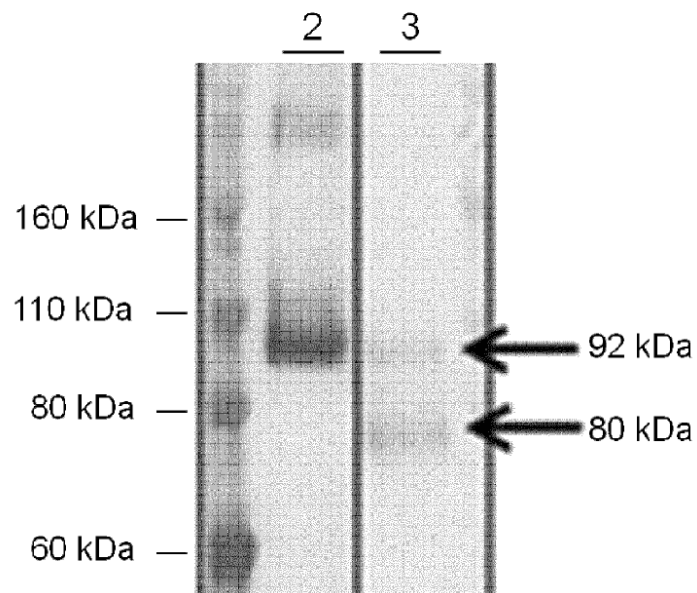


FIG. 14C

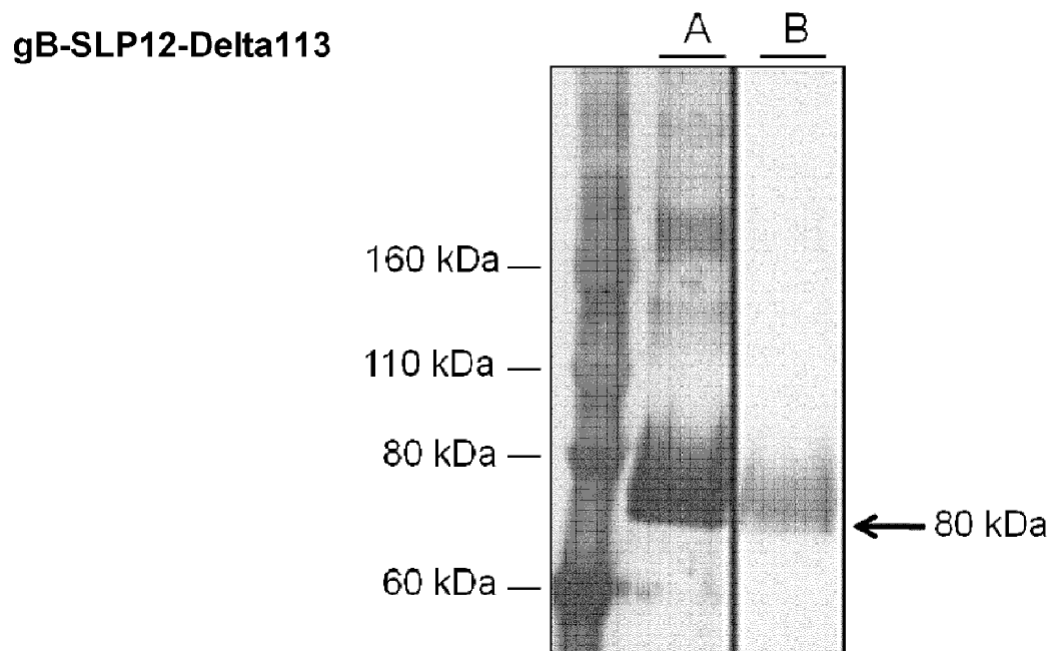


FIG. 14D

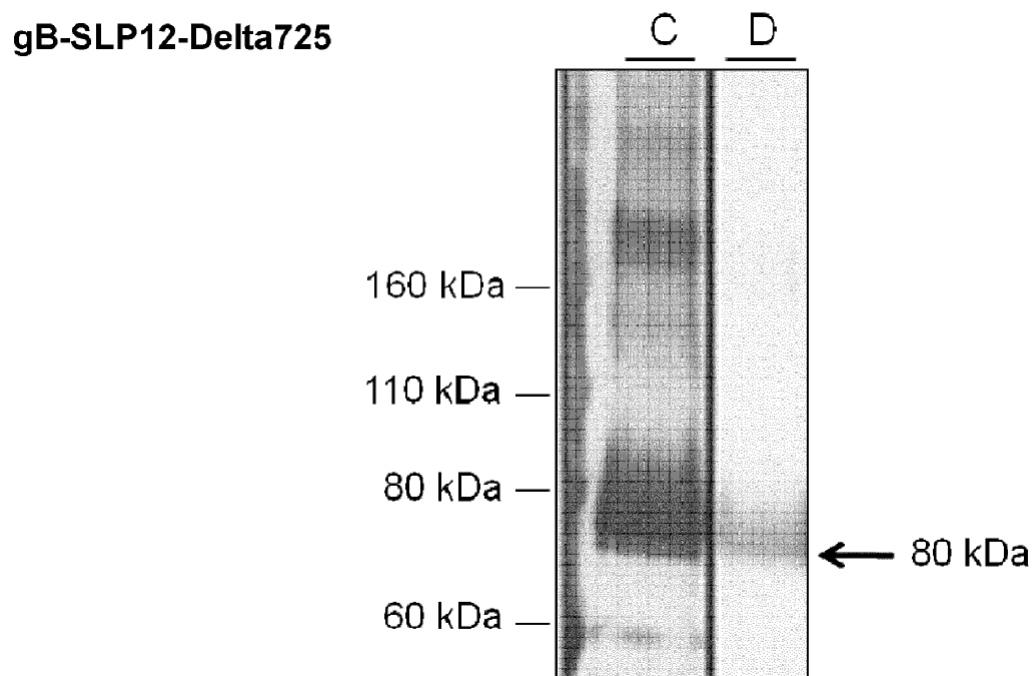


FIG. 15A

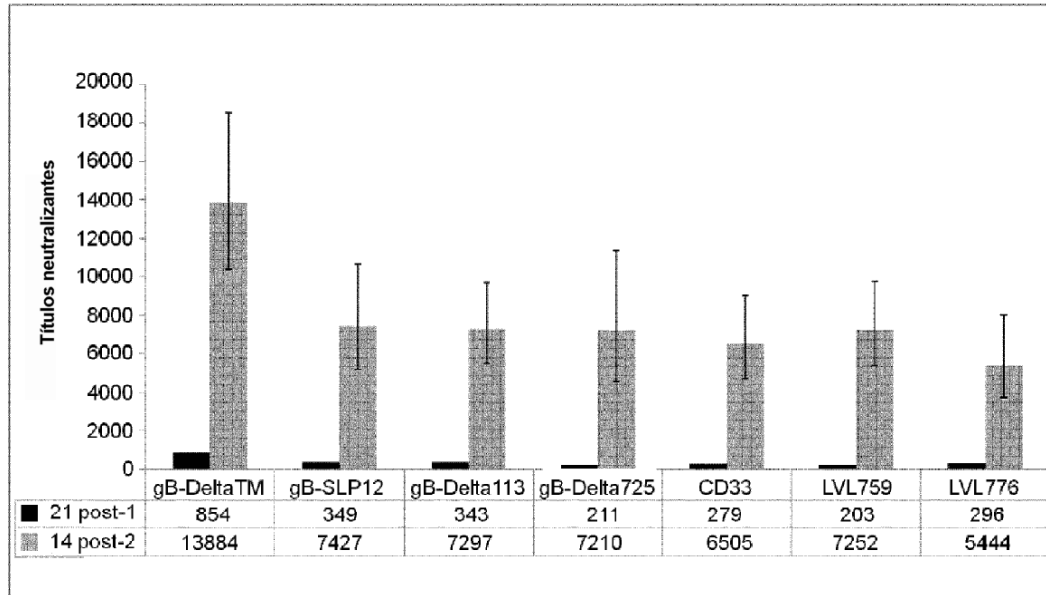


FIG. 15B

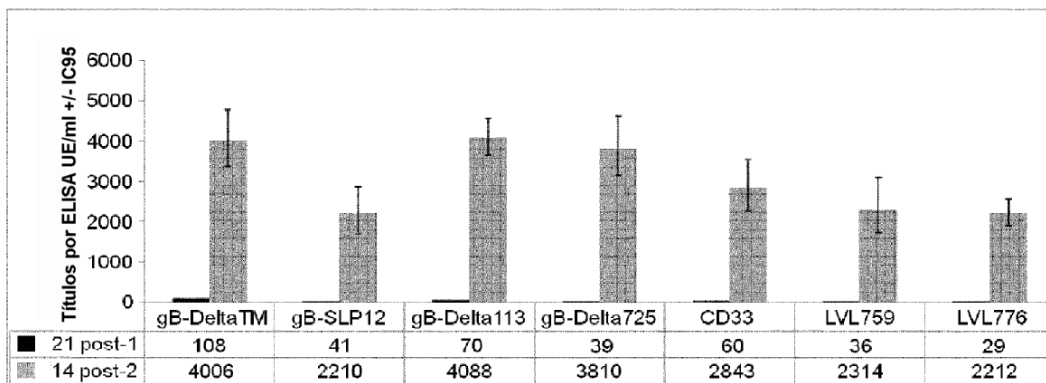


FIG. 16

## SEQ ID NO:1

```

MESRIWCLVV CVNLCIVCLG AAVSSSSTSH ATSSSTHNGSH TSRTTSAQTR SVYSQHVHTSS 60
EAVSHRANET IYNTTLKYGD VVGVNNTKYP YRVCSMAQGT DLIRFERNII CTSMKPINED 120
LDEGIMVVYK RNIVAHTFKV RVYQKVLTER RSYAYIYTTY LLGSNTEYVA PPMWEIHHIN 180
KFAQCYSSYS RVIGGTVFVA YHRDSYENKT MQLIPDDYSN THSTRYVTVK DQWHSRGSTW 240
LYRETCNLNC MLTITTARSK YPYHFFATST GJVYIISPFY NGTNRNASYF GENADKFFIF 300
PNYTIVSDFG RPNAAPETHR LVAFLERADS VISWDIQDEK NVTCQLTFWE ASERTIRSEA 360
EDSYHFSSAK MTATFLSKKQ EVNMSDSALD CVRDEAINKL QQIFNTSYNQ TYEKYGNVSV 420
FETSGGLVVF WQGIKQKSLV ELERLANRSS LNITHRTRRS TSDNNTTHLS SMESVHNLVY 480
AQLQFTYDTL RGYINRALAQ IAEAWCVDQR RTLEVFKELS KINPSAILS A IYNKPIAARF 540
MGDVLGLASC VTINQTSVKV LRDMNVKESP GRCYSRPVVI FNFANSSYVQ YGQLGEDNEI 600
LLGNHRTEEC QLPSLKIFIA GNSAYEYVDY LFKRMIDLSS ISTVDSMIAL DIDPLENTDF 660
RVLELYSQKE LRSSNVFDLE EIMREFNSYK QRVKYVEDKV VDPLPPYLKG LDDLMSGLGA 720
AGKAVGVAIG AVGGAVASV EGVATFLKNP FGAFTIILVA IAVVIITYLI YTRQRRLLCTQ 780
PLQNLFPYLV SADGTTVTSG STKDTSLQAP PSYEESVYNS GRKGPGPPSS DASTAAPPYT 840
NEQAYQMLLA LARLDAEQRA QQNGTDSL DG QTGTQDKGQK PNLLDRLRHR KNGYRHLKDS 900
DEEENV

```

## SEQ ID NO:2

```

MESRIWCLVV CVNLCIVCLG AAVSSSSTSH ATSSSTHNGSH TSRTTSAQTR SVYSQHVHTSS 60
EAVSHRANET IYNTTLKYGD VVGVNNTKYP YRVCSMAQGT DLIRFERNII CTSMKPINED 120
LDEGIMVVYK RNIVAHTFKV RVYQKVLTER RSYAYIYTTY LLGSNTEYVA PPMWEIHHIN 180
KFAQCYSSYS RVIGGTVFVA YHRDSYENKT MQLIPDDYSN THSTRYVTVK DQWHSRGSTW 240
LYRETCNLNC MLTITTARSK YPYHFFATST GJVYIISPFY NGTNRNASYF GENADKFFIF 300
PNYTIVSDFG RPNAAPETHR LVAFLERADS VISWDIQDEK NVTCQLTFWE ASERTIRSEA 360
EDSYHFSSAK MTATFLSKKQ EVNMSDSALD CVRDEAINKL QQIFNTSYNQ TYEKYGNVSV 420
FETSGGLVVF WQGIKQKSLV ELERLANRSS LNITHTTQTS TSDNNTTHLS SMESVHNLVY 480
AQLQFTYDTL RGYINRALAQ IAEAWCVDQR RTLEVFKELS KINPSAILS A IYNKPIAARF 540
MGDVLGLASC VTINQTSVKV LRDMNVKESP GRCYSRPVVI FNFANSSYVQ YGQLGEDNEI 600
LLGNHRTEEC QLPSLKIFIA GNSAYEYVDY LFKRMIDLSS ISTVDSMIAL DIDPLENTDF 660
RVLELYSQKE LRSSNVFDLE EIMREFNSYK QRVKYVEDKR LCTQPLQNLF PYLVSADGTT 720
VTSGSTKDT S LQAPPSYEES VYNSGRKGPG PPSSDASTAA PPYTNEQAYQ MLLALARLDA 780
EQRAQQNGTD SLDGQTGTQD KGQKPNLLDR LRHRKNGYRH LKDSDEEENV

```

## SEQ ID NO:3

```

MESRIWCLVV CVNLCIVCLG AAVSSSSTSH ATSSSTHNGSH TSRTTSAQTS SVYSQHVTS 60
EAVSHRANET IYNTTLKYGD VVGVNNTTKYP YRVCSMAQGT DLIRFERNII CTSMKPINED 120
LDEGIMVVYK RNIVAHTFKV RVYQKVLTFR RSYAGHRTTY LLGSNTEYVA PPMWEIHHIN 180
