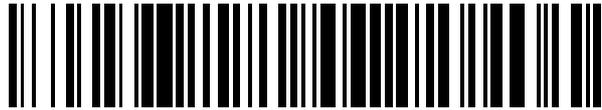


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 732 815**

51 Int. Cl.:

A61K 39/245 (2006.01)

A61P 31/22 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.05.2010 PCT/US2010/035998**

87 Fecha y número de publicación internacional: **25.11.2010 WO10135747**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.05.2010 E 10778532 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.05.2019 EP 2432504**

54 Título: **Vacunas frente al virus del herpes simple de tipo 2: composiciones y métodos para provocar una respuesta inmunitaria**

30 Prioridad:

18.02.2010 US 305918 P
08.09.2009 US 240626 P
22.05.2009 US 180784 P
08.09.2009 US 240587 P
20.08.2009 US 235628 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
26.11.2019

73 Titular/es:

GENOCEA BIOSCIENCES, INC. (100.0%)
100 Acorn Park Drive
Cambridge, MA 02140, US

72 Inventor/es:

LONG, DEBORAH;
FLECHTNER, JESSICA;
SKOBERNE, MOJCA y
SIBER, GEORGE R.

74 Agente/Representante:

PADIAL MARTÍNEZ, Ana Belén

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 732 815 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

Vacunas frente al virus del herpes simple de tipo 2: composiciones y métodos para provocar una respuesta inmunitaria

5

I. Antecedentes

El virus del herpes simple de tipo 2 (VHS-2) es la causa principal del herpes genital. El VHS-2 se transmite con mayor frecuencia por contacto sexual, y la infección con el virus generalmente conduce a brotes recurrentes de lesiones en los genitales y regiones perianales, combinadas con la efusión de partículas de virus en el tracto genital. La efusión viral también se puede producir en ausencia de lesiones u otros síntomas. El VHS-2 también establece la latencia en los ganglios sensoriales. La infección por VHS-2 causa malestar físico y morbilidad psicosexual en los pacientes afectados, e introduce riesgos adicionales para la salud. En particular, los pacientes infectados con el VHS-2 tienen un mayor riesgo de contraer el VIH, y las madres embarazadas infectadas con el VHS-2 pueden transmitir verticalmente el VHS-2 a sus fetos. En individuos inmunocomprometidos o en neonatos, las infecciones por VHS-2 pueden ser mortales. En la actualidad, no hay cura para la infección por VHS-2.

La infección por VHS-2 está muy extendida, con un estudio que calcula que casi un 20 % de la población mundial está infectada (Looker *et al.*, 2008, Bulletin of the World Health Organization, octubre de 2008, 86 (10)). La infección la presentan más mujeres que hombres y la prevalencia de la enfermedad aumenta con la edad. Un alto número de adolescentes diagnosticados con el VHS-2 indica que la prevalencia en la población continuará aumentando, ya que la infección con el VHS-2 dura toda la vida.

Las opciones de tratamiento para los síntomas del VHS-2 son limitadas. La terapia antiviral, que usa compuestos tales como famciclovir, valaciclovir o aciclovir, limita la duración de los síntomas y, en algunos casos, acelera la curación de las lesiones y reduce la incidencia de efusión viral. Sin embargo, los medicamentos antivirales no son curativos y no evitan la recurrencia de brotes ni eliminan el virus por completo. Además, el uso de medicamentos antivirales requiere que los pacientes reconozcan los síntomas de la infección por VHS-2, que a continuación obtengan un diagnóstico de confirmación y, por último, que cumplan con el régimen antiviral. Estos requisitos pueden ser insostenibles en regiones del mundo en las que los medicamentos antivirales no están fácilmente disponibles. Además, los pacientes a menudo desconocen que están infectados, ya sea porque no presentan síntomas o porque los síntomas de la infección inicial disminuyen, lo que sugiere una recuperación de la enfermedad.

Para abordar los problemas médicos y sociales asociados con el VHS-2, es altamente deseable desarrollar composiciones farmacéuticas para inhibir o contrarrestar la infección por VHS-2. Para provocar una respuesta inmunitaria mejorada contra el VHS-2 se puede usar una composición eficaz, previniendo de ese modo la infección inicial, bloqueando la capacidad del virus para establecer la latencia en los ganglios sensoriales, eliminando la recurrencia de brotes y/o previniendo la efusión viral. Se sabe que el sistema inmunitario organiza una defensa contra el VHS-2, tal como lo ponen en evidencia las infecciones recurrentes que se manifiestan con menos síntomas, menos intensos y una disminución de la frecuencia a lo largo del tiempo.

Aunque el objetivo final de una vacuna frente al VHS podría ser una protección duradera frente a la infección viral, la supresión de los síntomas de la enfermedad también podría proporcionar beneficios significativos para la salud. Uno de los objetivos actuales de una vacuna profiláctica o terapéutica es reducir los episodios clínicos y la efusión viral de infecciones primarias y latentes. En ensayos clínicos se han sometido a ensayo tres categorías de vacunas profilácticas con resultados decepcionantes: vacunas de i) virus completo, ii) subunidad de proteínas y iii) subunidades basadas en genes (Stanberry *et al.*, Clinical Infect. Dis., 30 (3): 549- 566, 2000). En la década de 1970 se exploraron varias vacunas de virus muertos, ninguna de las cuales fue eficaz. Más recientemente, se descubrió que un VHS atenuado es poco inmunogénico. Las vacunas de subunidades basadas en dos glicoproteínas recombinantes se han evaluado clínicamente en combinación con diferentes formulaciones de adyuvantes. Una desarrollada por Chiron contiene formas truncadas de glicoproteína D (gD2) y glicoproteína B (gB2) del VHS-2, purificadas a partir de células de ovario de hámster chino (CHO) transfectadas y formuladas en el adyuvante MF59. Otra desarrollada por Glaxo-Smithkline (GSK) contiene una gD2 truncada formulada con adyuvantes de alumbre y monofosforil lípido A (MPL) 3-O-desacilado. Ambas vacunas eran inmunogénicas y fueron bien toleradas en los ensayos en fase I/II. Sin embargo, en los análisis en fase III, la vacuna de Chiron no mostró eficacia global frente a la seroconversión del VHS-2 y el trabajo se suspendió. La vacuna de GSK mostró una eficacia significativa (73-74 %) en mujeres voluntarias seronegativas para VHS-1, VHS-2, pero sin eficacia en hombres.

Aunque incluso la eficacia limitada de la vacuna podría tener un impacto beneficioso en los pacientes con VHS, estos ensayos están probando solo un pequeño número de posibilidades de vacunas. Esto se debe a que el descubrimiento de la vacuna no ha sido sistemático. La aplicación de una vacuna de virus completo supone que la presentación del patógeno al sistema inmunitario generará una inmunidad óptima. De hecho, la amplitud y la duración de las respuestas inmunitarias a las vacunas de patógenos completos históricamente han sido mejores que las vacunas de subunidades. Sin embargo, se debe considerar la patogenicidad de la cepa de la vacuna. Las vacunas de subunidades, hasta la fecha, se han seleccionado para ensayos de vacunas en función de su

importancia supuesta en la patogénesis de la enfermedad y la inmunogenicidad durante la infección. Estos enfoques han identificado un candidato frente al VHS con una eficacia limitada en algunas, pero ninguna eficacia en otras formulaciones. Por lo tanto, se necesitan nuevas y mejores metodologías para el descubrimiento de la vacuna frente al virus del herpes para proteger frente a las enfermedades del herpes.

5 El documento WO 2005/028496 desvela un fragmento de ICP4 (SEQ ID NO: 3).

El documento WO95/16779 desvela desde la vacunas que comprenden péptidos antigénicos del VHS2.

10 - II. Sumario de la invención

La infección y transmisión del VHS-2 es una preocupación de salud principal. La presente divulgación describe, entre otros, ciertas vacunas altamente eficaces frente al VHS-2. Las vacunas de ese tipo se pueden usar ya sea de forma terapéutica o profiláctica. La presente divulgación también describe antígenos específicos y métodos para usar los antígenos para provocar una respuesta inmunitaria frente al VHS-2.

La invención proporciona una formulación de vacuna como se define en las reivindicaciones.

20 En el presente documento se describe una formulación de vacuna que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y al menos un polipéptido que consiste en las SEQ ID NOS: 2, 3, 4 y 5 o un fragmento inmunogénico del mismo, y que además comprende opcionalmente la SEQ ID NO: 1 o un fragmento inmunogénico del mismo. La formulación de vacuna puede comprender un primer polipéptido que consiste en una de las SEQ ID NOS que se han mencionado anteriormente, y un segundo polipéptido que consiste en otra de las SEQ ID NOS que se han mencionado anteriormente.

25 En el presente documento se describe una formulación de vacuna que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable, un adyuvante que comprende una o más fracciones purificadas de saponinas de *Quillaja*, y al menos un polipéptido que comprende cualquiera de las SEQ ID NOS: 2, 3, 4 y 5 o un fragmento inmunogénico del mismo, y que además comprende opcionalmente la SEQ ID NO: 1 o un fragmento inmunogénico del mismo.

30 En el presente documento se describe una formulación de vacuna que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un polipéptido que consiste en la SEQ ID NO: 2 o un fragmento inmunogénico del mismo. Los restos se pueden truncar a partir de la SEQ ID NO: 2. El polipéptido puede estar glicosilado, o puede estar sin glicosilar.

35 En el presente documento se describe una formulación de vacuna que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un polipéptido que comprende la SEQ ID NO: 5, en la que el polipéptido carece de todas o de al menos una parte de 8 restos de aminoácido contiguos del dominio transmembrana que abarca los restos 340-363. Por lo tanto, se describe una formulación de vacuna que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un polipéptido que comprende la SEQ ID NO: 4. El polipéptido puede estar glicosilado, o puede estar sin glicosilar.

40 En el presente documento se describe una formulación de vacuna que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un polipéptido que comprende la SEQ ID NO: 5. El polipéptido puede estar glicosilado, o puede estar sin glicosilar.

45 En el presente documento se describe una formulación de vacuna que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un polipéptido que comprende la SEQ ID NO: 3. El polipéptido puede estar glicosilado, o puede estar sin glicosilar.

50 Como se describe en el presente documento, los polipéptidos en las formulaciones de vacuna se pueden conjugar a un vehículo inmunogénico, por ejemplo hemocianina de lapa californiana. Las formulaciones de vacuna pueden comprender adicionalmente un adyuvante. El adyuvante puede ser una o más fracciones purificadas de saponinas de *Quillaja*.

55 En el presente documento se describen métodos para el tratamiento de un sujeto que padece o que es susceptible de infección por VHS-2 mediante la administración de una cantidad eficaz de una formulación de vacuna que se desvela en el presente documento. En algunos aspectos, el método inhibe síntomas del VHS-2, por ejemplo mediante la reducción del número de lesiones herpéticas, reduciendo el número de días que un sujeto experimenta las lesiones herpéticas, reducen la infección por VHS-2 en un sujeto sin infectar, aumentando el título de IgG y/o la respuesta de los linfocitos T a uno o más antígenos del VHS-2, y/o reduciendo el número de lesiones herpéticas en el momento del inicio de la infección por VHS-2.

60 En el presente documento se describen los resultados de un sistema de alto rendimiento para identificación sistemática *in vitro* de bibliotecas de los linfocitos T eficaces para identificar sus antígenos diana específicos a partir del proteoma completo del VHS-2. Esta tecnología permitió la identificación de antígenos individuales, que probablemente son eficaces *in vivo*, como cualquiera de una composición profiláctica o terapéutica. En un aspecto, en el presente documento se describen varios antígenos críticos de los linfocitos T protectores que se pueden

incorporar en composiciones a base de proteína que provocan una respuesta inmunitaria.

5 En el presente documento se describen composiciones farmacéuticas que comprenden dos o más polipéptidos aislados seleccionados entre polipéptidos que tienen una secuencia de aminoácidos de al menos una de las SEQ ID NOS: 1-38, o un fragmento inmunogénico del mismo.

10 En el presente documento se describen formulaciones de vacuna que incluyen un vehículo farmacéuticamente aceptable y un polipéptido que comprende al menos una de las SEQ ID NOS: 1-38, o un fragmento inmunogénico del mismo. En ciertos aspectos, el polipéptido que consiste en al menos una de las SEQ ID NOS: 1-38.

15 En el presente documento se describe un método para inducir una respuesta inmunitaria en un sujeto, que comprende la administración a dicho sujeto de una cantidad eficaz de una formulación de vacuna o una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de dos o más polipéptidos aislados seleccionados entre polipéptidos que tienen una secuencia de aminoácidos de al menos una de las SEQ ID NOS: 1-38, o un fragmento inmunogénico del mismo.

20 En el presente documento se describe un método para reducir uno o más síntomas de infección por VHS-2 en un sujeto, que comprende la administración a dicho sujeto de una cantidad eficaz de una formulación de vacuna o una composición farmacéutica que comprende dos o más polipéptidos aislados seleccionados entre polipéptidos que tienen una secuencia de aminoácidos de al menos una de las SEQ ID NOS: 1-38, o un fragmento inmunogénico del mismo. En algunos aspectos, los síntomas de infección por VHS-2 comprenden uno o más de formación de lesiones, dolor, irritación, picor, fiebre, malestar general, dolor de cabeza, efusión viral, y pródromo.

25 En el presente documento se describe un método para inhibir el inicio de infección por VHS-2, que comprende la administración de una cantidad eficaz de una formulación de vacuna o una composición que comprende dos o más polipéptidos del VHS-2 aislados seleccionados entre polipéptidos que tienen una secuencia de aminoácidos de al menos una de las SEQ ID NOS: 1-38, o un fragmento inmunogénico de los mismos.

30 En el presente documento se describe un método para inhibir el desarrollo de una infección por VHS-2 latente en un sujeto expuesto al VHS-2, que comprende la administración de una cantidad eficaz de una formulación de vacuna o una composición que comprende dos o más polipéptidos del VHS-2 aislados seleccionados entre polipéptidos que tienen una secuencia de aminoácidos de al menos una de las SEQ ID NOS: 1-38, o un fragmento inmunogénico de los mismos.

35 En el presente documento se describe un método para reducir la efusión viral en un sujeto infectado con el VHS-2, que comprende la administración de una cantidad eficaz de una formulación de vacuna o una composición que comprende dos o más polipéptidos del VHS-2 aislados seleccionados entre polipéptidos que tienen una secuencia de aminoácidos de al menos una de las SEQ ID NOS: 1-38, o un fragmento inmunogénico de los mismos.

40 En el presente documento se describe un método para reducir la recurrencia de brotes en un sujeto infectado con el VHS-2, que comprende la administración de una cantidad eficaz de una formulación de vacuna o una composición que comprende dos o más polipéptidos del VHS-2 aislados seleccionados entre polipéptidos que tienen una secuencia de aminoácidos de al menos una de las SEQ ID NOS: 1-38, o un fragmento inmunogénico del mismo.

45 En el presente documento se describe un método para producir cualquiera de las composiciones farmacéuticas que se han descrito anteriormente, que comprende la expresión de dichos dos o más polipéptidos; y el aislamiento de dichos dos o más polipéptidos.

50 En el presente documento se describe un método para diagnosticar la gravedad de los síntomas en un sujeto infectado con el VHS-2, que comprende (i) medir la activación de los linfocitos T como respuesta a células de presentación de antígeno autólogo (APC) pulsadas con uno o más polipéptidos del VHS-2 aislados seleccionados entre polipéptidos que se presentan en las SEQ ID NOS: 1-38, o un fragmento inmunogénico de los mismos, y (ii) comparar dichos niveles con niveles de referencia obtenidos a partir de sujetos infectados que experimentan brotes frecuentes; de modo que un aumento significativo en dichas respuestas con respecto a niveles de referencia indica que dicho sujeto tiene síntomas menos graves (por ejemplo, el sujeto es asintomático). Un aumento significativo en la respuesta puede comprender, por ejemplo, un aumento de 1,5 veces o mayor, 2 veces o mayor, 3 veces o mayor, 5 veces o mayor, 10 veces o mayor o incluso 20 veces o mayor.

60 En el presente documento se describe un método para diagnosticar la gravedad de los síntomas en un sujeto infectado con el VHS-2, que comprende (i) medir la activación de los linfocitos T a partir de sujetos infectados de forma natural o expuestos al virus como respuesta a las APC que presentan uno o más polipéptidos del VHS-2 aislados seleccionados entre polipéptidos que se presentan en las SEQ ID NOS: 1-38, o un fragmento inmunogénico de los mismos, y (ii) comparar dichos niveles con niveles de referencia obtenidos a partir de sujetos infectados que experimentan brotes frecuentes; de modo que una disminución significativa en dicha activación con respecto a niveles de referencia indica que dicho sujeto tiene síntomas más graves (por ejemplo, brotes frecuentes).

65

En el presente documento se describen composiciones farmacéuticas que comprenden un anticuerpo que se une a uno o más polipéptidos del VHS aislados seleccionados entre el listado que consiste en las SEQ ID NOS: 1-38, o un fragmento inmunogénico del mismo.

- 5 En el presente documento se describe un método para identificar composiciones inmunogénicas para el VHS-2 mediante ensayo de dos o más polipéptidos seleccionados entre polipéptidos que tienen una secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NOS: 1-38, o un fragmento inmunogénico de los mismos, para su capacidad para estimular la producción de citoquinas en un linfocito T de mamífero, en el que una composición inmunogénica es una que aumenta los niveles de una citoquina de forma significativa por encima de los niveles de esa citoquina producida por un linfocito T de mamífero sin tratamiento previo. Un aumento significativo de los niveles de citoquinas generalmente es uno que es al menos 1,5 veces, 2 veces, 3 veces, 5 veces, 10 veces o incluso 20 veces el nivel producido por una célula sin tratamiento previo.

- 15 En el presente documento se describe un método para detectar el VHS-2 en una muestra de un sujeto, comprendiendo dicho método (i) poner en contacto dicha muestra con uno o más anticuerpos generados frente a uno o más polipéptidos que tienen una secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NOS: 1-38 o un fragmento inmunogénico de los mismos, y (ii) detectar dicho uno o más anticuerpos unidos a dicho uno o más polipéptidos del VHS-2 de la muestra.

- 20 En el presente documento se describen composiciones farmacéuticas que comprenden dos o más polinucleótidos aislados que codifican polipéptidos seleccionados entre las SEQ ID NOS: 1-38, o fragmentos que codifican péptidos inmunogénicos dos de los mismos.

III. Breve descripción de las figuras

- 25 Las Figuras 1A y B son gráficos que muestran, respectivamente, respuestas de los linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ después de inmunización con proteína de longitud completa gD2, gD2ΔTMR, o gD2 truncada inmediatamente cadena arriba del dominio transmembrana (indicado como 306t).

- 30 Las Figuras 2A y B son gráficos que muestran, respectivamente, respuestas de los linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ después de inmunización con péptidos solapan antes, combinados que se extienden a gL2, o fragmentos de ICP4 codificados por RS1.1, RS1.3.1 y RS1.3.2.

- 35 Las Figuras 3A y B son gráficos que muestran, respectivamente, respuestas de los linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ después de inmunización con gD2ΔTMR, o gD2ΔTMR e ICP4.2.

IV. Descripción detallada

- 40 La presente solicitud describe vacunas y composiciones inmunogénicas frente al VHS-2. Las formulaciones de vacuna pueden incluir un polipéptido que comprende una secuencia de la Tabla 1 o un fragmento inmunogénico del mismo, o una combinación de al menos dos polipéptidos que comprenden secuencias de la Tabla 1 o fragmentos inmunogénicos de los mismos. En ciertos aspectos, el polipéptido o polipéptidos de las vacunas comprenden toda la secuencia de al menos una de las SEQ ID NOS: 1-26 o consisten en toda la secuencia de una cualquiera de las SEQ ID NOS: 1-26. Las composiciones inmunogénicas pueden incluir un polipéptido que comprende una secuencia de la Tabla 1 o de la Tabla 2 o un fragmento inmunogénico del mismo o una combinación de al menos dos polipéptidos que comprenden secuencias de la Tabla 1 o de la Tabla 2, o fragmentos inmunogénicos de los mismos. En ciertos aspectos, el polipéptido o polipéptidos de las composiciones inmunogénicas comprenden toda la secuencia de una cualquiera de las SEQ ID NOS: 1-38 o consisten en toda la secuencia de una cualquiera de las SEQ ID NOS: 1-38. Los polipéptidos en las Tablas 1 o 2 pueden estar codificados con las SEQ ID NOS: 39-46 y 117-134 tal como se ha indicado y/o con secuencias de ADNc disponibles al público en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez>. Las secuencias del ADNc y de proteínas también se pueden obtener a partir de cualquier cepa conocida del VHS-2, incluyendo HG52, 333, y la cepa G. Por lo tanto, se puede tener acceso a las secuencias del ADNc con el nombre del gen o de la proteína a partir de la secuencia genómica en NC_001798.1, y puede estar conservada en aproximadamente un 97 % con las secuencias que se desvelan en NC_001798.1. Como se describe en el presente documento, los polipéptidos se pueden mencionar con el nombre de la proteína, con la SEQ ID NO, y/o con el nombre del gen que codifica la proteína.

- 60 Los polipéptidos se pueden preparar en una diversidad de sistemas de expresión. Los sistemas de expresión adecuados incluyen sistemas de expresión a base de *E. coli* y Baculovirus (por ejemplo, en células de insecto). Los polipéptidos preparados usando *E. coli* generalmente son de longitud completa y no están glicosilados, aunque se pueden preparar versiones truncadas. En ciertos aspectos, estas variantes truncadas retienen todo o parte del dominio señal. Los polipéptidos preparados usando un sistema de Baculovirus generalmente carecen de la secuencia señal N-terminal, pero están total o parcialmente glicosilados.