KFAQCYSSYS RVIGGTVFVA YHRDSYENKT MQLIPDDYSN THSTRYVTVK DQWHSRGSTA 240
FHRETCNLNC MLTITTARSK YPYHFFATST GDVVYISPFY NGTNRNASYF GENADKFFIF 300
PNYTIVSDFG RPNAAPETHR LVAFLERADS VISWDIQDEK NVTCQLTFWE ASERTISSEA 360
EDSYHFSSAK MTATFLSKKQ EVNMSDSALD CVRDEAINKL QQIFNTSYNQ TYEKYGNVSV 420
FETSGGLVVF WQGIKQKSLV ELERLANRSS LNITHTTQTS TSDNNTHLS SMESVHNLVY 480
AQLQFTYDTL RGYINRALAQ IAEAWCVDQR RTLEVFKELS KINPSAILS SA IYNKPIAARF 540
MGDVLGLASC VTINQTSVKV LRD MNVKESP GRCYSRPVVI FNFANSSYVQ YGQLGEDNEI 600
LLGNHRTEEC QLPSLKIFIA GNSAYEYVDY LFKRMIDLSS ISTVDSMIAL DIDPLENTDF 660
RVLELYSQKE LRSSNVFDLE EIMREFNSYK QRVKYVEDKR LCTQPLQNLF PYLVSADGTT 720
VTSGSTKDTS LQAPPSYEES VYNSGRKGPG PPSSDASTAA PPYTNEQAYQ MLLALARLDA 780
EQRAQQNGTD SLDGQTGTQD KGQKPNLLDR LRHRKNGYRH LKDSDEEENV

```

## SEQ ID NO:4

```

MESRIWCLVV CVNLCIVCLG AAVSSSSTSH ATSSSTHNGSH TSRTTSAQTS SVYSQHVTS 60
EAVSHRANET IYNTTLKYGD VVGVNNTTKYP YRVCSMAQGT DLIRFERNII CTSMKPINED 120
LDEGIMVVYK RNIVAHTFKV RVYQKVLTFR RSYAGHRTTY LLGSNTEYVA PPMWEIHHIN 180
KFAQCYSSYS RVIGGTVFVA YHRDSYENKT MQLIPDDYSN THSTRYVTVK DQWHSRGSTA 240
FHRETCNLNC MLTITTARSK YPYHFFATST GDVVYISPFY NGTNRNASYF GENADKFFIF 300
PNYTIVSDFG RPNAAPETHR LVAFLERADS VISWDIQDEK NVTCQLTFWE ASERTISSEA 360
EDSYHFSSAK MTATFLSKKQ EVNMSDSALD CVRDEAINKL QQIFNTSYNQ TYEKYGNVSV 420
FETSGGLVVF WQGIKQKSLV ELERLANRSS LNITHTTQTS TSDNNTHLS SMESVHNLVY 480
AQLQFTYDTL RGYINRALAQ IAEAWCVDQR RTLEVFKELS KINPSAILS SA IYNKPIAARF 540
MGDVLGLASC VTINQTSVKV LRD MNVKESP GRCYSRPVVI FNFANSSYVQ YGQLGEDNEI 600
LLGNHRTEEC QLPSLKIFIA GNSAYEYVDY LFKRMIDLSS ISTVDSMIAL DIDPLENTDF 660
RVLELYSQKE LRSSNVFDLE EIMREFNSYK QRVKYVEDKR LATQPLQNLF PYLVSADGTT 720
VTSGSTKDTS LQAPPSYEES VYNSGRKGQG KPNLLDRLRH RKNGYRHLKD SDEEENV

```

## SEQ ID NO:5

```

MESRIWCLVV CVNLCIVCLG AAVSSSSTSH ATSSSTHNGSH TSRTTSAQTS SVYSQHVTS 60
EAVSHRANET IYNTTLKYGD VVGVNNTTKYP YRVCSMAQGT DLIRFERNII CTSMKPINED 120
LDEGIMVVYK RNIVAHTFKV RVYQKVLTFR RSYAGHRTTY LLGSNTEYVA PPMWEIHHIN 180
KFAQCYSSYS RVIGGTVFVA YHRDSYENKT MQLIPDDYSN THSTRYVTVK DQWHSRGSTW 240
LYRETCNLNC MLTITTARSK YPYHFFATST GDVVYISPFY NGTNRNASYF GENADKFFIF 300
PNYTIVSDFG RPNAAPETHR LVAFLERADS VISWDIQDEK NVTCQLTFWE ASERTISSEA 360
EDSYHFSSAK MTATFLSKKQ EVNMSDSALD CVRDEAINKL QQIFNTSYNQ TYEKYGNVSV 420
FETSGGLVVF WQGIKQKSLV ELERLANRSS LNITHTTQTS TSDNNTHLS SMESVHNLVY 480
AQLQFTYDTL RGYINRALAQ IAEAWCVDQR RTLEVFKELS KINPSAILS SA IYNKPIAARF 540
MGDVLGLASC VTINQTSVKV LRD MNVKESP GRCYSRPVVI FNFANSSYVQ YGQLGEDNEI 600
LLGNHRTEEC QLPSLKIFIA GNSAYEYVDY LFKRMIDLSS ISTVDSMIAL DIDPLENTDF 660
RVLELYSQKE LRSSNVFDLE EIMREFNSYK QRVKYVEDKR LATQPLQNLF PYLVSADGTT 720
VTSGSTKDTS LQAPPSYEES VYNSGRKGQG KPNLLDRLRH RKNGYRHLKD SDEEENV

```

## SEQ ID NO:6

```

ATGGAGAGCA GGATCTGGTG CCTGGTGGTG TGGTGAACC TGTGCATCGT GTGCCTGGGA 60
GCCGCCGTGA GCAGCAGCAG CACCTCCCAC GCCACCTCCA GCACCCACAA CGGCAGCCAC 120
ACCAGCAGGA CCACCTCCGC CCAGACCAGC AGCGTGTACA GCCAGCACGT GACCTCTTCC 180
GAGGCCGTGA GCCACAGGGC CAACGAGACA ATCTACAACA CCACCCTGAA GTACGGCGAC 240
GTGGTGGGAG TGAACACCAC CAAGTACCCC TACAGAGTGT GCAGCATGGC CCAGGGCACC 300
GACCTGATCA GATTCGAGCG GAACATCATC TGCACCAGCA TGAAGCCCAT CAACGAGGAC 360
CTGGACGAGG GCATCATGGT GGTGTACAAG AGGAACATCG TGGCCACAC CTTCAAGGTC 420
CGCGTGTACC AGAAGGTGCT GACCTTCAGG CGGAGCTACG CCGGCCACAG GACCACCTAC 480
CTGCTGGGCA GCAACACCGA GTACGTGGCC CCACCATGT GGGAGATCCA CCACATCAAC 540
AAGTTCGCCC AGTGCTACAG CAGCTACAGC CGCGTGATCG GCGGCACCGT GTTCGTGGCC 600
TACCACAGGG ACAGCTACGA GAACAAGACC ATGCAGCTGA TCCCCGACGA CTACAGCAAC 660
ACCCACAGCA CCAGATACGT GACCGTGAAG GACCACTGGC ACAGCAGGGG CAGCACCGCC 720
TTCCACAGAG AGACATGCAA CCTGAACTGC ATGCTGACCA TCACCACCGC CAGAAGCAAG 780
TACCCTTACC ACTTCTTCGC CACCTCTACC GGGGACGTGG TGTACATCAG CCCCTTCTAC 840
AACGGCACCA ACAGGAACGC CAGCTACTTC GGCAGAACG CCGACAAGTT CTTTCATCTTC 900
CCCAACTACA CCATCGTGTC CGACTTCGGC AGGCCCAACG CTGCCCCCGA GACACACAGA 960
CTGGTGGCCT TTCTGGAGAG GGCCGACAGC GTGATCAGCT GGGACATCCA GGACGAGAAG 1020
AACGTGACCT GCCAGCTGAC CTTCTGGGAG GCCAGCGAGA GGACATCAG CAGCGAGGCC 1080
GAGGACAGCT ACCACTTCAG CAGCGCCAAG ATGACCGCCA CCTTCCTGAG CAAGAAACAA 1140
GAGGTGAACA TGAGCGACAG CGCCCTGGAC TGGCTGAGGG ACGAGGCCAT CAACAAGCTG 1200
CAGCAGATCT TCAACACCAG CTACAACCAG ACCTACGAGA AGTACGGAAA CGTGTCCGTG 1260
TTCGAGACAA GCGGCGGACT GGTGGTGTTT TGGCAGGGCA TCAAGCAGAA GTCCCTGGTC 1320
GAGCTGGAGA GGCTGGCCAA CAGGTCCAGC CTGAACATCA CCCACACCAC CCAGACCAGC 1380
ACCAGCGACA ACAACACCAC ACACCTGAGC AGCATGGAAA GCGTGCACAA CCTGGTGTAT 1440
GCCCAGCTGC AGTTCACCTA CGACACCCTG AGGGGCTACA TCAACAGAGC CTGGGCCAG 1500
ATCGCCGAGG CTGGTGCGT GGACCAGAGA AGGACCCTGG AGGTGTTCAA GGAAGTGTCC 1560
AAGATCAACC CCAGCGCCAT CCTGAGCGCC ATCTACAACA AGCCAATCGC CGCCAGATTC 1620
ATGGGCGACG TGCTGGGCCT GGCCAGCTGC GTGACCATCA ACCAGACCAG CGTGAAGGTG 1680
CTGCGGGACA TGAACGTGAA GGAAAGCCCA GGCCGCTGCT ACTCCAGGCC CGTGGTGATC 1740
TTCAACTTCG CCAACAGCTC CTACGTGCAG TACGGCCAGC TGGGCGAGGA CAACGAGATC 1800
CTGCTGGGAA ACCACAGGAC CGAGGAATGC CAGCTGCCCA GCCTGAAGAT CTTTATCGCC 1860
GGCAACTCCG CCTACGAGTA CGTGGACTAC CTGTTCAAGA GGATGATCGA CCTGTCCAGC 1920
ATCAGCACCG TGGACAGCAT GATCGCCCTG GATATCGATC CCCTGGAGAA CACCGACTTC 1980
AGGGTGCTGG AGCTGTACTC CCAGAAGGAA CTGAGGTCCA GCAACGTGTT CGACCTGGAG 2040
GAAATCATGA GAGAGTTCAA CAGCTACAAG CAGCGCGTGA AGTACGTGGA GGACAAGAGG 2100
CTGTGCACCC AGCCCCTGCA GAACCTGTTT CCCTACCTGG TGTCCGCCGA CGGCACCACC 2160
GTGACCAGCG GCTCCACCAA GGACACCAGC CTGCAGGCCC CTCCCAGCTA CGAGGAAAGC 2220
GTGTACAACA GCGGCAGGAA GGGCCAGGC CCCCCAAGCA GCGACGCCAG CACAGCCGCC 2280
CCACCCTACA CCAACGAGCA GGCCTACCAG ATGCTGCTGG CCCTGGCCCC GCTGGACGCC 2340
GAGCAGAGGG CCCAGCAGAA CGGCACCGAC AGCCTGGACG GCCAGACCGG CACCCAGGAC 2400
AAGGGCCAGA AGCCCAACCT GCTGGACAGG CTGAGGCACA GGAAGAACGG CTACAGGCAC 2460
CTGAAGGACA GCGACGAGGA AGAAAACGTG

```

## SEQ ID NO:7

```

ATGGAGAGCA GGATCTGGTG CCTGGTGGTG TCGTGAACC TGTGCATCGT GTGCCTGGGA 60
GCCGCCGTGA GCAGCAGCAG CACCTCCCAC GCCACCTCCA GCACCCACAA CGGCAGCCAC 120
ACCAGCAGGA CCACCTCCGC CCAGACCAGC AGCGTGTACA GCCAGCACGT GACCTCTTCC 180
GAGGCCGTGA GCCACAGGGC CAACGAGACA ATCTACAACA CCACCCTGAA GTACGGCGAC 240
GTGGTGGGAG TGAACACCAC CAAGTACCCC TACAGAGTGT GCAGCATGGC CCAGGGCACC 300
GACCTGATCA GATTCGAGCG GAACATCATC TGCACCAGCA TGAAGCCCAT CAACGAGGAC 360
CTGGACGAGG GCATCATGGT GGTGTACAAG AGGAACATCG TGGCCACAC CTTCAAGGTC 420
CGCGTGTACC AGAAGGTGCT GACCTTCAGG CGGAGCTACG CCGGCCACAG GACCACCTAC 480
CTGCTGGGCA GCAACACCGA GTACGTGGCC CCACCCATGT GGGAGATCCA CCACATCAAC 540
AAGTTGCCCC AGTGCTACAG CAGCTACAGC CGCGTGATCG GCGGCACCGT GTTCGTGGCC 600
TACCACAGGG ACAGCTACGA GAACAAGACC ATGCAGCTGA TCCCCGACGA CTACAGCAAC 660
ACCCACAGCA CCAGATACGT GACCGTGAAG GACCACTGGC ACAGCAGGGG CAGCACCTGG 720
CTGTACAGAG AGACATGCAA CCTGAACTGC ATGCTGACCA TCACCACCGC CAGAAGCAAG 780
TACCCTTACC ACTTCTTCGC CACCTCTACC GGGGACGTGG TGTACATCAG CCCCTTCTAC 840
AACGGCACCA ACAGGAACGC CAGCTACTTC GGCAGAAACG CCGACAAGTT CTTCATCTTC 900
CCCAACTACA CCATCGTGTC CGACTTCGGC AGGCCCAACG CTGCCCCCGA GACACACAGA 960
CTGGTGGCCT TTCTGGAGAG GGCCGACAGC GTGATCAGCT GGGACATCCA GGACGAGAAG 1020
AACGTGACCT GCCAGCTGAC CTTCTGGGAG GCCAGCGAGA GGACCATCAG CAGCGAGGCC 1080
GAGGACAGCT ACCACTTCAG CAGCGCCAAG ATGACCGCCA CCTTCCTGAG CAAGAAACAA 1140
GAGGTGAACA TGAGCGACAG CGCCCTGGAC TCGTGAAGG ACAGGGCCAT CAACAAGCTG 1200
CAGCAGATCT TCAACACCAG CTACAACCAG ACCTACGAGA AGTACGGAAA CGTGTCCGTG 1260
TTCGAGACAA GCGGCGGACT GGTGGTGTTC TGGCAGGGCA TCAAGCAGAA GTCCCTGGTC 1320
GAGCTGGAGA GGCTGGCCAA CAGGTCCAGC CTGAACATCA CCCACACCAC CCAGACCAGC 1380
ACCAGCGACA ACAACACCAC ACACCTGAGC AGCATGGAAA GCGTGCACAA CCTGGTGTAT 1440
GCCCAGCTGC AGTTCACCTA CGACACCCTG AGGGGCTACA TCAACAGAGC CCTGGCCCAG 1500
ATCGCCGAGG CTTGGTTCGT GGACCAGAGA AGGACCCTGG AGGTGTTCAA GGAAGTGTCC 1560
AAGATCAACC CCAGCGCCAT CCTGAGCGCC ATCTACAACA AGCCAATCGC CGCCAGATTC 1620
ATGGGCGACG TGCTGGGCCT GGCCAGCTGC GTGACCATCA ACCAGACCAG CGTGAAGGTG 1680
CTGCGGGACA TGAACGTGAA GGAAAGCCCA GGCCGCTGCT ACTCCAGGCC CGTGGTGATC 1740
TTCAACTTCG CCAACAGCTC CTACGTGCAG TACGGCCAGC TGGGCGAGGA CAACGAGATC 1800
CTGCTGGGAA ACCACAGGAC CGAGGAATGC CAGCTGCCCA GCCTGAAGAT CTTTATCGCC 1860
GGCAACTCCG CCTACGAGTA CGTGGACTAC CTGTTCAAGA GGATGATCGA CCTGTCCAGC 1920
ATCAGCACCG TGGACAGCAT GATCGCCCTG GATATCGATC CCCTGGAGAA CACCGACTTC 1980
AGGGTGCTGG AGCTGTACTC CCAGAAGGAA CTGAGGTCCA GCAACGTGTT CGACCTGGAG 2040
GAAATCATGA GAGAGTTCAA CAGCTACAAG CAGCGCGTGA AGTACGTGGA GGACAAGAGG 2100
CTGGCCACCC AGCCCCTGCA GAACCTGTTC CCCTACCTGG TGTCCGCCGA CGGCACCACC 2160
GTGACCAGCG GCTCCACCAA GGACACCAGC CTGCAGGCCC CTCCCAGCTA CGAGGAAAGC 2220
GTGTACAACA GCGGCAGGAA GGGCGGCCAG AAGCCCAACC TGCTGGACAG GCTGAGGCAC 2280
AGGAAGAACG GCTACAGGCA CCTGAAGGAC AGCGACGAGG AAGAAAACGT G