Tabla 1. Antígenos del VHS-2 para vacunas o composiciones inmunogénicas

Proteína SEQ ID N.º	SEQ ID del ADN N.º	Nombre del Gen o Construcción Nombre de la Proteína	Gen ID N.º	N.ºs de Acceso en GenBank
1	39	RS1 ICP4	1869897	NP_044530.1
2	117	RS 1.2 fragmento interno de ICP4 (ICP4.2)		RS1.2 corresponde a un fragmento interno de la secuencia de RS1
3	118	UL1 gL2 citoplasmático	1487292	NP_044470.1
4	40	US6ΔTMR <i>delección interna de gD2 (gDΔTMR)</i>	9629336	NP_044536.1 US6ΔTMR corresponde a gD2 con una <i>delección</i> de los aminoácidos 340- 363
5		US6 gD2		
6	41	RL1 ICP34.5	9629329	NP_044529.1
7	42	RL2 ICP0	109676722	NP_044528.2
8	121	RS1.1 fragmentos internos de ICP4	1869897	NP_044530.1 RS1.1 corresponde a los restos 1-400 de RS1
9	122	RS1.3.1 fragmentos internos de ICP4	1869897	NP_044530.1 RS 1.3.1 corresponde a los restos 750-1024 de RS1
10	123	RS1.3.2 fragmentos internos de ICP4	1869897	NP_044530.1 RS 1.3.2 corresponde a los restos 1008-1319 de RS1
11	124	RS1.3 fragmentos internos de ICP4	1869897	NP_044530.1 RS1.3 corresponde a los restos 750-1319_ de RS1
12	125	RS1.4 fragmentos internos de ICP4	1869897	NP_044530.1 RS1.4 corresponde a los restos 340-883 de RS1
13	126	RS1.5 fragmentos internos de ICP4	1869897	NP_044530.1 RS1.5 corresponde a los restos 775-1318 de RS1
14	127	RS1.6 fragmentos internos de ICP4	1869897	NP_044530.1 RS1.6 corresponde a los restos 209-1318 de RS1
15	128	RS1.7 fragmentos internos de ICP4	1869897	NP_044530.1 RS1.7 tiene una <i>delección</i> de los restos 391-544 de RS1
16	129	RS1.8 fragmentos internos de ICP4	1869897	NP_044530.1 RS1.8 tiene una <i>delección</i> de los restos 786-864 de RS1
17		UL2 uracil ADN glicosilasa		
18		UL11 proteína del tegumento miristilada		
19	119	UL1 gL2 secretada	1487292	NP_044470.1
20		UL19 VP5		
21	120	UL19ATEV	9629288	NP_044488.1
22		UL36 ICP1/2		
23	43	UL36.3.4.1 fragmentos internos de ICP1/2	1487322	NP_044506.1 UL 36.3.4.1 corresponde a los restos 1318-2280 de UL36
24	44	UL36.4.2.5 fragmentos internos de ICP1/2	1487322	NP_044506.1 UL 36.4.2.5 corresponde a los restos 2253-3122 de UL36
25		UL40 ribonucleósido reductasa		
26	45	US12 ICP47	9629343	NP_044543.1

Tabla 2. Antígenos del VHS-2 adicionales para composiciones inmunogénicas

Proteína SEQ ID N.º	SEQ ID del ADN N.º	Nombre del Gen o Construcción <i>Nombre de la Proteína</i>	Gen ID N.º	N.ºs de Acceso en GenBank
27	134	UL10 <i>gM2</i>	9629279	NP_044479.1
28		UL15 <i>proteína de escisión y empaquetamiento de ADN</i>		
29		UL26.5 <i>ICP35</i>		
30		UL30 <i>polimerasa dirigida por ADN</i>		
31		UL5 <i>complejo de ADN helicasa/primasa</i>		
32		UL8 <i>complejo de ADN helicasa/primasa</i>		
33		UL15.5 <i>desconocida</i>		
34		UL32 <i>proteína de escisión y empaquetamiento</i>		
35		UL36.4.2 <i>fragmento de ICP1/2</i>		
36		UL54 <i>ICP27</i>		
37	133	UL49.5 <i>Membrana asociada a proteína viriónica</i>	1487337	NP_044520.1
38	46	US4 <i>gG2</i>	9629334	NP_044534.1

A. Polipéptidos del VHS-2 inmunogénicos

5 En composiciones farmacéuticas se pueden usar polipéptidos o polinucleótidos inmunogénicos como se indica en la Tabla 1 y/o la Tabla 2. En el presente documento se describen composiciones farmacéuticas que contienen polipéptidos o polinucleótidos inmunogénicos que codifican estos polipéptidos inmunogénicos junto con un vehículo farmacéutico. Los antígenos del VHS-2 se pueden identificar mediante la identificación sistemática de células inmunes de pacientes infectados con el VHS-2. En resumen, una biblioteca de antígenos del VHS-2 fue expresada por bacterias y se mezcló con células presentadoras de antígenos (APC). Las APC, a su vez, procesaron y presentaron polipéptidos obtenidos a partir del VHS-2 a linfocitos que se habían aislado de pacientes humanos infectados con el VHS-2. Los pacientes pertenecían a varias poblaciones: (1) (1) expuestos al VHS-2 pero seronegativos para la infección, (2) infectados con el VHS-2 pero asintomáticos, (3) infectados con el VHS-2 y experimentando brotes infrecuentes, (4) infectados con el VHS-2 y experimentando brotes frecuentes, (5) sin tratamiento previo y (6) seronegativos para el VHS-2 (VHS-2⁻) pero seropositivos para el VHS-1 (VHS-1⁺). Las respuestas linfocitarias de cada población se compararon para la reactividad a los polipéptidos obtenidos a partir del VHS-2, y la identificación sistemática detectó antígenos que inducían linfocitos reactivos con mayor frecuencia en una población de pacientes en comparación con las demás. Los pacientes infectados pero asintomáticos y expuestos pero seronegativos pueden activar respuestas inmunitarias protectoras cosa que los pacientes que experimentan brotes frecuentes no hacen; en particular, se supone que los pacientes expuestos pero seronegativos tienen inmunidad esterilizante aumentada frente a la infección por VHS-2. Se cree que un conjunto único de polipéptidos activará los linfocitos de estas poblaciones de pacientes. Por lo tanto, la presente divulgación contempla composiciones de los polipéptidos del VHS-2 específicos que activan los linfocitos de pacientes infectados pero asintomáticos o expuestos pero seronegativos o una combinación de estos polipéptidos para inhibir o contrarrestar la infección por VHS-2.

Del mismo modo se espera que los antígenos identificados de acuerdo con su inmunogenicidad en pacientes infectados pero asintomáticos, o expuestos pero seronegativos, sean inmunogénicos en cualquier sujeto.

30 En algunos aspectos, un polipéptido puede inducir una respuesta inmunitaria innata, una respuesta inmunitaria humoral o una respuesta inmunitaria mediada por células. La respuesta inmunitaria mediada por células puede involucrar a los linfocitos T_{H1}, y en ciertos aspectos, la respuesta inmunitaria que involucra a los linfocitos T_{H1} es una respuesta inmunitaria en la que los linfocitos T_{H1} están activados. En algunos aspectos, un polipéptido inmunogénico evita la inducción de citoquinas T_{H2}. En algunos aspectos, la respuesta inmunitaria mediada por células puede involucrar a los linfocitos T_{H17}, y en ciertos aspectos, la respuesta inmunitaria que involucra a los linfocitos T_{H17} es una respuesta inmunitaria en la que los linfocitos T_{H17} están activados.

Los polipéptidos (o fragmentos inmunogénicos de los mismos) en las composiciones de la invención pueden inducir respuestas de los linfocitos T en múltiples individuos, independientemente del haplotipo HLA de los individuos. De

forma específica, los epítomos en los polipéptidos pueden inducir respuestas de los linfocitos T en individuos con uno o más de los siguientes supertipos de HLA: HLA-A2, -A3, -A24, -A1, -B7, -B8, -B27, -B44, -B58, y B62, y HLA-DQB01, -DQB02, -DQB03, -DQB-04, y -DQB05.

5 En algunos aspectos, uno o más, por ejemplo, dos, tres, cuatro, o más polipéptidos de la Tabla 1 y/o Tabla 2 (o fragmentos inmunogénicos de los mismos) se proporcionan en una composición de la invención. En algunos aspectos, dos polipéptidos de la Tabla 1 y/o Tabla 2 se proporcionan en una composición de la invención. En otros aspectos, tres polipéptidos de la Tabla 1 y/o Tabla 2 se proporcionan en una composición de la invención.

10 En algunos aspectos, dos, tres, cuatro, o más polipéptidos de la Tabla 1 y/o Tabla 2 (o fragmentos inmunogénicos de los mismos) se proporcionan juntos como un conjugado. En algunos aspectos, dos polipéptidos de la Tabla 1 y/o Tabla 2, o tres polipéptidos de la Tabla 1 y/o Tabla 2, se proporcionan como un conjugado. En algunos aspectos, dos, tres, cuatro, o más polipéptidos de la Tabla 1 y/o Tabla 2 se unen entre sí mediante enlace covalente, por ejemplo, como una proteína de fusión. En algunos aspectos, dos, tres, cuatro, o más polipéptidos de la Tabla 1 y/o

15 Tabla 2 se unen entre sí mediante enlace covalente, por ejemplo, como una proteína de fusión. En algunos aspectos, dos polipéptidos de la Tabla 1 y/o Tabla 2, o tres polipéptidos de la Tabla 1 y/o Tabla 2, se unen entre sí mediante enlace covalente, por ejemplo, como una proteína de fusión.

20 En algunos aspectos, las composiciones comprenden dos o más polipéptidos seleccionados entre el grupo que consiste en las SEQ ID NOS: 1-38, y pueden contener o pueden no contener cualquier otro polipéptido del VHS-2.

25 En ciertos aspectos, los solicitantes describen polipéptidos que son idénticos en al menos un 70 %, un 80 %, un 90 %, un 95 %, un 96 %, un 97 %, un 98 %, un 99 %, o un 100 % a un polipéptido codificado por un gen en la Tabla 1 y/o Tabla 2, o una parte de dicho polipéptido. En ciertos aspectos, el polipéptido homólogo tiene una longitud de al menos 8, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 220, 240, 260, 280, 300, 350, 400, 450, o 500 aminoácidos. En algunos aspectos, tales como los que se han descrito anteriormente, el polipéptido tiene una longitud no superior a 300, 350, 400, 450, o 500 aminoácidos.

30 Una composición inmunogénica también puede comprender partes de dichos polipéptidos y genes, por ejemplo, mutantes de delección, mutantes de truncamiento, oligonucleótidos y fragmentos de péptidos. En algunos aspectos, las partes de dichas proteínas son inmunogénicas.

35 La inmunogenicidad de una parte de una proteína o un homólogo de la misma se puede determinar fácilmente usando los mismos ensayos que se usan para determinar la inmunogenicidad de la proteína de longitud completa.

40 En algunos aspectos, la parte de la proteína tiene básicamente la misma inmunogenicidad que las proteínas de longitud completa. En algunos aspectos, la inmunogenicidad no es más de un 10 %, un 20 %, un 30 %, un 40 %, o un 50 % inferior a la de la proteína de longitud completa. Los fragmentos de proteína pueden ser, por ejemplo, lineales, circulares o ramificados. En algunos aspectos, una proteína o fragmento de proteína comprende uno o más aminoácidos no naturales (por ejemplo, un aminoácido distinto de los 20 que se encuentran generalmente en las proteínas naturales). Un aminoácido no natural puede tener una cadena lateral atípica. Además, se pueden usar peptidomiméticos; estos pueden incorporar alteraciones en la cadena principal peptídica.

45 Algunos aspectos de la composición polipeptídica que se describen en el presente documento incluyen un polipéptido inmunogénico que contiene una secuencia de translocación de membrana (MTS), para facilitar la introducción del polipéptido en la célula de mamífero y la estimulación posterior de la respuesta inmunitaria mediada por células. Las secuencias de translocación de membrana a modo de ejemplo incluyen una región hidrófoba en la secuencia señal del factor de crecimiento de fibroblastos de Kaposi, la MTS de α -sinucleína, β -sinucleína o γ -sinucleína, la tercera hélice del homeodominio de Antennapedia, SN50, región h de integrina β , Tat del VIH, pAntp, PR-39, abaecina, apidaecina, Bac5, Bac7, proteína CS de *P. berghei* y las MTS que se describen en los documentos de Patente de Estados Unidos N.ºs 6.248.558, 6.432.680 y 6.248.558.

50 En ciertos aspectos, el polipéptido inmunogénico está conjugado (es decir, está unido mediante enlace covalente) a otra molécula. Esto puede, por ejemplo, aumentar la vida media, solubilidad, biodisponibilidad o inmunogenicidad del antígeno. Las moléculas que se pueden conjugar con un polipéptido inmunogénico incluyen un carbohidrato, biotina, poli(etilenglicol) (PEG), ácido polisialico, ácido polisialico N-propionilado, ácidos nucleicos, polisacáridos y PLGA. Hay muchos tipos diferentes de PEG, que varían desde pesos moleculares inferiores a 300 g/mol hasta más de 10.000.000 g/mol. Las cadenas de PEG pueden ser lineales, ramificadas o con geometrías en forma de peine o estrella.