```

## SEQ ID NO:8

```

ATGGAGAGCA GGATCTGGTG CCTGGTGGTG TGCCTGAACC TGTGCATCGT GTGCCTGGGA 60
GCCGCCGTGA GCAGCAGCAG CACCTCCCAC GCCACCTCCA GCACCCACAA CGGCAGCCAC 120
ACCAGCAGGA CCACCTCCGC CCAGACCAGC AGCGTGTACA GCCAGCACGT GACCTCTTCC 180
GAGGCCGTGA GCCACAGGGC CAACGAGACA ATCTACAACA CCACCCTGAA GTACGGCGAC 240
GTGGTGGGAG TGAACACCAC CAAGTACCCC TACAGAGTGT GCAGCATGGC CCAGGGCACC 300
GACCTGATCA GATTTCGAGCG GAACATCATC TGCACCAGCA TGAAGCCCAT CAACGAGGAC 360
CTGGACGAGG GCATCATGGT GGTGTACAAG AGGAACATCG TGGCCACAC CTTCAAGGTC 420
CGCGTGTACC AGAAGGTGCT GACCTTCAGG CGGAGCTACG CCGGCCACAG GACCACCTAC 480
CTGCTGGGCA GCAACACCGA GTACGTGGCC CCACCCATGT GGGAGATCCA CCACATCAAC 540
AAGTTCGCCC AGTGCTACAG CAGCTACAGC CGCGTGATCG GCGGCACCGT GTTCGTGGCC 600
TACCACAGGG ACAGCTACGA GAACAAGACC ATGCAGCTGA TCCCCGACGA CTACAGCAAC 640
ACCCACAGCA CCAGATACGT GACCGTGAAG GACCAGTGGC ACAGCAGGGG CAGCACCGCC 720
TTCCACAGAG AGACATGCAA CCTGAACTGC ATGCTGACCA TCACCACCGC CAGAAGCAAG 780
TACCCTTACC ACTTCTTCGC CACCTCTACC GGGGACGTGG TGTACATCAG CCCCTTCTAC 840
AACGGCACCA ACAGGAACGC CAGCTACTTC GGCGAGAACG CCGACAAGTT CTTCATCTTC 900
CCCAACTACA CCATCGTGTC CGACTTCGGC AGGCCCAACG CTGCCCCCGA GACACACAGA 960
CTGGTGGCCT TTCTGGAGAG GGCCGACAGC GTGATCAGCT GGGACATCCA GGACGAGAAG 1020
AACGTGACCT GCCAGCTGAC CTTCTGGGAG GCCAGCGAGA GGACCATCAG CAGCGAGGCC 1080
GAGGACAGCT ACCACTTCAG CAGCGCCAAG ATGACCGCCA CCTTCCTGAG CAAGAAACAA 1140
GAGGTGAACA TGAGCGACAG CGCCCTGGAC TGCCTGAGGG ACGAGGCCAT CAACAAGCTG 1200
CAGCAGATCT TCAACACCAG CTACAACCAG ACCTACGAGA AGTACGGAAA CGTGTCCGTG 1260
TTCGAGACAA GCGGCGGACT GGTGGTGTTT TGGCAGGGCA TCAAGCAGAA GTCCCTGGTC 1320
GAGCTGGAGA GGCTGGCCAA CAGGTCCAGC CTGAACATCA CCCACACCAC CCAGACCAGC 1380
ACCAGCGACA ACAACACCAC ACACCTGAGC AGCATGGAAA GCGTGCACAA CCTGGTGTAT 1440
GCCCAGCTGC AGTTCACCTA CGACACCCTG AGGGGCTACA TCAACAGAGC CCTGGCCCAG 1500
ATCGCCGAGG CTTGGTGCCT GGACCAGAGA AGGACCCTGG AGGTGTTCAA GGAAGTGTCC 1560
AAGATCAACC CCAGCGCCAT CCTGAGCGCC ATCTACAACA AGCCAATCGC CGCCAGATTC 1620
ATGGGCGACG TGCTGGGCCT GGCCAGCTGC GTGACCATCA ACCAGACCAG CGTGAAGGTG 1680
CTGCGGGACA TGAACGTGAA GGAAAGCCCA GGCCGCTGCT ACTCCAGGCC CGTGGTGATC 1740
TTCAACTTCG CCAACAGCTC CTACGTGCAG TACGGCCAGC TGGGCGAGGA CAACGAGATC 1800
CTGCTGGGAA ACCACAGGAC CGAGGAATGC CAGCTGCCCA GCCTGAAGAT CTTTATCGCC 1860
GGCAACTCCG CCTACGAGTA CGTGGACTAC CTGTTCAAGA GGATGATCGA CCTGTCCAGC 1920
ATCAGCACCG TGGACAGCAT GATCGCCCTG GATATCGATC CCCTGGAGAA CACCGACTTC 1980
AGGGTGCTGG AGCTGTACTC CCAGAAGGAA CTGAGGTCCA GCAACGTGTT CGACCTGGAG 2040
GAAATCATGA GAGAGTTCAA CAGCTACAAG CAGCGCGTGA AGTACGTGGA GGACAAGAGG 2100
CTGGCCACCC AGCCCCTGCA GAACCTGTTT CCCTACCTGG TGTCGGCCGA CGGCACCACC 2160
GTGACCAGCG GCTCCACCAA GGACACCAGC CTGCAGGCC CTCCCAGCTA CGAGGAAAGC 2220
GTGTACAACA GCGGCAGGAA GGGCGGCCAG AAGCCCAACC TGCTGGACAG GCTGAGGCAC 2280
AGGAAGAACG GCTACAGGCA CCTGAAGGAC AGCGACGAGG AAGAAAACGT G

```

## SEQ ID NO:9

```

ATGGAGAGCA GGATCTGGTG CCTGGTGGTG TGCCTGAACC TGTGCATCGT GTGCCTGGGA 60
GCCGCCGTGA GCAGCAGCAG CACCTCCAC GCCACCTCCA GCACCCACAA CGGCAGCCAC 120
ACCAGCAGGA CCACCTCCGC CCAGACCAGA AGCGTGTACA GCCAGCACGT GACCTCTTCC 180
GAGGCCGTGA GCCACAGGGC CAACGAGACA ATCTACAACA CCACCCTGAA GTACGGCGAC 240
GTGGTGGGAG TGAACACCAC CAAGTACCCC TACAGAGTGT GCAGCATGGC CCAGGGCACC 300
GACCTGATCA GATTTCGAGCG GAACATCATC TGCACCAGCA TGAAGCCCAT CAACGAGGAC 360
CTGGACGAGG GCATCATGGT GGTGTACAAG AGGAACATCG TGGCCACAC CTTCAAGGTC 420
CGCGTGTAAC AGAAGGTGCT GACCTTCAGG CGGAGCTACG CCGGCCACAG GACCACCTAC 480
CTGCTGGGCA GCAACACCGA GTACGTGGCC CCACCCATGT GGGAGATCCA CCACATCAAC 540
AAGTTCGCCC AGTGCTACAG CAGCTACAGC CGCGTGATCG GCGGCACCGT GTTCGTGGCC 600
TACCACAGGG ACAGCTACGA GAACAAGACC ATGCAGCTGA TCCCCGACGA CTACAGCAAC 660
ACCCACAGCA CCAGATACGT GACCGTGAAG GACCAGTGGC ACAGCAGGGG CAGCACCGCC 720
TTCCACAGAG AGACATGCAA CCTGAACTGC ATGCTGACCA TCACCACCGC CAGAAGCAAG 780
TACCCTTACC ACTTCTTCGC CACCTCTACC GGGGACGTGG TGTACATCAG CCCCTTCTAC 840
AACGGCACCA ACAGGAACGC CAGCTACTTC GGCAGAACG CCGACAAGTT CTTCATCTTC 900
CCCAACTACA CCATCGTGTC CGACTTCGGC AGGCCCCAAG CTGCCCCCGA GACACACAGA 960
CTGGTGGCCT TTCTGGAGAG GGCCGACAGC GTGATCAGCT GGGACATCCA GGACGAGAAG 1020
AACGTGACCT GCCAGCTGAC CTTCTGGGAG GCCAGCGAGA GGACCATCAG AAGCGAGGCC 1080
GAGGACAGCT ACCACTTCAG CAGCGCCAAG ATGACCGCCA CCTTCCTGAG CAAGAAACAA 1140
GAGGTGAACA TGAGCGACAG CGCCCTGGAC TGCCTGAGGG ACGAGGCCAT CAACAAGCTG 1200
CAGCAGATCT TCAACACCAG CTACAACCAG ACCTACGAGA AGTACGAAA CGTGTCCGTG 1260
TTCCAGACAA GCGGCGGACT GGTGGTGTTT TGGCAGGGCA TCAAGCAGAA GTCCCTGGTC 1320
GAGCTGGAGA GGCTGGCCAA CAGGTCCAGC CTGAACATCA CCCACACCAC CCAGACCAGC 1380
ACCAGCGACA ACAACACCAC ACACCTGAGC AGCATGGAAA GCGTGACAA CCTGGTGTAT 1440
GCCCAGCTGC AGTTCACCTA CGACACCCTG AGGGGCTACA TCAACAGAGC CCTGGCCCAG 1500
ATCGCCGAGG CTTGGTGCGT GGACCAGAGA AGGACCCTGG AGGTGTTCAA GGAAGTGTCC 1560
AAGATCAACC CCAGCGCCAT CCTGAGCGCC ATCTACAACA AGCCAATCGC CGCCAGATTC 1620
ATGGGCGACG TGCTGGGCCT GGCCAGCTGC GTGACCATCA ACCAGACCAG CGTGAAGGTG 1680
CTGCGGGACA TGAACGTGAA GGAAAGCCCA GGCCGCTGCT ACTCCAGGCC CGTGGTGATC 1740
TTCAACTTCG CCAACAGCTC CTACGTGCAG TACGGCCAGC TGGGCGAGGA CAACGAGATC 1800
CTGCTGGGAA ACCACAGGAC CGAGGAATGC CAGCTGCCCA GCCTGAAGAT CTTTATCGCC 1860
GGCAACTCCG CCTACGAGTA CGTGGACTAC CTGTTCAAGA GGATGATCGA CCTGTCCAGC 1920
ATCAGCACCG TGGACAGCAT GATCGCCCTG GATATCGATC CCCTGGAGAA CACCGACTTC 1980
AGGGTGCTGG AGCTGTACTC CCAGAAGGAA CTGAGGTCCA GCAACGTGTT CGACCTGGAG 2040
GAAATCATGA GAGAGTTCAA CAGCTACAAG CAGCGCTGA AGTACGTGGA GGACAAGGTG 2100
GTGGACCCCC TGCCCCCTA CCTGAAGGGC CTGGACGACC TGATGAGCGG ACTCGGGGCT 2160
GCTGGAAAGG CC

```

SEQ ID NO:10

```

MESRIWCLVV CVNLCIVCLG AAVSSSSTSH ATSSTHNGSH TSRTTSAQTR SVYSQHVTSS 60
EAVSHRANET IYNTTLKYGD VVGVNNTTKYP YRVCSMAQGT DLIRFERNII CTSMKPINED 120
LDEGIMVVYK RNIVAHTFKV RVYQKVLTFR RSYAGHRTTY LLGSNTEYVA PPMWEIHHIN 180
KFAQCYSSYS RVIGGTVFVA YHRDSYENKT MQLIPDDYSN THSTRYVTVK DQWHSRGSTA 240
FHRETCNLNC MLTITTARSK YPYHFFATST GDVVYISPFY NGTNRNASYF GENADKFFIF 300
PNYTIVSDFG RPNAAPETHR LVAFLERADS VISWDIQDEK NVTCQLTFWE ASERTIRSEA 360
EDSYHFSSAK MTATFLSKKQ EVNMSDSALD CVRDEAINKL QQIFNTSYNQ TYEKYGNVSV 420
FETSGGLVVF WQGIKQKSLV ELERLANRSS LNITHTTQTS TSDNNTTHLS SMESVHNLVY 480
AQLQFTYDTL RGYINRALAQ IAEAWCVDQR RTLEVFKELS KINPSAILS A IYNKPIAARF 540
MGDVLGLASC VTINQTSVKV LRDMNVKESP GRCYSRPVVI FNFANSSYVQ YGQLGEDNEI 600
LLGNHRTEEC QLPSLKIFIA GNSAYEYVDY LFKRMIDLSS ISTVDSMIAL DIDPLENTDF 660
RVLELYSQKE LRSSNVFDLE EIMREFNSYK QRVKYVEDKV VDPLPPYLKG LDDLMSGLGA 720
AGKA

```

## SEQ ID NO:11

```

ATGGAGAGCA GGATCTGGTG CCTGGTGGTG TGCCTGAACC TGTGCATCGT GTGCCTGGGA 60
GCCGCCGTGA GCAGCAGCAG CACCTCCCAC GCCACCTCCA GCACCCACAA CGGCAGCCAC 120
ACCAGCAGGA CCACCTCCGC CCAGACCAGA AGCGTGTACA GCCAGCACGT GACCTCTTCC 180
GAGGCCGTGA GCCACAGGGC CAACGAGACA ATCTACAACA CCACCTGAA GTACGGCGAC 240
GTGGTGGGAG TGAACACCAC CAAGTACCCC TACAGAGTGT GCAGCATGGC CCAGGGCACC 300
GACCTGATCA GATTTCGAGCG GAACATCATC TGCACCAGCA TGAAGCCCAT CAACGAGGAC 360
CTGGACGAGG GCATCATGGT GGTGTACAAG AGGAACATCG TGGCCACAC CTTCAGGTC 420
CGCGTGTACC AGAAGGTGCT GACCTTCAGG CGGAGCTACG CCGGCCACAG GACCACCTAC 480
CTGCTGGGCA GCAACACCGA GTACGTGGCC CCACCCATGT GGGAGATCCA CCACATCAAC 540
AAGTTCGCCC AGTGCTACAG CAGCTACAGC CGCGTGATCG GCGGCACCGT GTTCGTGGCC 600
TACCACAGGG ACAGCTACGA GAACAAGACC ATGCAGCTGA TCCCCGACGA CTACAGCAAC 660
ACCCACAGCA CCAGATACGT GACCGTGAAG GACCAGTGGC ACAGCAGGGG CAGCACCGCC 720
TTCCACAGAG AGACATGCAA CCTGAACTGC ATGCTGACCA TCACCACCGC CAGAAGCAAG 780
TACCCTTACC ACTTCTTCGC CACCTCTACC GGGGACGTGG TGTACATCAG CCCCTTCTAC 840
AACGGCACCA ACAGGAACGC CAGCTACTTC GGCGAGAACG CCGACAAGTT CTTCATCTTC 900
CCCAACTACA CCATCGTGTC CGACTTCGGC AGGCCCCAAG CTGCCCCCGA GACACACAGA 960
CTGGTGGCCT TTCTGGAGAG GGCCGACAGC GTGATCAGCT GGGACATCCA GGACGAGAAG 1020
AACGTGACCT GCCAGCTGAC CTTCTGGGAG GCCAGCGAGA GGACCATCAG AAGCGAGGCC 1080
GAGGACAGCT ACCACTTCAG CAGCGCCAAG ATGACCGCCA CCTTCCTGAG CAAGAAACAA 1140
GAGGTGAACA TGAGCGACAG CGCCCTGGAC TGCCTGAGGG ACGAGGCCAT CAACAAGCTG 1200
CAGCAGATCT TCAACACCAG CTACAACCAG ACCTACGAGA AGTACGGAAA CGTGTCCTGTG 1260
TTCGAGACAA GCGGCGGACT GGTGGTGTTC TGGCAGGGCA TCAAGCAGAA GTCCCTGGTC 1320
GAGCTGGAGA GGCTGGCCAA CAGGTCCAGC CTGAACATCA CCCACACCAC CCAGACCAGC 1380
ACCAGCGACA ACAACACCAC ACACCTGAGC AGCATGGAAA GCGTGACAA CCTGGTGTAT 1440
GCCCAGCTGC AGTTCACCTA CGACACCCTG AGGGGCTACA TCAACAGAGC CCTGGCCCAG 1500
ATCGCCGAGG CTTGGTGCCT GGACCAGAGA AGGACCCTGG AGGTGTTCAA GGAAGTGTCC 1560
AAGATCAACC CCAGCGCCAT CCTGAGCGCC ATCTACAACA AGCCAATCGC CGCCAGATTC 1620
ATGGGCGACG TGCTGGGCCT GGCCAGCTGC GTGACCATCA ACCAGACCAG CGTGAAGGTG 1680
CTGCGGGACA TGAACGTGAA GGAAAGCCCA GGCCGCTGCT ACTCCAGGCC CGTGGTGATC 1740
TTCAACTTCG CCAACAGCTC CTACGTGCAG TACGGCCAGC TGGGCGAGGA CAACGAGATC 1800
CTGCTGGGAA ACCACAGGAC CGAGGAATGC CAGCTGCCCC GCCTGAAGAT CTTTATCGCC 1860
GGCAACTCCG CCTACGAGTA CGTGGACTAC CTGTTCAAGA GGATGATCGA CCTGTCCAGC 1920
ATCAGCACC G TGACAGCAT GATCGCCCTG GATATCGATC CCCTGGAGAA CACCGACTTC 1980
AGGGTGCTGG AGCTGTACTC CCAGAAGGAA CTGAGGTCCA GCAACGTGTT CGACCTGGAG 2040
GAAATCATGA GAGAGTTCAA CAGCTACAAG CAGCGCGTGA AGTACGTGGA GGACAAGAGG 2100
CTGGCCACCC AGCCCCTGCA GAACCTGTTT CCCTACCTGG TGTCCGCCGA C