60 B. Polipéptidos y ácidos nucleicos del VHS-2 inmunogénicos para su uso en vacunas

En ciertos aspectos, uno o más, por ejemplo, dos, tres, cuatro o más fragmentos inmunogénicos o variantes de los mismos se proporcionan en una mezcla. Por ejemplo, una formulación de vacuna puede comprender una cualquiera o más de las SEQ ID NOS: 1-26.

65 En ciertos aspectos, una formulación de vacuna puede comprender uno cualquiera, dos o tres de ICP4, ICP4.2, gL2,

gD2ΔTMR y gD2 (SEQ ID NOS: 1-5), o fragmento inmunogénico(s) de los mismos. En ciertos aspectos, las combinaciones contienen polipéptidos o fragmentos inmunogénicos solamente de uno de ICP4 (SEQ ID NO 1) e ICP4.2 (SEQ ID NO 2). En otros aspectos, las combinaciones contienen polipéptidos o fragmentos inmunogénicos solamente de uno de gD2ΔTMR (SEQ ID NO: 4) y gD2 (SEQ ID NO: 5).

5 Las combinaciones de ICP4, ICP4.2, gL2, gD2ΔTMR y gD2 a modo de ejemplo incluyen:

Combinaciones de dos antígenos	
ICP4 SEQ ID NO: 1	gL2 SEQ ID NO: 3
ICP4 SEQ ID NO: 1	gD2ΔTMR SEQ ID NO: 4
ICP4 SEQ ID NO: 1	gD2 SEQ ID NO: 5
ICP4.2 SEQ ID NO: 2	gL2 SEQ ID NO: 3
ICP4.2 SEQ ID NO: 2	gD2ΔTMR SEQ ID NO: 4
ICP4.2 SEQ ID NO: 2	gD2 SEQ ID NO: 5
gL2 SEQ ID NO: 3	gD2ΔTMR SEQ ID NO: 4
gL2 SEQ ID NO: 3	gD2 SEQ ID NO: 5

Combinaciones de tres antígenos		
ICP4 SEQ ID NO: 1	gL2 SEQ ID NO: 3	gD2ΔTMR SEQ ID NO: 4
ICP4.2 SEQ ID NO: 2	gL2 SEQ ID NO: 3	gD2ΔTMR SEQ ID NO: 4
ICP4 SEQ ID NO: 1	gL2 SEQ ID NO: 3	gD2 SEQ ID NO: 5
ICP4.2 SEQ ID NO: 2	gL2 SEQ ID NO: 3	gD2 SEQ ID NO: 5

10 Los antígenos individuales y las combinaciones que se han descrito anteriormente también pueden incluir péptidos adicionales del VHS-2 obtenidos a partir del mismo, tales como los polipéptidos que comprenden secuencias seleccionadas de la SEQ ID NO: 6-26 o fragmentos inmunogénicos de los mismos.

15 **1. ICP4 (SEC ID NO: 1) codificada por RS1**

RS1 codifica ICP4, un transactivador transcripcional que puede interactuar con y reclutar componentes específicos de la maquinaria de transcripción general a promotores virales y estabilizar su formación para el inicio de la transcripción. ICP4 contiene distintos dominios para transactivación/fosforilación (que se extiende aproximadamente a los restos de aminoácido 150-200 de la SEQ ID NO: 1), unión al ADN (que se extiende aproximadamente a los restos de aminoácido 380-540 de la SEQ ID NO: 1), localización nuclear (que se extiende aproximadamente a los restos de aminoácido 630-730 de la SEQ ID NO: 1), y transactivación regulatoria tardía (que se extiende aproximadamente a los restos de aminoácido 1220-1319 de la SEQ ID NO: 1). La secuencia de ADN y proteínas de RS1 se puede encontrar buscando RS1 en la base de datos disponible al público, Entrez Gene (en el sitio web de NCBI NIH en la World Wide Web, en www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=gene), en el genoma completo del virus 2 del herpes humano.

En algunos aspectos, las vacunas frente al VHS-2 incluyen un polipéptido que contiene al menos 20 restos de aminoácido consecutivos seleccionados entre los residuos 383-766 de ICP4 (SEQ ID NO: 1), pero no más de 1000 aminoácidos de ICP4 (SEQ ID NO: 1). El polipéptido también puede ser una variante del fragmento de al menos 20 restos.

En ciertos aspectos, el polipéptido incluye no más de 950, 900, 850, 800, 750, 700, 650, 600, 550, 500, 450 o incluso 400 aminoácidos consecutivos de ICP4. Los polipéptidos a modo de ejemplo corresponden aproximadamente a los restos de aminoácido de ICP4 de longitud completa como sigue: 383-766; 1-400 (RS1.1); 750-1024 (RS1.3.1); 1008-1319 (RS1.3.2); 750-1319 (RS1.3); 280-785 (RS1.4 que comprende la región de unión completa al ADN); 680-1319 (RS1.5 que comprende la región de glicosilasa/C-terminal); 208-1319 (RS1.6 que también puede comprender un resto de Met en el extremo N-terminal); 1-380 más 545-1319 (RS1.7, en el que una región que abarca aproximadamente los restos 381-544 experimenta delección, eliminando las regiones de unión al ADN); 1-785 más 870-1319 (RS1.8, en el que una región que abarca aproximadamente los restos 786-869 se somete a delección, eliminando el dominio de localización nuclear), o 1-766, 383-1318, 100-750, 400-1300, 250-766, 383-900 de ICP4 (SEQ ID NO: 1) y similares.

40 **2. Fragmento interno ICP4.2 de ICP4 (SEC ID NO: 2) codificado por RS1.2**

RS1.2 codifica un fragmento de 391 aminoácidos de ICP4, denominado ICP4.2.

En aspectos específicos, las vacunas frente al VHS-2 incluyen un polipéptido que contiene de 50 a todos los 391 restos de aminoácido de ICP4.2 (SEQ ID NO: 2), tales como de 100 a 391, de 200 a 391 o de 250 a 350 restos. En aspectos particulares, el polipéptido incluye todo el ICP4.2 (SEQ ID NO: 2) o es el propio ICP4.2 (SEQ ID NO: 2). Estos polipéptidos pueden incluir, por ejemplo, la longitud completa o los fragmentos de ICP4.2 (SEQ ID NO: 2) que se describen en el presente documento con los restos de aminoácido 1-382 o 767-1318 de ICP4 (SEQ ID NO: 1) o fragmentos de los mismos, que, en ciertos aspectos, son consecutivos con los residuos de aminoácido de ICP4.2 que se están usando. Anteriormente se han descrito fragmentos a modo de ejemplo que combinan los restos de la SEQ ID NO: 2 con restos seleccionados de 1-382 o 767-1318 de la SEQ ID NO: 1.

Un fragmento inmunogénico de ICP4.2 comprende al menos una parte inmunogénica, tal como se mide de forma experimental o identificada por un algoritmo. Los péptidos identificados por métodos de ese tipo incluyen los siguientes:

15 GLAHVAAAV (SEQ ID NO: 47)
 FIGSVARA (SEQ ID NO: 48)
 QYALITRLL (SEQ ID NO: 49)
 RYDRAQKGF (SEQ ID NO: 50)
 20 GYAMAAGRF (SEQ ID NO: 51)
 PPHADAPRL (SEQ ID NO: 52)
 KPAAAAAPL (SEQ ID NO: 53)
 SEAAVAHV (SEQ ID NO: 54)
 FGWGLAHV (SEQ ID NO: 55)
 25 YALITRLLY (SEQ ID NO: 56)
 ALPRSPRL (SEQ ID NO: 57)
 DLLFQNSL (SEQ ID NO: 58)
 ADLLFQNS (SEQ ID NO: 59)
 ARNSSFIS (SEQ ID NO: 60)
 30 QACFRISGA (SEQ ID NO: 61)
 FVRDALVLM (SEQ ID NO: 62)
 FDGDLAAMP (SEQ ID NO: 63)
 GLGDSRPGL (SEQ ID NO: 64)
 WAPELGDAV (SEQ ID NO: 65)
 35 ECLAACRGI (SEQ ID NO: 66)
 RAWLRELRV (SEQ ID NO: 67).

Por lo tanto, en algunos aspectos, la presente solicitud describe un fragmento inmunogénico de ICP4.2. Los fragmentos, en algunos casos, tienen un tamaño aproximado al del polipéptido de longitud completa. Por ejemplo, pueden carecer como máximo de uno, dos, tres, cuatro, cinco, diez, o veinte aminoácidos de uno o ambos extremos. En otros aspectos, el fragmento tiene una longitud de 100-391 aminoácidos, o una longitud de 150-391, o 200-391, o 250-391 aminoácidos. Otros fragmentos a modo de ejemplo son los restos de aminoácido 1-350, 1-300, 1-250, 1-200, 1-150, 1-100, 1-50, 50-391, 50-350, 50-300, 50-250, 50-200, 50-150, 50-100, 100-391, 100-350, 100-300, 100-250, 100-200, 100-150, 150-391, 150-350, 150-300, 150-250, 150-200, 200-391, 200-350, 200-300, 200-250, 250-391, 250-350, 250-300, 300-391 y 350-391. Los fragmentos que se han descrito anteriormente o subfragmentos de los mismos (por ejemplo, los fragmentos de los restos de aminoácido 8-50, 8-30, o 8-20) tienen preferentemente una de las actividades biológicas que se describen a continuación, tal como un aumento de la respuesta de los linfocitos T de al menos 1,5 veces o 2 veces. En las vacunas que se describen en el presente documento como polipéptido se puede usar un fragmento o se puede fusionar a otra proteína, fragmento de proteína o un polipéptido.

En ciertos aspectos, la presente solicitud describe polipéptidos inmunogénicos con una identidad de al menos un 90 %, un 95 %, un 97 %, un 98 %, un 99 %, o un 99,5 % con ICP4.2 o un fragmento inmunogénico del mismo.

3. Glicoproteína L-2 (SEQ ID NO: 3) codificada por UL1

55 UL1 codifica la Glicoproteína L-2 (gL2), una glicoproteína heterodimérica que es necesaria para la fusión de las membranas virales y celulares y permite que el virus entre en la célula hospedadora. La secuencia del ADN y de proteínas de UL1 se puede encontrar buscando en la base de datos disponible al público, Entrez Gene (en el sitio web de NCBI NIH en la World Wide Web en www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=gene), en el genoma completo del virus 2 del herpes humano.

En algunos aspectos, las vacunas frente al VHS-2 incluyen un polipéptido que contiene al menos 20 restos de aminoácido consecutivos seleccionados entre los restos 1-224 de gL2 (SEQ ID NO: 3), pero no más de 224 aminoácidos de (SEQ ID NO: 3). El polipéptido también puede ser una variante del fragmento de al menos 20 restos.

65 En algunos aspectos, el polipéptido es idéntico en al menos un 85 % a un fragmento de 200-250 aminoácidos de la

SEQ ID NO: 3.

En ciertos aspectos, el polipéptido incluye no más de 200 o 100 aminoácidos consecutivos de gL2. Los polipéptidos a modo de ejemplo son restos de aminoácido 1-20, 21-40, 41-60, de 61-80, 81-100, 101-120, 121-140, 141-160, 161-180, 181-200, 201-221 de gL2 (SEQ ID NO: 3) y similares.

En otros aspectos, la presente solicitud describe un fragmento inmunogénico de gL2. Un fragmento inmunogénico de gL2 comprende al menos una parte inmunogénica, tal como se mide de forma experimental o identificada por un algoritmo. Los péptidos identificados por métodos de ese tipo incluyen los siguientes:

10
 15
 20
 25
 30

AYLVNPFLF (SEQ ID NO: 100)
 PFLFAAGFL (SEQ ID NO: 101)
 TEYVLRSVI (SEQ ID NO: 102)
 GSQATEYVL (SEQ ID NO: 103)
 RIDGIFLRY (SEQ ID NO: 104)
 FLEDLSHSV (SEQ ID NO: 105)
 YVLRSVIAK (SEQ ID NO: 106)
 YVLRSVIAK (SEQ ID NO: 107)
 AYLVNPFLF (SEQ ID NO: 108)
 ETTTTRALY (SEQ ID NO: 109)
 RIDGIFLRY (SEQ ID NO: 110)
 YLVNPFLFA (SEQ ID NO: 111)
 FVCLFGLVV (SEQ ID NO: 112)
 LYKEIRDAL (SEQ ID NO: 113)
 GLDTFLWDR (SEQ ID NO: 114)
 RVSPTRGRR (SEQ ID NO: 115)
 YVLRSVIAK (SEQ ID NO: 115)
 GLDTFLWDR (SEQ ID NO: 116)
 DILRVPCMR (SEQ ID NO: 117)
 DRHAQRAYL (SEQ ID NO: 118)

4. Glicoproteína D-2 (SEQ ID NO: 5) codificada por US6 y Glicoproteína D-2 con delección interna (SEQ ID NO: 4) codificada por US6ΔTMR

35 US6 codifica la glicoproteína de envoltura D-2 (gD2), una glicoproteína de envoltura que se une a receptores de entrada en la célula hospedadora y que puede desencadenar la fusión del virus con la membrana del hospedador. La proteína gD2 tiene varios dominios distintos, incluyendo un dominio señal (restos de aminoácido 1-25) que se escinde de la proteína madura, y un dominio transmembrana (que se extiende aproximadamente a los restos de aminoácido 340-363). La secuencia del ADN y de proteínas de US6 se puede encontrar buscando en la base de datos disponible al público, Entrez Gene (en el sitio web NCBI NIH en la World Wide Web, en www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=gene), en el genoma completo del virus 2 del herpes humano.

45 En algunos aspectos, las vacunas frente al VHS-2 incluyen un polipéptido que comprende gD2 que está perdiendo todo o parte del dominio transmembrana (que se extiende aproximadamente a los restos de aminoácido 340-363 inclusive) así como la secuencia señal. En otros aspectos, la región sometida a delección puede incluir además 5-10 aminoácidos de la secuencia que flanquea el dominio transmembrana. La región sometida a delección también puede comprender una parte del dominio transmembrana, por ejemplo al menos 3 aminoácidos entre los restos 340-363. En algunos aspectos, al menos un resto en el dominio transmembrana se ha modificado, experimentado delección o sustituido, de modo que el dominio transmembrana ya no es funcional. Por ejemplo, una variante puede tener su delección interna comenzando en el resto de aminoácido 336, 337, 338, 339, 340, 341, 342, 343, 344, 345 o 346 y terminando en el resto de aminoácido 358, 359, 360, 361, 362, 363, 364, 365, 366, 367 o 368.

50 Una construcción que codifica gD2 que está perdiendo los restos de aminoácido 340-363 (el dominio transmembrana) se denomina US6ΔTMR (SEQ ID NO: 40). La proteína correspondiente se denomina gD2ΔTMR (SEQ ID NO: 4). En otros aspectos, un fragmento inmunogénico de gD2 o gD2ΔTMR puede comprender una delección en una parte del dominio transmembrana, y/o puede comprender una delección en la secuencia de flanqueo fuera del dominio transmembrana.

60 En otros aspectos, la presente solicitud describe un fragmento inmunogénico de gD2 o gD2ΔTMR. Un fragmento inmunogénico de gD2 o gD2ΔTMR comprende al menos una parte inmunogénica, tal como se mide de forma experimental o identificada por un algoritmo. Los péptidos identificados por métodos de ese tipo incluyen los siguientes:

65

ALAGSTLAV (SEQ ID NO: 68)
 LLEDPAQTV (SEQ ID NO: 69)
 VIGGIAPFWV (SEQ ID NO: 70)

TVYYAVLER (SEQ ID NO: 71)
 KYALADPSL (SEQ ID NO: 72)
 AFETAGTYL (SEQ ID NO: 73)
 5 APSNPGLII (SEQ ID NO: 74)
 IPITVYYAV (SEQ ID NO: 75)
 APPSHQPLF (SEQ ID NO: 76)
 FLMHAPAFE (SEQ ID NO: 77)
 FSAVSEDNL (SEQ ID NO: 78)
 VYYAVLER (SEQ ID NO: 79)
 10 IGMLPRFI (SEQ ID NO: 80)
 YTECPYNKS (SEQ ID NO: 81)
 FLMHAPAFE (SEQ ID NO: 82)
 NLGFLMHAP (SEQ ID NO: 83)
 VIGGIAFWV (SEQ ID NO: 84)
 15 GIAFWVRRR (SEQ ID NO: 85)
 SEDNLGFLM (SEQ ID NO: 86)
 RTQPRWSYY (SEQ ID NO: 87)
 IAFWVRRRA (SEQ ID NO: 88)
 LVIGGIAFW (SEQ ID NO: 89)
 20 FWVRRRAQM (SEQ ID NO: 90)
 PYTSTLLPP (SEQ ID NO: 91)
 VGTAALLVV (SEQ ID NO: 92)
 TAALLVVAV (SEQ ID NO: 93)
 TSTLLPEL (SEQ ID NO: 94)
 25 GTVSSQIPP (SEQ ID NO: 95)
 TAGTYLRLV (SEQ ID NO: 96)
 GVTVDSIGM (SEQ ID NO: 97)
 AFWVRRRAQ (SEQ ID NO: 98)
 30 RYVYHIQPSL (SEQ ID NO: 99)

Por lo tanto, en algunos aspectos, la presente solicitud describe un fragmento inmunogénico de gD2 (SEQ ID NO: 5) o gD2ΔTMR (SEQ ID NO: 4). Los fragmentos, en algunos casos, tienen un tamaño aproximado al del polipéptido de longitud completa. Por ejemplo, pueden carecer como máximo de uno, dos, tres, cuatro, cinco, diez, o veinte aminoácidos de uno o ambos extremos. En otros aspectos, el fragmento tiene una longitud de 100-391 aminoácidos, o una longitud de 150-391, o 200-391, o 250-391 aminoácidos. Otros fragmentos a modo de ejemplo son los restos de aminoácido 1-350, 1-300, 1-250, 1-200, 1-150, 1-100, 1-50, 50-391, 50-350, 50-300, 50-250, 50-200, 50-150, 50-100, 100-391, 100-350, 100-300, 100-250, 100-200, 100-150, 150-391, 150-350, 150-300, 150-250, 150-200, 200-383, 200-350, 200-300, 200-250, 250-391, 250-350, 250-300, 300-391 y 350-391. Los fragmentos que se han descrito anteriormente o subfragmentos de los mismos (por ejemplo, los fragmentos de los restos de aminoácido 8-50, 8-30, o 8-20) tienen preferentemente una de las actividades biológicas que se describen a continuación, tal como un aumento de la respuesta de los linfocitos T de al menos 1,5 veces o 2 veces. En las vacunas que se describen en el presente documento como polipéptido se puede usar un fragmento o se puede fusionar a otra proteína, fragmento de proteína o un polipéptido.

45 En otros aspectos, el polipéptido comprende toda la secuencia de la SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 5, o consiste en toda la secuencia de la SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 5. En ciertos aspectos, un fragmento inmunogénico de gD2 retiene todo o parte del dominio señal (restos de aminoácido 1-25) y/o el dominio transmembrana (restos de aminoácido 340-363).

50 En ciertos aspectos, los polipéptidos tienen una homología de menos de un 20 %, un 30 %, un 40 %, un 50 %, un 60 % o un 70 % con autoantígenos humanos. Los ejemplos de autoantígenos de ese tipo incluyen UL6 del VHS-1 y gK o UL53 del VHS-2.

55 En ciertos aspectos, la presente solicitud describe polipéptidos inmunogénicos con una identidad de al menos un 90 %, un 95 %, un 97 %, un 98 %, un 99 %, o un 99,5 % con gD2ΔTMR, o un fragmento inmunogénico del mismo.

C. Características adicionales de los polipéptidos del VHS-2

60 Por lo general, los polipéptidos presentes en las formulaciones de vacuna o composiciones farmacéuticas que se describen en el presente documento son inmunogénicos, ya sea solos o como una variante, que incluye polipéptidos fusionados a otro polipéptido o mezclados o formando complejos con un adyuvante. Las variantes también incluyen secuencias con una identidad de secuencia de menos de un 100 %, como se describe en el presente documento. Además, se pueden usar fragmentos, precursores y análogos que tengan una inmunogenicidad apropiada.

65 Estos polipéptidos pueden ser inmunogénicos en mamíferos, por ejemplo, ratones, cobayas o seres humanos. Un polipéptido inmunogénico generalmente es uno que es capaz de generar una respuesta inmunitaria significativa en

un ensayo o en un sujeto. Alternativamente, un polipéptido inmunogénico puede (i) inducir la producción de anticuerpos, por ejemplo, anticuerpos neutralizantes, que se unen al polipéptido, (ii) inducir inmunidad para T_H1, (iii) activar la respuesta de CTL CD8⁺, por ejemplo aumentando los linfocitos T CD8⁺ y/o aumentando la localización de los linfocitos T CD8⁺ en el sitio de infección o reinfección, (iv) inducir la inmunidad para T_H17, y/o (v) activar la

5 inmunidad innata. En algunos aspectos, un polipéptido inmunogénico causa la producción de una cantidad detectable de anticuerpo específico para ese antígeno.

En ciertos aspectos, los polipéptidos tienen una homología de menos de un 20 %, un 30 %, un 40 %, un 50 %, un 60 % o un 70 % con autoantígenos humanos.

10 Un polipéptido puede comprender una o más partes inmunogénicas y una o más partes no inmunogénicas. Las partes inmunogénicas se pueden identificar mediante diversos métodos, incluidos micromatrices de proteínas, técnicas de ELISPOT/ELISA y/o ensayos específicos sobre diferentes mutantes de delección (por ejemplo, fragmentos) del polipéptido en cuestión. Las partes inmunogénicas también se pueden identificar mediante

15 algoritmos informáticos. Algunos de estos algoritmos, tal como EpiMatrix (producido por EpiVax), usan un enfoque de matriz informática. Otras herramientas informáticas para identificar epítomos antigénicos incluyen PEPVAC (Promiscuous EPitope-based VACCine, alojado en el servidor de Dana Farber Cancer Institute en la world wide web en immunax.dfci.harvard.edu/PEPVAC), MHCpred (que usa un enfoque parcial de mínimos cuadrados y está alojado en el servidor de The Jenner Institute en la world wide web en www.jenner.ac.uk/MHCpred), y Syfpeithi, alojado en el servidor en la world wide web en www.syfpeithi.de/.