```

## SEQ ID NO:12

```

MESRIWCLVV CVNLCIVCLG AAVSSSSTSH ATSSSTHNGSH TSRTTSAQTR SVYSQHVTSS 60
EAVSHRANET IYNTTLKYGD VVGVNNTKYYP YRVCSMAQGT DLIRFERNII CTSMKPINED 120
LDEGIMVVYK RNIVAHTFKV RVYQKVLTFR RSYAGHRTTY LLGSNTEYVA PPMWEIHHIN 180
KFAQCYSSYS RVIGGTVFVA YHRDSYENKT MQLIPDDYSN THSTRYVTVK DQWHSRGSTA 240
FHRETCNLNC MLTITTARSK YPYHFFATST GDVVYISPFY NGTNRNASYF GENADKFFIF 300
PNYTIVSDFG RPNAAPETHR LVAFLERADS VISWDIQDEK NVTCQLTFWE ASERTIRSEA 360
EDSYHFSSAK MTATFLSKKQ EVNMSDSALD CVRDEAINKL QQIFNTSYNQ TYEKYGNVSV 420
FETSGGLVVF WQGIKQKSLV ELERLANRSS LNITHTTQTS TSDNNTTHLS SMESVHNLVY 480
AQLQFTYDTL RGYINRALAQ IAEAWCVDQR RTLEVFKELS KINPSAILS A IYNKPIAARF 540
MGDVLGLASC VTINQTSVKV LRDMNVKESP GRCYSRPVVI FNFANSSYVQ YGQLGEDNEI 600
LLGNHRTEEC QLPSLKIFIA GNSAYEYVDY LFKRMIDLSS ISTVDSMIAL DIDPLENTDF 660
RVLELYSQKE LRSSNVFDLE EIMREFNSYK QRVKYVEDKR LATQPLQNLF PYLVSAD

```

## SEQ ID NO:13

```

ATGGAATCCC GGATCTGGTG CCTGGTGGTG TGCCTGAACC TGTGCATCGT GTGCCTGGCC 60
CTGGCCAGCC ACCGGGCCAA CGAGACAATC TACAACACCA CCCTGAAGTA CGGCGACGTG 120
GTGGGAGTGA ACACCACCAA GTACCCCTAC AGAGTGTGCT CCATGGCCCA GGGCACCAG 180
CTGATCAGAT TCGAGCGGAA CATCATCTGC ACCAGCATGA AGCCCATCAA CGAGGACCTG 240
GACGAGGGCA TCATGGTGGT GTACAAGAGG AACATCGTGG CCCACACCTT CAAGGTCCGC 300
GTGTACCAGA AGGTGCTGAC CTTCAGGCGG AGCTACGCCG GCCACAGGAC CACCTACCTG 360
CTGGGCAGCA ACACCGAGTA CGTGGCCCCA CCCATGTGGG AGATCCACCA CATCAACAAG 420
TTCGCCCAGT GCTACAGCAG CTACAGCCGC GTGATCGGCG GCACCGTGTT CGTGGCCTAC 480
CACAGGGACA GCTACGAGAA CAAGACCATG CAGCTGATCC CCGACGACTA CAGCAACACC 540
CACAGCACCA GATACGTGAC CGTGAAGGAC CAGTGGCACA GCAGGGGCAG CACCGCCTTC 600
CACAGAGAGA CATGCAACCT GAACTGCATG CTGACCATCA CCACCGCCAG AAGCAAGTAC 660
CCTTACCACT TCTTCGCCAC CTCTACCGGG GACGTGGTGT ACATCAGCCC CTTCTACAAC 720
GGCACCAACA GGAACGCCAG CTACTTCGGC GAGAACGCCG ACAAGTTCTT CATCTTCCCC 780
AACTACACCA TCGTGTCCGA CTTGCGCAGG CCCAACGCTG CCCCCGAGAC ACACAGACTG 840
GTGGCCTTTC TGGAGAGGGC CGACAGCGTG ATCAGCTGGG ACATCCAGGA CGAGAAGAAC 900
GTGACCTGCC AGCTGACCTT CTGGGAGGCC AGCGAGAGGA CCATCAGAAG CGAGGCCGAG 960
GACAGCTACC ACTTCAGCAG CGCCAAGATG ACCGCCACCT TCCTGAGCAA GAAACAAGAG 1020
GTGAACATGA GCGACAGCGC CCTGGACTGC GTGAGGGACG AGGCCATCAA CAAGCTGCAG 1080
CAGATCTTCA ACACCAGCTA CAACCAGACC TACGAGAAGT ACGGAAACGT GTCCGTGTTC 1140
GAGACAAGCG GCGGACTGGT GGTGTTCTGG CAGGGCATCA AGCAGAAGTC CCTGGTCGAG 1200
CTGGAGAGGC TGGCCAACAG GTCCAGCCTG AACATCACCC ACACCACCCA GACCAGCACC 1260
AGCGACAACA ACACCACACA CCTGAGCAGC ATGGAAAGCG TGCACAACCT GGTGTATGCC 1320
CAGCTGCAGT TCACCTACGA CACCCTGAGG GGCTACATCA ACAGAGCCCT GGCCAGATC 1380
GCCGAGGCTT GGTGCGTGGA CCAGAGAAGG ACCCTGGAGG TGTTCAGGA ACTGTCCAAG 1440
ATCAACCCCA GCGCCATCCT GAGCGCCATC TACAACAAGC CAATCGCCGC CAGATTTCATG 1500
GGCGACGTGC TGGGCCTGGC CAGCTGCGTG ACCATCAACC AGACCAGCGT GAAGGTGCTG 1560
CGGGACATGA ACGTGAAGGA AAGCCAGGC CGCTGCTACT CCAGGCCCGT GGTGATCTTC 1620
AACTTCGCCA ACAGCTCCTA CGTGCAGTAC GGCCAGCTGG GCGAGGACAA CGAGATCCTG 1680
CTGGGAAACC ACAGGACCGA GGAATGCCAG CTGCCCAGCC TGAAGATCTT TATCGCCGGC 1740
AACTCCGCCT ACGAGTACGT GGACTACCTG TTCAAGAGGA TGATCGACCT GTCCAGCATC 1800
AGCACCGTGG ACAGCATGAT CGCCCTGGAT ATCGATCCCC TGGAGAACAC CGACTTCAGG 1860
GTGCTGGAGC TGTACTCCCA GAAGGAACTG AGGTCCAGCA ACGTGTTCGA CCTGGAGGAA 1920
ATCATGAGAG AGTTCAACAG CTACAAGCAG CGCGTGAAGT ACGTGGAGGA CAAGGTGGTG 1980
GACCCCTGCG CCCCCTACCT GAAGGGCCTG GACGACCTGA TGAGCGGACT CGGGGCTGCT 2040

```

GGAAAGGCC

## SEQ ID NO:14

|             |            |             |            |             |            |     |
|-------------|------------|-------------|------------|-------------|------------|-----|
| MESRIWCLVV  | CVNLCIVCLA | LASHRANETI  | YNTTLKYGDV | VGVNNTTKYPY | RVCSMAQGTD | 60  |
| LIRFERNIIC  | TSMKPINEDL | DEGIMVVYKR  | NIVAHTFKVR | VYQKVLTFRR  | SYAGHRTTYL | 120 |
| LGSNTEYVAP  | PMWEIHHINK | FAQCYSSYSR  | VIGGTVFVAY | HRDSYENKTM  | QLIPDDYSNT | 180 |
| IISTRYVTVKD | QWHSRGSTAF | IIRETCNLNCM | LTITTARSKY | PYHFFATSTG  | DVVYISPFYN | 240 |
| GTNRNASYFG  | ENADKFFIFP | NYTIVSDFGR  | PNAAPETHRL | VAFLERADSV  | ISWDIQDEKN | 300 |
| VTCQLTFWEA  | SERTIRSEAE | DSYHFSSAKM  | TATFLSKKQE | VNMSDSALDC  | VRDEAINKLQ | 360 |
| QIFNTSYNQT  | YEKYGNVSVF | ETSGGLVFW   | QGIKQKSLVE | LERLANRSSL  | NITHTTQTST | 420 |
| SDNNTTHLSS  | MESVHNLVYA | QLQFTYDTLR  | GYINRALAQI | AEAWCVDQRR  | TLEVFKELSK | 480 |
| INPSAILSAI  | YNKPIAARFM | GDVLGLASCV  | TINQTSVKVL | RDMNVKESPG  | RCYSRPVVIF | 540 |
| NFANSSYVQY  | GQLGEDNEIL | LGNHRTEECQ  | LPSLKIFIAG | NSAYEYVDYL  | FKRMIDLSSI | 600 |
| STVDSMIALD  | IDPLENTDFR | VLELYSQKEL  | RSSNVFDLEE | IMREFNSYKQ  | RVKYVEDKVV | 660 |
| DPLPPYLKGL  | DDLMSGLGAA | GKA         |            |             |            |     |