En algunos aspectos, la vacuna o composición farmacéutica puede comprender proteínas de fusión y/o construcciones de ADN de fusión. Las secuencias de ADN subyacentes mencionadas anteriormente se pueden modificar de manera que no afecten la secuencia del producto proteico. Por ejemplo, la secuencia de ADN se puede

25 optimizar con codones para mejorar la expresión en un hospedador tal como *E. coli* o una línea celular de insecto (por ejemplo, usando el sistema de expresión de baculovirus) o una línea celular de mamífero (por ejemplo, ovario de hámster chino). En aspectos particulares, tal como cuando se usan polipéptidos relacionados más pequeños, incluyendo los que tienen un peso molecular inferior a aproximadamente 5000 daltons, por ejemplo, de 1500 a 5000 daltons, la modificación puede ser útil para provocar la respuesta inmunitaria deseada. Por ejemplo, los polipéptidos más pequeños se pueden conjugar con un vehículo inmunogénico apropiado, tal como proteínas de otros organismos patógenos o virus (por ejemplo, toxoide tetánico), proteínas grandes (por ejemplo, hemocianina de lapa californiana) o similares. La conjugación puede ser directa o indirecta (por ejemplo, a través de un conector). En otros aspectos particulares, una proteína de fusión puede comprender un polipéptido desvelado anteriormente o un

30 fragmento inmunogénico o variante del mismo y una marca. Una marca puede ser N-terminal o C-terminal. Por ejemplo, se pueden añadir marcas al ácido nucleico o polipéptido para facilitar la purificación, detección, solubilidad o conferir otras características deseables a la proteína o al ácido nucleico. Por ejemplo, una marca de purificación puede ser un péptido, oligopéptido o polipéptido que se puede usar en la purificación por afinidad. Los ejemplos incluyen His, GST, TAP, FLAG, myc, HA, MBP, VSV-G, tiorredoxina, V5, avidina, estreptavidina, BCCP, Calmodulina, Nus, marcas de S, lipoproteína D, y β galactosidasa. En algunos aspectos, la parte fusionada es corta. Por lo tanto, en algunos casos, la proteína de fusión comprende no más de 1, 2, 3, 4, 5, 10, 20 o 50 aminoácidos adicionales en uno o ambos extremos de un polipéptido descrito anteriormente, tales como los aminoácidos consecutivos de cualquiera de los polipéptidos en la Tabla 1.

En algunos aspectos, se pueden añadir marcas, señales de secreción u otras secuencias de señales al extremo C-terminal y/o al extremo N-terminal del polipéptido. Las marcas se pueden usar para ayudar en la purificación de los polipéptidos expresados. Las marcas a modo de ejemplo incluyen HHHHHH (SEQ ID NO: 130) y MSYYHHHHHH (SEQ ID NO: 131). Las señales de secreción se pueden optimizar para su uso con células no mamíferas, tales como células de insectos. Una señal de secreción a modo de ejemplo es MKFLVNVALVFMVYISYIYA (SEQ ID NO: 132).

50 Para detectar la marca se puede usar una marca de detección y, en consecuencia, cualquier secuencia de aminoácidos fusionada con la misma. Las marcas de detección incluyen proteínas fluorescentes, proteínas que se unen a una marca fluorescente y proteínas que se unen a un resto con densidad electrónica. Los ejemplos de proteínas fluorescentes incluyen dsRed, mRFP, YFP, GFP, CFP, BFP, y Venus. Un ejemplo de una proteína que se une a una marca fluorescente o con densidad electrónica es FIAsH.

55 Otro aspecto que se desvela en el presente documento es una preparación de anticuerpos generada contra una composición de la invención. Se incluye cualquiera de una variedad de anticuerpos. Los anticuerpos de ese tipo incluyen, por ejemplo, policlonales, monoclonales, recombinantes, humanizados o parcialmente humanizados, de cadena simple, Fab, y fragmentos de los mismos, etc. Los anticuerpos pueden ser de cualquier isotipo, por ejemplo, IgA, IgG, varios isotipos de IgG tales como IgG₁, IgG₂, IgG_{2a}, IgG_{2b}, IgG₃, IgG₄, etc.; y pueden ser de cualquier especie animal que produzca anticuerpos, incluyendo cabra, conejo, ratón, pollo o similar. En algunos aspectos, las moléculas de Fab se expresan y ensamblan en un hospedador transformado genéticamente tal como *E. coli*. Un sistema de vector lambda está disponible para expresar de ese modo una población de Fab con una diversidad potencial igual o superior a la del sujeto que genera el anticuerpo predecesor. Véase Huse *et al.*, (1989), Science 246, 1275-81.

65

D. Componentes de vacunas y composiciones farmacéuticas

En ciertos aspectos, las vacunas y composiciones farmacéuticas comprenden uno o más de los polipéptidos y ácidos nucleicos que se han descrito anteriormente y uno o más de los siguientes: un adyuvante, estabilizante, tampón, tensioactivo, componente de liberación controlada, sal, conservante y un anticuerpo específico para dicho antígeno.

1. Adyuvantes

Cada una de las formulaciones de vacuna y composiciones farmacéuticas que se describen en el presente documento puede incluir un adyuvante. Los adyuvantes se pueden separar ampliamente en dos clases, en función de sus principales mecanismos de acción: sistemas de administración de vacunas y adyuvantes inmunoestimulantes (véase, por ejemplo, Singh *et al.*, Curr. HIV Res. 1: 309-20, 2003). Los sistemas de administración de vacunas a menudo son formulaciones de partículas, por ejemplo, emulsiones, micropartículas, complejos inmunoestimulantes (ISCOM), que pueden ser, por ejemplo, partículas y/o matrices, y liposomas. Por el contrario, los adyuvantes inmunoestimulantes en ocasiones se obtienen a partir de patógenos y pueden representar patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP), por ejemplo, lipopolisacáridos (LPS), monofosforil lípido (MPL) o ADN que contiene CpG, que activan células del sistema inmunitario innato.

Alternativamente, los adyuvantes se pueden clasificar como orgánicos e inorgánicos. Los adyuvantes inorgánicos incluyen sales de alumbre tales como fosfato de aluminio, sulfato de hidroxifosfato de aluminio amorfo e hidróxido de aluminio, que se usan comúnmente en vacunas humanas. Los adyuvantes orgánicos comprenden moléculas orgánicas que incluyen macromoléculas. Un ejemplo de un adyuvante orgánico es la toxina del cólera.

Los adyuvantes también se pueden clasificar de acuerdo con la respuesta que inducen, y los adyuvantes pueden activar más de un tipo de respuesta. En algunos aspectos, el adyuvante induce la activación de los linfocitos T CD4⁺. El adyuvante puede inducir la activación de los linfocitos T_{H1} y/o la activación de los linfocitos T_{H17} y/o la activación de los linfocitos T_{H2}. Alternativamente, el adyuvante puede inducir la activación de los linfocitos T_{H1} y/o linfocitos T_{H17} pero no la activación de los linfocitos T_{H2}, o viceversa. En algunos aspectos, el adyuvante induce la activación de los linfocitos T CD8⁺. En otros aspectos, el adyuvante induce la activación de los linfocitos Citolíticos Naturales (NKT). En algunos aspectos, el adyuvante induce la activación de los linfocitos T_{H1} o linfocitos T_{H17} o linfocitos T_{H2}. En otros aspectos, el adyuvante induce la activación de linfocitos B. Además en otros aspectos, el adyuvante induce la activación de células presentadoras de antígeno. Estas categorías no son mutuamente excluyentes; en algunos casos, un adyuvante activa más de un tipo de célula.

En ciertos aspectos, un adyuvante es una sustancia que aumenta el número o la actividad de las células presentadoras de antígenos, tales como las células dendríticas. En ciertos aspectos, un adyuvante estimula la maduración de las células presentadoras de antígenos, tales como las células dendríticas. En algunos aspectos, el adyuvante es o comprende una saponina. Por lo general, la saponina es un glicósido triterpénico, tal como los aislados a partir de la corteza del árbol *Quillaja saponaria*. Un extracto de saponina de una fuente biológica se puede fraccionar aún más (por ejemplo, mediante cromatografía) para aislar las partes del extracto con la mejor actividad adyuvante y con una toxicidad aceptable. Las fracciones habituales del extracto del árbol *Quillaja saponaria* usadas como adyuvantes se conocen como fracciones A y C. Un adyuvante de saponina a modo de ejemplo es QS-21, que está disponible en Antigenics. QS-21 es una molécula pequeña conjugada con oligosacáridos. Opcionalmente, QS-21 se puede mezclar con un lípido tal como 3D-MPL o colesterol.

Una forma particular de saponinas que se pueden usar en las formulaciones de vacuna que se describen en el presente documento son los complejos inmunoestimulantes (ISCOM). Los ISCOM son una clase de adyuvantes reconocidos en la técnica, que generalmente comprenden fracciones de y lípidos de saponina de *Quillaja* (por ejemplo, colesterol y fosfolípidos tales como fosfatidilcolina). En ciertos aspectos, un ISCOM se ensambla junto con un polipéptido o ácido nucleico de interés. Sin embargo, se pueden usar diferentes fracciones de saponina en diferentes proporciones. Además, las diferentes fracciones de saponina pueden existir juntas en las mismas partículas o pueden tener básicamente solo una fracción por partícula (de modo que la proporción indicada de las fracciones A y C se genera mezclando partículas con las diferentes fracciones). En este contexto, "básicamente" se refiere a menos de un 20 %, un 15 %, un 10 %, un 5 %, un 4 %, un 3 %, un 2 % o incluso un 1 %. Los adyuvantes de ese tipo pueden comprender la fracción A y la fracción C mezcladas en una proporción de 70-95 A: 30-5 C, tal como de 70 A : 30 C a 75 A : 25 C, de 75 A : 25 C a 80 A : 20 C, de 80 A : 20 C a 85 A : 15 C, de 85 A : 15 C a 90 A : 10 C, de 90 A : 10 C a 95 A : 5 C, o de 95 A : 5 C a 99 A : 1 C. ISCOMatrix, producido por CSL, y AbISCO 100 y 300, producidos por Isconova, son matrices de ISCOM que comprenden saponina, colesterol y fosfolípido (lípidos de las membranas celulares), que forman estructuras en forma de jaula, generalmente con un diámetro de 40 a 50 nm. Posintro, producido por Nordic Vaccines, es una matriz de ISCOM en la que el inmunógeno está unido a la partícula mediante una multitud de mecanismos diferentes, por ejemplo, interacción electrostática por modificación de carga, incorporación de grupos quelantes o unión directa.

En algunos aspectos, el adyuvante es un ligando de TLR. Los TLR son proteínas que se pueden encontrar en las membranas de los leucocitos, y reconocen antígenos extraños (incluyendo los antígenos microbianos). Un ligando

de TLR a modo de ejemplo es IC-31, que está disponible en Intercell. IC31 comprende un péptido antimicrobiano, KLK, y un oligodesoxinucleótido inmunoestimulante, ODN1a. IC31 tiene actividad agonista de TLR9. Otro ejemplo es el ADN que contiene CpG, y hay disponibilidad de diferentes variedades de ADN que contiene CpG DNA en Prizer (Coley): VaxImmune es CpG 7909 (un oligodesoxi-nucleótido que contiene (CpG)), y Actilon es agonista de TLR9, CpG 10101 (un oligodesoxi-nucleótido que contiene (CpG)).

En algunos aspectos, el adyuvante es una nanoemulsión. Un adyuvante de nanoemulsión a modo de ejemplo es la vacuna Nanostat, producida por Nanobio. Esta nanoemulsión es una emulsión de alta energía, de aceite en agua. Esta nanoemulsión generalmente tiene un tamaño de 150-400 nanómetros e incluye tensioactivos para proporcionar estabilidad. En los documentos de patente de Estados Unidos N.ºs 6.015.832, 6.506.803, 6.559.189, 6.635.676 y 7.314.624 se puede encontrar más información sobre Nanostat.

Los adyuvantes se pueden unir mediante enlace covalente a antígenos (por ejemplo, los polipéptidos que se han descrito anteriormente). En algunos aspectos, el adyuvante puede ser una proteína que induce respuestas inflamatorias a través de la activación de células presentadoras de antígeno (APC). En algunos aspectos, una o más de estas proteínas se pueden fusionar de manera recombinante con un antígeno de elección, de modo que la molécula de fusión resultante estimule la maduración de las células dendríticas, active las células dendríticas para producir citoquinas y quimioquinas, y por último, mejore la presentación del antígeno a los linfocitos T y el inicio de las respuestas de los linfocitos T (véase Wu *et al.*, Cancer Res 2005; 65 (11), pp 4947-4954). Otros adyuvantes a modo de ejemplo que se pueden unir mediante enlace covalente a antígenos comprenden polisacáridos, péptidos sintéticos, lipopéptidos y ácidos nucleicos.

El adyuvante se puede usar solo o en combinación de dos o más tipos. Los adyuvantes se pueden conjugar directamente a los antígenos. Los adyuvantes también se pueden combinar para aumentar la magnitud de la respuesta inmunitaria al antígeno. Por lo general, el mismo adyuvante o mezcla de adyuvantes está presente en cada dosis de una vacuna. Opcionalmente, sin embargo, un adyuvante se puede administrar con la primera dosis de la vacuna y no con las dosis posteriores (es decir, inyecciones de refuerzo). Alternativamente, un adyuvante fuerte se puede administrar con la primera dosis de vacuna y un adyuvante más débil o una dosis más baja del adyuvante fuerte se puede administrar con dosis posteriores. El adyuvante se puede administrar antes de la administración del antígeno, de forma simultánea con la administración del antígeno o después de la administración del antígeno a un sujeto (en ocasiones en 1, 2, 6 o 12 horas, y en ocasiones en 1, 2, o 5 días). Ciertos adyuvantes son apropiados para pacientes humanos, animales no humanos o ambos.

2. Componentes adicionales de vacunas y composiciones farmacéuticas

Además de los antígenos y los adyuvantes que se han descrito anteriormente, una formulación de vacuna o composición farmacéutica puede incluir uno o más componentes adicionales.

En ciertos aspectos, la formulación de vacuna o composición farmacéutica puede incluir uno o más estabilizantes tales como azúcares (tales como sacarosa, glucosa o fructosa), fosfato (tales como fosfato sódico dibásico, fosfato de potasio monobásico, fosfato de potasio dibásico o fosfato monosódico), glutamato (tal como L-glutamato monosódico), gelatina (tal como gelatina procesada, gelatina hidrolizada o gelatina porcina), aminoácidos (tales como arginina, asparagina, histidina, L-histidina, alanina, valina, leucina, isoleucina, serina, treonina, lisina, fenilalanina, tirosina y sus ésteres de alquilo), inosina o borato sódico.

En ciertos aspectos, la formulación de vacuna o composición farmacéutica incluye uno o más tampones tal como una mezcla de bicarbonato sódico y ácido ascórbico. En algunos aspectos, la formulación de vacuna se puede administrar en solución salina, tal como solución salina tamponada con fosfato (PBS) o agua destilada.

En ciertos aspectos, la formulación de vacuna o composición farmacéutica incluye uno o más tensioactivos tales como polisorbato 80 (Tween 80), Triton X-100, polietilenglicol terc-octilfenil éter, t-Octilfenoxipolietoxietanol 4-(1,1,3,3-Tetrametilbutil)fenil-polietilenglicol (TRITON X-100); monolaurato de polioxietilensorbitán, monolaurato de polietilenglicol sorbitán (TWEEN 20); y polímero de 4-(1,1,3,3-tetrametilbutil)fenol con formaldehído y oxirano (TYLOXAPOL). Un tensioactivo puede ser iónico o no iónico.

En ciertos aspectos, la formulación de vacuna o composición farmacéutica incluye una o más sales tales como cloruro sódico, cloruro de amonio, cloruro cálcico o cloruro potásico.

En ciertos aspectos, en la vacuna se incluye un conservante. En otros aspectos, no se usa conservante. Un conservante se usa con más frecuencia en los viales de vacunas de dosis múltiples, y con menos frecuencia se necesita en los viales de vacunas de una sola dosis. En ciertos aspectos, el conservante es 2-fenoxietanol, metil y propil parabenos, alcohol bencílico y/o ácido sórbico.

En ciertos aspectos, la formulación de vacuna o composición farmacéutica es una formulación de liberación controlada.

E. Vacunas de ADN

En ciertos aspectos, la vacuna comprende uno de los ácidos nucleicos que se desvelan en el presente documento. Cuando una vacuna de ácido nucleico se administra a un paciente, el producto génico correspondiente (tal como un antígeno deseado) se produce en el cuerpo del paciente. En algunos aspectos, los vectores de vacunas de ácido nucleico que incluyen polinucleótidos recombinantes optimizados se pueden administrar a un mamífero (incluyendo los seres humanos) para inducir una respuesta inmunitaria terapéutica o profiláctica. El ácido nucleico puede ser, por ejemplo, ADN, ARN o un ácido nucleico sintético. El ácido nucleico puede ser monocatenario o bicatenario.

Los vectores de vacuna de ácido nucleico (por ejemplo, adenovirus, liposomas, papilomavirus, retrovirus, etc.) se pueden administrar directamente al mamífero para la transducción de células *in vivo*. Las vacunas de ácido nucleico se pueden formular como composiciones farmacéuticas para la administración de cualquier manera adecuada, incluyendo la administración parenteral.

En la determinación de la cantidad eficaz del vector que se va a administrar en el tratamiento o profilaxis de una infección u otra afección, el médico evalúa las toxicidades del vector, la evolución de la enfermedad y la producción de anticuerpos antivector, si fuera el caso. A menudo, la dosis equivalente de un ácido nucleico desnudo de un vector es de aproximadamente 1 µg a 1 mg para un paciente habitual de 70 kilogramos, y las dosis de vectores usadas para administrar el ácido nucleico se calculan para producir una cantidad equivalente de ácido nucleico terapéutico. La administración se puede realizar mediante dosis individuales o divididas. La toxicidad y la eficacia terapéutica de los vectores de vacunas de ácido nucleico se pueden determinar usando procedimientos farmacéuticos convencionales en cultivos celulares o animales experimentales.

Una vacuna de ácido nucleico puede contener ADN, ARN, un ácido nucleico modificado o una combinación de los mismos. En algunos aspectos, la vacuna comprende uno o más vectores de clonación o expresión; por ejemplo, la vacuna puede comprender una pluralidad de vectores de expresión, cada uno capaz de expresión autónoma de una región codificante de nucleótidos en una célula de mamífero para producir al menos un polipéptido inmunogénico. Un vector de expresión a menudo incluye una secuencia promotora eucariótica, tal como la secuencia de nucleótidos de un promotor eucariótico fuerte, unida de forma operativa a una o más regiones codificantes. Las composiciones y métodos en el presente documento pueden implicar el uso de cualquier promotor eucariótico particular, y se conoce una amplia diversidad; tal como un promotor de CMV o RSV. El promotor puede ser, pero no necesariamente, heterólogo con respecto a la célula hospedadora. El promotor usado puede ser un promotor constitutivo.

Un vector útil en las presentes composiciones y métodos puede ser circular o lineal, monocatenario o bicatenario y puede ser un plásmido, cósmido o episoma. En un aspecto adecuado, cada región codificante de nucleótido está en un vector separado; sin embargo, se debe entender que una o más regiones codificantes pueden estar presentes en un solo vector, y estas regiones codificantes pueden estar bajo el control de uno o varios promotores.

Para la producción de vacunas de ácido nucleico se pueden usar numerosos plásmidos. Los aspectos adecuados de la vacuna de ácido nucleico emplean construcciones que usan los plásmidos VR1012 (Vical Inc., San Diego, California), pCMVI.UBF3/2 (S. Johnston, Universidad de Texas) o pcDNA3.1 (InVitrogen Corporation, Carlsbad, Calif.) como el vector. Además, la construcción del vector puede contener secuencias inmunoestimulantes (ISS), tales como los motivos dCpG no metilados, que estimulan el sistema inmunológico del animal. La vacuna de ácido nucleico también puede codificar un producto de fusión que contiene el polipéptido inmunogénico. El ADN plasmídico también se puede administrar usando bacterias atenuadas como sistema de administración, un método que es adecuado para las vacunas de ADN que se administran por vía oral. Las bacterias se transforman con un plásmido de replicación independiente, que se libera en el citoplasma de la célula hospedadora después de la muerte de la bacteria atenuada en la célula hospedadora.

Un enfoque alternativo para administrar el ácido nucleico a un animal implica el uso de un vector viral o bacteriano. Los ejemplos de vectores virales adecuados incluyen adenovirus, virus de la polio, virus de la viruela tales como alfavirus, vaccinia, viruela del canario y viruela aviar, virus del herpes, incluyendo el virus del herpes de del siluro, vector asociado a adenovirus y retrovirus. Los vectores similares a virus incluyen virosomas y partículas similares a virus. Los vectores bacterianos a modo de ejemplo incluyen formas atenuadas de *Salmonella*, *Shigella*, *Edwardsiella ictaluri*, *Yersinia ruckerii* y *Listeria monocytogenes*. En algunos aspectos, el ácido nucleico es un vector, tal como un plásmido, que es capaz de expresión autóloga de la secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido inmunogénico.

F. Uso de vacunas

Las vacunas que se describen en el presente documento se pueden usar para el tratamiento profiláctico y/o terapéutico del herpes, incluyendo el VHS-1 y en particular el VHS-2. El sujeto que recibe la vacuna puede ser un hombre o una mujer, y puede ser un niño o un adulto. En algunos aspectos, el sujeto que se va a tratar es un ser humano. En otros aspectos, el sujeto es un animal no humano.

1. Uso profiláctico

En aspectos profilácticos, la vacuna del VHS-2 se administra a un sujeto para inducir una respuesta inmunitaria que puede ayudar a proteger frente al establecimiento del VHS-2.

5 En algunos aspectos, las composiciones de vacuna de la invención confieren inmunidad protectora, permitiendo que un individuo vacunado muestre síntomas de aparición tardía o síntomas reducidos (por ejemplo, un número reducido de lesiones en el momento de la infección), como resultado de su exposición a la vacuna (por ejemplo, una respuesta de memoria). En ciertos aspectos, la reducción de la gravedad de los síntomas es de al menos un 25 %, un 40 %, un 50 %, un 60 %, un 70 %, un 80 % o incluso un 90 %. Algunos individuos vacunados pueden no mostrar síntomas al entrar en contacto con el VHS-2 o incluso sin infección por VHS-2. La inmunidad protectora
10 generalmente se consigue mediante uno o más de los siguientes mecanismos: inmunidad mucosal, humoral o celular. La inmunidad mucosal es principalmente el resultado de anticuerpos secretores de IgA (sIgA) en las superficies mucosas de las vías respiratorias, gastrointestinales y genitourinarias. Los anticuerpos sIgA se generan después de una serie de sucesos mediados por células de procesamiento de antígeno, linfocitos B y T, que dan como resultado la producción de sIgA por los linfocitos B en los tejidos del cuerpo revestidos de mucosa. La
15 inmunidad humoral generalmente es el resultado de anticuerpos IgG y anticuerpos IgM en suero. Por ejemplo, el título de IgG se puede aumentar 1,5 veces, 2 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 10 veces, 20 veces, 50 veces, o incluso 100 veces o más después de la administración de una formulación de vacuna que se describe en el presente documento. La inmunidad celular se puede conseguir a través de los linfocitos T citotóxicos o mediante la hipersensibilidad de tipo retardado que involucra a macrófagos y linfocitos T, así como a otros mecanismos que involucran a los linfocitos T sin necesidad de anticuerpos. En particular, la inmunidad celular puede estar mediada por linfocitos T_H1 o linfocitos T_H17. La activación de los linfocitos T_H1 se puede medir mediante la secreción de IFN- γ , en relación con el nivel de IFN- γ liberado como respuesta a un polipéptido que no genera una respuesta inmunológica. En ciertos aspectos, la cantidad de IFN- γ liberada es de 1,5 veces, 2 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 10 veces, 20 veces, 50 veces o incluso 100 veces mayor. El resultado principal de la inmunidad protectora es
20 la destrucción de las partículas virales del VHS-2 o la inhibición de la capacidad de replicación del VHS-2. En algunos aspectos, la inmunidad protectora conferida por la presentación del antígeno antes de la exposición al VHS-2 reducirá la probabilidad de conversión serológica a un estado positivo para el VHS-2.