## SEQ ID NO:15

|            |            |            |            |            |             |      |
|------------|------------|------------|------------|------------|-------------|------|
| ATGGAATCCC | GGATCTGGTG | CCTGGTGGTG | TGCGTGAACC | TGTGCATCGT | GCTCCTGGGA  | 60   |
| GCCCTGGCCC | ACCGGGCCAA | CGAGACAATC | TACAACACCA | CCCTGAAGTA | CGGCGACGTG  | 120  |
| GTGGGAGTGA | ACACCACCAA | GTACCCCTAC | AGAGTGTGCT | CCATGGCCCA | GGGCACCGAC  | 180  |
| CTGATCAGAT | TCGAGCGGAA | CATCATCTGC | ACCAGCATGA | AGCCCATCAA | CGAGGACCTG  | 240  |
| GACGAGGGCA | TCATGGTGGT | GTACAAGAGG | AACATCGTGG | CCCACACCTT | CAAGGTCCGC  | 300  |
| GTGTACCAGA | AGGTGCTGAC | CTTCAGGCGG | AGCTACGCCG | GCCACAGGAC | CACCTACCTG  | 360  |
| CTGGGCAGCA | ACACCGAGTA | CGTGGCCCCA | CCCATGTGGG | AGATCCACCA | CATCAACAAG  | 420  |
| TTCGCCCAGT | GCTACAGCAG | CTACAGCCGC | GTGATCGGCG | GCACCGTGTT | CGTGGCCTAC  | 480  |
| CACAGGGACA | GCTACGAGAA | CAAGACCATG | CAGCTGATCC | CCGACGACTA | CAGCAACACC  | 540  |
| CACAGCACCA | GATACGTGAC | CGTGAAGGAC | CAGTGGCACA | GCAGGGGCAG | CACCGCCTTC  | 600  |
| CACAGAGAGA | CATGCAACCT | GAAGTGCATG | CTGACCATCA | CCACCGCCAG | AAGCAAGTAC  | 660  |
| CCTTACCACT | TCTTCGCCAC | CTCTACCGGG | GACGTGGTGT | ACATCAGCCC | CTTCTACAAC  | 720  |
| GGACCAACA  | GGAACGCCAG | CTACTTCGGC | GAGAACGCCG | ACAAGTTCTT | CATCTTCCCC  | 780  |
| AACTACACCA | TCGTGTCCGA | CTTCGGCAGG | CCCAACGCTG | CCCCGAGAG  | ACACAGACTG  | 840  |
| GTGGCCTTTC | TGGAGAGGGC | CGACAGCGTG | ATCAGCTGGG | ACATCCAGGA | CGAGAAGAAC  | 900  |
| GTGACCTGCC | AGCTGACCTT | CTGGGAGGCC | AGCGAGAGGA | CCATCAGAAG | CGAGGCCGAG  | 960  |
| GACAGCTACC | ACTTCAGCAG | CGCCAAGATG | ACCGCCACCT | TCCTGAGCAA | GAAACAAGAG  | 1020 |
| GTGAACATGA | GCGACAGCGC | CCTGGACTGC | GTGAGGGACG | AGGCCATCAA | CAAGCTGCAG  | 1080 |
| CAGATCTTCA | ACACCAGCTA | CAACCAGACC | TACGAGAAGT | ACGGAAACGT | GTCCGTGTTC  | 1140 |
| GAGACAAGCG | GCGGACTGGT | GGTGTCTCTG | CAGGGCATCA | AGCAGAAGTC | CCTGGTCGAG  | 1200 |
| CTGGAGAGGC | TGGCCAACAG | GTCCAGCCTG | AACATCACCC | ACACCACCCA | GACCAGCACC  | 1260 |
| AGCGACAACA | ACACCACACA | CCTGAGCAGC | ATGGAAAGCG | TGCACAACCT | GGTGTATGCC  | 1320 |
| CAGCTGCAGT | TCACCTACGA | CACCCTGAGG | GGCTACATCA | ACAGAGCCCT | GGCCCAGATC  | 1380 |
| GCCGAGGCTT | GGTGCCTGGA | CCAGAGAAGG | ACCCTGGAGG | TGTTCAAGGA | ACTGTCCAAG  | 1440 |
| ATCAACCCCA | GCGCCATCCT | GAGCGCCATC | TACAACAAGC | CAATCGCCGC | CAGATTTCATG | 1500 |
| GGCGACGTGC | TGGGCCTGGC | CAGCTGCGTG | ACCATCAACC | AGACCAGCGT | GAAGGTGCTG  | 1560 |
| CGGGACATGA | ACGTGAAGGA | AAGCCCAGGC | CGCTGCTACT | CCAGGCCCGT | GGTGTCTTTC  | 1620 |
| AACTTCGCCA | ACAGCTCCTA | CGTGCAGTAC | GGCCAGCTGG | GCGAGGACAA | CGAGATCCTG  | 1680 |
| CTGGGAAACC | ACAGGACCGA | GGAATGCCAG | CTGCCCAGCC | TGAAGATCTT | TATCGCCGGC  | 1740 |

## ES 2 635 014 T3

|            |            |            |            |             |            |      |
|------------|------------|------------|------------|-------------|------------|------|
| AACTCCGCCT | ACGAGTACGT | GGACTACCTG | TTCAAGAGGA | TGATCGACCT  | GTCCAGCATC | 1800 |
| AGCACCGTGG | ACAGCATGAT | CGCCCTGGAT | ATCGATCCCC | TGGAGAACAC  | CGACTTCAGG | 1860 |
| GTGCTGGAGC | TGTACTCCCA | GAAGGAACTG | AGGTCCAGCA | ACGTGTTCTGA | CCTGGAGGAA | 1920 |
| ATCATGAGAG | AGTTCAACAG | CTACAAGCAG | CGCGTGAAGT | ACGTGGAGGA  | CAAGGTGGTG | 1980 |
| GACCCCTGTC | CCCCCTACCT | GAAGGGCCTG | GACGACCTGA | TGAGCGGACT  | CGGGGCTGCT | 2040 |
| GGAAAGGCC  |            |            |            |             |            |      |

### SEQ ID NO:16

|            |            |             |            |             |             |     |
|------------|------------|-------------|------------|-------------|-------------|-----|
| MESRIWCLVV | CVNLCIVLLG | ALAHARANETI | YNTTLKYGDV | VGVNNTTKYPY | RVCSMAQGTD  | 60  |
| LIRFERNIIC | TSMKPINEDL | DEGIMVVYKR  | NIVAHTFKVR | VYQKVLTFRR  | SYAGHRTTYL  | 120 |
| LGSNTEYVAP | PMWEIHHINK | FAQCYSSYSR  | VIGGTVFVAY | HRDSYENKTM  | QLIPDDYSNT  | 180 |
| HSTRYVTVKD | QWHSRGSTAF | HRETCNLNCM  | LTITTARSKY | PYHFFATSTG  | DVVIYISPFYN | 240 |
| GTNRNASYFG | ENADKFFIFP | NYTIVSDFGR  | PNAAPETHRL | VAFLERADSV  | ISWDIQDEKN  | 300 |
| VTCQLTFWEA | SERTIRSEAE | DSYHFSSAKM  | TATFLSKKQE | VNMSDSALDC  | VRDEAINKLQ  | 360 |
| QIFNTSYNQI | YEKYGNVSVF | ETSGGLVFW   | QGIKQKSLVE | LERLANRSSL  | NITHTTQTST  | 420 |
| SDNNTTHLSS | MESVHNLVYA | QLQFTYDTRL  | GYINRALAQI | AEAWCVDQRR  | TLEVFKELSK  | 480 |
| INPSAILSAI | YNKPIAARFM | GDVLGLASCV  | TINQTSVKVL | RDMNVKESPG  | RCYSRPVVIF  | 540 |
| NFANSSYVQY | GQLGEDNEIL | LGNHRETEEC  | LPCLKIFIAI | NSAYEYVDYL  | FKRMIDLSSI  | 600 |
| STVDSMIALD | IDPLENTDFR | VLELYSQKEL  | RSSNVFDLEE | IMREFNSYKQ  | RVKYVEDKVV  | 660 |
| DPLPPYLKGL | DDLMSGLGAA | GKA         |            |             |             |     |

### SEQ ID NO:17

|            |            |             |            |             |             |      |
|------------|------------|-------------|------------|-------------|-------------|------|
| ATGGCCCCC  | TGCTGCTTCT | GCTGCCCCCTG | CTTTGGGCAG | GGGCCCTGGC  | CCACCGGGCC  | 60   |
| AACGAGACAA | TCTACAACAC | CACCCTGAAG  | TACGGCGACG | TGGTGGGAGT  | GAACACCACC  | 120  |
| AAGTACCCCT | ACAGAGTGTG | CTCCATGGCC  | cagggCACCG | ACCTGATCAG  | ATTTCGAGCGG | 180  |
| AACATCATCT | GCACCAGCAT | GAAGCCCATC  | AACGAGGACC | TGGACGAGGG  | CATCATGGTG  | 240  |
| GTGTACAAGA | GGAACATCGT | GGCCCACACC  | TTCAAGGTCC | GCGTGTACCA  | GAAGGTGCTG  | 300  |
| ACCTTCAGGC | GGAGCTACGC | CGGCCACAGG  | ACCACCTACC | TGCTGGGCAG  | CAACACCGAG  | 360  |
| TACGTGGCCC | CACCCATGTG | GGAGATCCAC  | CACATCAACA | AGTTCGCCCCA | GTGCTACAGC  | 420  |
| AGCTACAGCC | GCGTGATCGG | CGGCACCGTG  | TTCGTGGCCT | ACCACAGGGA  | CAGCTACGAG  | 480  |
| AACAAGACCA | TGCAGCTGAT | CCCCGACGAC  | TACAGCAACA | CCCACAGCAC  | CAGATACGTG  | 540  |
| ACCGTGAAGG | ACCGTGGCA  | CAGCAGGGGC  | AGCACCGCCT | TCCACAGAGA  | GACATGCAAC  | 600  |
| CTGAATGCA  | TGCTGACCAT | CACCACCGCC  | AGAAGCAAGT | ACCCTTACCA  | CTTCTTCGCC  | 660  |
| ACCTCTACCG | GGGACGTGGT | GTACATCAGC  | CCCTTCTACA | ACGGCACCAA  | CAGGAACGCC  | 720  |
| AGTACTTCG  | GCGAGAACGC | CGACAAGTTC  | TTCATCTTCC | CCAACCTACAC | CATCGTGTCC  | 780  |
| GACTTCGGCA | GGCCCAACGC | TGCCCCGAG   | ACACACAGAC | TGGTGGCCTT  | TCTGGAGAGG  | 840  |
| GCCGACAGCG | TGATCAGCTG | GGACATCCAG  | GACGAGAAGA | ACGTGACCTG  | CCAGCTGACC  | 900  |
| TTCTGGGAGG | CCAGCGAGAG | GACCATCAGa  | AGCGAGGCCG | AGGACAGCTA  | CCACTTCAGC  | 960  |
| AGCGCCAAGA | TGACCGCCAC | CTTCCTGAGC  | AAGAAACAAG | AGGTGAACAT  | GAGCGACAGC  | 1020 |
| GCCCTGGACT | GCGTGAGGGA | CGAGGCCATC  | AACAAGCTGC | AGCAGATCTT  | CAACACCAGC  | 1080 |
| TACAACCAGA | CCTACGAGAA | GTACGGAAAC  | GTGTCCGTGT | TCGAGACAAG  | CGGCGGACTG  | 1140 |
| GTGGTGTTCT | GGCAGGGCAT | CAAGCAGAAG  | TCCCTGGTCG | AGCTGGAGAG  | GCTGGCCAAC  | 1200 |
| AGGTCCAGCC | TGAACATCAC | CCACACCACC  | CAGACCAGCA | CCAGCGACAA  | CAACACCACA  | 1260 |
| CACCTGAGCA | GCGTGGAAAG | CGTGCACAAC  | CTGGTGTATG | CCCAGCTGCA  | GTTACCTTAC  | 1320 |
| GACACCCTGA | GGGGCTACAT | CAACAGAGCC  | CTGGCCCAGA | TCGCCGAGGC  | TTGGTGCGTG  | 1380 |
| GACCAGAGAA | GGACCCTGGA | GGTGTTCAAG  | GAAGTGTCCA | AGATCAACCC  | CAGCGCCATC  | 1440 |
| CTGAGCGCCA | TCTACAACAA | GCCAATCGCC  | GCCAGATTCA | TGGGCGACGT  | GCTGGGCCTG  | 1500 |
| GCCAGCTGCG | TGACCATCAA | CCAGACCAGC  | GTGAAGGTGC | TGCGGGACAT  | GAACGTGAAG  | 1560 |

GAAAGCCCAG GCCGCTGCTA CTCCAGGCCC GTGGTGATCT TCAACTTCGC CAACAGCTCC 1620  
TACGTGCAGT ACGGCCAGCT GGGCGAGGAC AACGAGATCC TGCTGGGAAA CCACAGGACC 1680  
GAGGAATGCC AGCTGCCCAG CCTGAAGATC TTTATCGCCG GCAACTCCGC CTACGAGTAC 1740  
GTGGACTACC TGTTCAAGAG GATGATCGAC CTGTCCAGCA TCAGCACCGT GGACAGCATG 1800  
ATCGCCCTGG ATATCGATCC CCTGGAGAAC ACCGACTTCA GGGTGCTGGA GCTGTACTCC 1860  
CAGAAGGAAC TGAGGTCCAG CAACGTGTTC GACCTGGAGG AAATCATGAG AGAGTTCAAC 1920  
AGCTACAAGC AGCGCGTGAA GTACGTGGAG GACAAGGTGG TGGACCCCCT GCCCCCCTAC 1980  
CTGAAGGGCC TGGACGACCT GATGAGCGGA CTCGGGGCTG CTGGAAAGGC C

## SEQ ID NO:18

MAPLLLLLPL LWAGALAHRA NETIYNTTLK YGDVVGVTNT KYPYRVCSMA QGTDLIRFER 60  
NIICTSMKPI NEDLDEGIMV VYKRNIWAHT FKVRVYQKVL TFRRSYAGHR TTYLLGSNTE 120  
YVAPPMWEIH HINKFAQCYS SYSRVIGGTV FVAYHRDSYE NKTMQLIPDD YSNTHSTRYV 180  
TVKDQWHSRG STAFHRETCN LNCMLTITTA RSKYPYHFFA TSTGDVVYIS PFYNGTNRNA 240  
SYFGENADKF FIFPNYTIVS DFGRPNAAPE THRLVAFLEA ADSVISWDIQ DEKNVTCQLT 300  
FWEASERTIR SEAEDSYHFS SAKMTATFLS KKQEVNMSDS ALDCVRDEAI NKLQQIFNTS 360  
YNQTYEKYGN VSVFETSGGL VVFWQGIKQK SLVELERLAN RSSLNITHTT QTSTSDNNTT 420  
HLSSMESVHN LVYAQLQFTY DTLRGYINRA LAQIAEAWCV DQRRTELVFK ELSKINPSAI 480  
LSAIYNKPIA ARFMGDVLGL ASCVTINQTS VKVLRDMNVK ESPGRCYSRP VVIFNFANSS 540  
YVQYQQLGED NEILLGNHRT EECQLPSLKI FIAGNSAYEY VDYLFRKID LSSISTVDSM 600  
IALDIDPLEN TDFRVLELYS QKELRSSNVF DLEEIMREFN SYKQRVKYVE DKVVDPLPPY 660  
LKGLDDLMSG LGAAGKA

## SEQ ID NO:19

SHRANETI YNTTLKYGDV VGVNTTKYPY RVCSMAQGTD  
LIRFERNIIC TSMKPINEDL DEGIMVVYKR NIVAHTFKVR VYQKVLTFRR SYAGHRTTYL  
LGSNTEYVAP PMWEIHHINK FAQCYSSYSR VIGGTVFVAY HRDSYENKTM QLIPDDYSNT  
HSTRYVTVKD QWHSRGTAF HRETCNLNCM LTITTARSKY PYHFFATSTG DVVYISPFYN  
GTNRNASYFG ENADKFFIFP NYTIVSDFGR PNAAPETHRL VAFLEADSV ISWDIQDEKN  
VTCQLTFWEA SERTIRSEAE DSYHFSSAKM TATFLSKKQE VNMSDSALDC VRDEAINKLQ  
QIFNTSYNQT YEKYGNVSVF ETSGGLVFW QGIKQKSLVE LERLANRSSL NITHTTQTST  
SDNNTTHLSS MESVHNLVYA QLQFTYDTRL GYINRALAQI AEAWCVDQRR TLEVFKELSK  
INPSAILSAL YNKPIAARFM GDVLGLASCV TINQTSVKVL RDMNVKESPG RCYSRPPVIF  
NFANSSYVQY GQLGEDNEIL LGNHRTEECQ LPSLKIFIAG NSAYEYVDYL FKRIDLSSI  
STVDSMIALD IDPLENTDFR VLELYSQKEL RSSNVFDLEE IMREFNSYKQ RVKYVEDKVV  
DPLPPYLKGL DDLMSG LGAA GKA

## SEQ ID NO:20

SHRANETI YNTTLKYGDV VGVNTTKYPY RVCSMAQGTD  
LIRFERNIIC TSMKPINEDL DEGIMVVYKR NIVAHTFKVR VYQKVLTFRR SYAGHRTTYL  
LGSNTEYVAP PMWEIHHINK FAQCYSSYSR VIGGTVFVAY HRDSYENKTM QLIPDDYSNT  
HSTRYVTVKD QWHSRGTAF HRETCNLNCM LTITTARSKY PYHFFATSTG DVVYISPFYN  
GTNRNASYFG ENADKFFIFP NYTIVSDFGR PNAAPETHRL VAFLEADSV ISWDIQDEKN  
VTCQLTFWEA SERTIRSEAE DSYHFSSAKM TATFLSKKQE VNMSDSALDC VRDEAINKLQ

QIFNTSYNQT YEKYGNVSVF ETSGGLVVFW QGIKQKSLVE LERLANRSSL NITHTTQTST  
SDNNTTHLSS MESVHNLVYA QLQFTYDTLR GYINRALAQI AEAWCVDQRR TLEVFKELSK  
INPSAILSAI YNKPIAARFM GDVLGLASCV TINQTSVKVL RDMNVKESPG RCYSRPVVIF  
NFANSSYVQY GOLGEDNEIL LGNHRTEECQ LPSLKIFIAG NSAYEYVDYL FKRMLDLSSI  
STVDSMIALD IDPLENTDFR VLELYSQKEL RSSNVFDLEE IMREFNSYKQ RVKYVEDKV  
DPLPPYLKGL DDLMSG LGAA GKA

## SEQ ID NO:21

HRA NETIYNTTLK YGDVVGVNNTT KYPYRVCSMA QGTDLIRFER  
NIICTSMKPI NEDLDEGIMV VYKRNIVAHT FKVRVYQKVL TFRRSYAGHR TTYLLGSNTE  
YVAPPMWEIH HINKFAQCYS SYSRVIGGTV FVAYHRDSYE NKTMLIPDD YSNTHSTRYV  
TVKDQWHSRG STAFHRETCN LNCMLTITTA RSKYPYHFFA TSTGDEVYIS PFYNGTNRNA  
SYFGENADKF FIFPNYTIVS DFGRPNAAPE THRLVAFLER ADSVISWDIQ DEKNVTCQLT  
FWEASERTIR SEAEDSYHFS SAKMTATFLS KKQEVNMSDS ALDCVRDEAI NKLQQIFNTS  
YNQTYEYKGN VSVFETSGGL VVFWQGIKQK SLVELERLAN RSSLNITHTT QTSTSDNNTT  
HLSSMESVHN LVYAQLQFTY DTLRGYINRA LAQIAEAWCV DQRRRTLEVFK ELSKINPSAI  
LSAIYNKPIA ARFMGDVLGL ASCVTINQTS VKVLRDMNVK ESPGRCYSRP VVIFNFANSS  
YVQYQQLGED NEILLGNHRT EECQLPSLKI FIAGNSAYEY VDYLFKRMID LSSISTVDSM  
IALDIDPLEN TDFRVLELYS QKELRSSNVF DLEEIMREFN SYKQRVKYVE DKVVDPLPPY  
LKGLDDLMSG LGAA GKA