30 La duración de la inmunidad protectora es preferentemente lo más larga posible. En ciertos aspectos, las formulaciones de vacuna producen inmunidad protectora que dura seis meses, un año, dos años, cinco años, diez años, veinte años o incluso toda la vida.

2. *Uso terapéutico*

35 En aplicaciones terapéuticas, la vacuna que comprende un polipéptido o ácido nucleico de la invención se puede administrar a un paciente que padece VHS-2, en una cantidad suficiente para tratar al paciente. El tratamiento del paciente, en este caso, puede hacer referencia a retrasar o reducir los síntomas del VHS-2 en una persona infectada. En algunos aspectos, el tratamiento del paciente se refiere a la reducción de la duración de las lesiones, la reducción del número de lesiones, la reducción de la duración de los síntomas por episodio y/o de otro modo la
40 reducción de la intensidad de los síntomas por episodio. En ciertos aspectos, la vacuna reduce la duración o gravedad de los síntomas leves; en algunos aspectos, la vacuna reduce la duración o la gravedad de los síntomas graves. En algunos aspectos, la vacuna reduce la efusión viral y, por lo tanto, la capacidad de transmisión del VHS-2 del paciente vacunado. En ciertos aspectos, las reducciones que se han descrito anteriormente son al menos un 25 %, un 30 %, un 40 %, un 50 %, un 60 %, un 70 %, un 80 % o incluso un 90 %. En ciertos aspectos, las reducciones que se han descrito anteriormente incluyen el cese completo de los síntomas, la efusión viral y/o los brotes futuros (por ejemplo, al bloquear la capacidad del virus para establecer la latencia en los ganglios sensoriales).

50 En aspectos terapéuticos, la vacuna del VHS-2 se administra para una infección posterior individual. La vacuna del VHS-2 se puede administrar poco después de la infección, por ejemplo, antes de que se manifiesten los síntomas, o se puede administrar durante o después de la manifestación de los síntomas. En algunos aspectos, el VHS-2 puede prevenir la reactivación endógena de una infección temprana. En algunos aspectos, una vacuna posterior a la infección se podría administrar a pacientes en grupos de alto riesgo.

55 La duración de los efectos terapéuticos de una formulación de vacuna que se desvela en el presente documento es preferentemente lo más larga posible. En ciertos aspectos, las formulaciones de vacuna producen efectos terapéuticos que duran un mes, dos meses, tres meses, seis meses, un año, dos años, cinco años, diez años, veinte años o incluso toda la vida.

60 3. *Ensayo de la eficacia de la vacunación*

La eficacia de la vacunación con las vacunas que se desvelan en el presente documento se puede determinar de varias maneras.

65 La eficacia de la vacuna se puede evaluar en varios sistemas modelo. Los sistemas modelo adecuados usados para estudiar el VHS-2 incluyen un modelo de cobaya y un modelo de ratón, como se describe en los ejemplos que

siguen a continuación. En resumen, los animales se vacunan y a continuación se estimulan con VHS-2 o la vacuna se administra a animales ya infectados. A continuación la respuesta de los animales a la estimulación con VHS-2 o la vacuna se compara con los animales de control, usando una de las medidas que se han descrito anteriormente. Un ensayo similar se podría usar para ensayos clínicos en seres humanos. El tratamiento y los efectos profilácticos que se han descrito anteriormente representan formas adicionales para determinar la eficacia de una vacuna.

Además, la eficacia se puede evaluar mediante la inmunización *in vitro* de células mononucleares de sangre periférica humana (PBMC) sin tratamiento previo, en la que las APC se exponen a la vacuna y a continuación las APC se cultivan de forma conjunta con linfocitos T sin tratamiento previo del mismo donante para evaluar la respuesta primaria a la inmunización en un tubo de ensayo. Una activación de los linfocitos T de 1,5 veces, 2 veces, 5 veces, 10 veces, 20 veces, 50 veces o 100 veces o más en relación con la activación de los linfocitos T usando las APC no expuestas a una vacuna, en ciertos aspectos, se considera una respuesta adecuada.

La eficacia de la vacuna se puede determinar además mediante ensayos de neutralización viral. En resumen, los animales se inmunizan y el suero se recoge varios días después de la inmunización. Las diluciones en serie del suero se incuban previamente con el virus tiempo durante el cual los anticuerpos en el suero que son específicos para el virus se unirán al mismo. A continuación la mezcla de virus/suero se añade a las células permisivas para determinar la capacidad de infección mediante un ensayo en placa. Si los anticuerpos en el suero neutralizan el virus, hay menos placas en comparación con el grupo de control.

G. Usos de las composiciones farmacéuticas

1. Defensa frente a la infección por VHS

Las composiciones farmacéuticas de la presente divulgación se diseñan para provocar una respuesta inmunitaria frente al VHS-2. Las composiciones que se describen en el presente documento pueden estimular una respuesta inmunitaria innata, una respuesta a anticuerpos o una respuesta inmunitaria mediada por células, o una combinación de estas respuestas, en el sujeto al que se le administra. En algunos aspectos, la composición estimula las células inmunes en el sitio periférico de la infección o los ganglios sensoriales, tales como neutrófilos, macrófagos y linfocitos NK. La composición puede estimular la infiltración por macrófagos; producción de compuestos antivirales, tales como óxido nítrico, TNF- α , interferones (IFN) e interleuquina 12 (IL-12) por neutrófilos; y/o estimulación de linfocitos NK para producir IFN- γ . La producción de IL-2, IFN- α e IFN- β también puede ser activada por los polipéptidos de la presente composición, y se cree que ayudan a controlar la infección.

En algunos aspectos, la composición comprende antígenos que estimulan la producción de anticuerpos neutralizantes. Los anticuerpos neutralizantes se pueden dirigir a las glicoproteínas de la envoltura viral, que median la interacción de los viriones con la célula hospedadora y son responsables de la adhesión, unión y entrada del VHS-2 en las células. Por lo tanto, una composición a modo de ejemplo comprende una o más glicoproteínas y se han descrito anteriormente o codificadas por ácidos nucleicos que se han descrito anteriormente. Los antígenos y/o los epítopos inmunogénicos como se describen en el presente documento se pueden administrar por separado, en serie o en combinación entre sí.

En algunos aspectos, la composición provoca una respuesta mediada por células, que puede implicar a linfocitos T CD4⁺, linfocitos T CD8⁺ y/o la producción de citoquinas antivirales. La composición puede desencadenar la secreción de IFN- γ , por ejemplo, a través de la activación de la respuesta inmunitaria innata, y puede mediar la eliminación de linfocitos T CD8⁺ del virus. El IFN- γ también es secretado por los linfocitos T_H1, (linfocitos T_H17?) linfocitos T_c, células dendríticas, y linfocitos NK, y la composición puede desencadenar la secreción de IFN- γ por cualquiera de estos tipos de células. Una actividad de los linfocitos T CD8⁺ de ese tipo puede ser citolítica o, alternativamente, puede estar regulada por moléculas inhibitorias en la superficie de las neuronas que evitan la muerte neuronal. Los linfocitos T CD4⁺ y/o CD8⁺ pueden desempeñar un papel en el mantenimiento de la latencia del virus, evitando de ese modo la reactivación. En algunos aspectos, la composición aumenta la respuesta de los linfocitos T CD4⁺ y/o una respuesta de los linfocitos T CD8⁺ que evita la reactivación del virus de su estado latente.

En algunos aspectos, la composición bloquea la capacidad del VHS para evadir la respuesta inmunitaria del hospedador o, alternativamente, aumenta la respuesta inmunitaria normalmente evadida por VHS. En algunos aspectos, la composición inhibe al VHS-2 del desplazamiento del equilibrio inmunológico hacia la tolerancia de los antígenos del VHS. El VHS-2 puede mediar tolerancia a través de los linfocitos T_H2. En primer lugar, el VHS-2 puede inducir linfocitos T supresores, tales como linfocitos CD4⁺ CD25⁺ y linfocitos Tr1 que secretan IL-10, una citoquina T_H2. Las citoquinas T_H2 regulan de forma negativa las moléculas coestimuladoras e inhiben la maduración y función de las células dendríticas presentadoras de antígeno. Además, la infección con el VHS-2 inhibe la maduración y migración de las células dendríticas, que son esenciales para un cebado eficaz de CTL. En particular, las citoquinas T_H2 se producen durante la recurrencia de la infección por VHS-2, a diferencia de las citoquinas T_H1, que se producen durante los episodios libres de recurrencia. Por lo tanto, en ciertos aspectos, las composiciones de la invención controlan a los linfocitos T supresores y/o inducen la maduración o migración o ambas de las células dendríticas.

- En algunos aspectos, los métodos para inducir una respuesta inmunitaria frente al VHS-2 en un mamífero incluyen la administración de las composiciones que se han descrito anteriormente. La composición se puede usar para inducir una respuesta inmunitaria en diferentes momentos, tal como antes de la exposición al VHS-2, después de la infección inicial con el VHS-2, antes o después de que el VHS-2 haya establecido la latencia, antes o después de que se produzca la efusión del VHS-2 y/o antes o después de que se produzcan brotes recurrentes. En algunos aspectos, una respuesta inmunitaria contra el VHS-2 se puede inducir en uno o más de los momentos mencionados anteriormente. La composición puede inducir una respuesta a T_H1 y/o una respuesta a T_H17 pero no una respuesta a T_H2, o puede activar las respuestas al mismo tiempo o en momentos diferentes.
- En algunos aspectos, la administración de la composición reduce los síntomas asociados con la infección inicial, la latencia o la infección recurrente con el VHS. Una composición de ese tipo puede reducir la incidencia y/o la gravedad de las lesiones, llagas, dolor, irritación, picor, fiebre, malestar general, dolor de cabeza, efusión viral, o pródromos asociados con la infección o brote del VHS.
- En algunos aspectos, se pueden administrar uno o más anticuerpos frente a antígenos del VHS-2 a individuos para producir inmunidad pasiva. La inmunidad pasiva resulta de la transferencia de inmunidad humoral activa en forma de anticuerpos preparados, de un individuo a otro. La inmunización pasiva se puede usar cuando existe un alto riesgo de infección y tiempo insuficiente para que el cuerpo desarrolle su propia respuesta inmunitaria, o para reducir los síntomas de enfermedades continuas o inmunosupresoras. La transferencia adoptiva de los linfocitos T puede proporcionar otro método para provocar una respuesta inmunitaria a los antígenos del VHS-2 en pacientes. En un aspecto, los linfocitos T autólogos se pueden expandir en las APC que presentan los antígenos obtenidos a partir de los polipéptidos que se han descrito anteriormente. Posteriormente, los linfocitos T específicos del VHS-2 expandidos se transfieren de nuevo al paciente a partir del cual se obtuvieron los linfocitos T.

25 **2. Usos para diagnóstico**

La presente solicitud describe, entre otros, un método rápido, económico, sensible y específico para la detección del VHS-2 en pacientes. En este sentido, debería ser útil para los hospitales y médicos que examinan y tratan a pacientes con o en riesgo de infección por VHS-2. Como se usa en el presente documento, "paciente" se refiere a un individuo (tal como un ser humano) que tiene una infección por VHS-2 o que tiene el potencial de contraer una infección por VHS-2.

En algunos aspectos, se puede usar un anticuerpo frente a uno de los polipéptidos que se describen en el presente documento, tales como los de la Tabla 1 y/o la Tabla 2, para detectar el VHS-2 en un individuo. La presente divulgación también describe un método de fenotipado de muestras biológicas de pacientes sospechosos de tener una infección por VHS-2 que implica: (a) hacer que una muestra biológica sea susceptible de inmunoensayo, si fuera necesario; (b) poner en contacto la muestra con un anticuerpo específico para el VHS-2 apropiado o una parte de unión a antígeno del mismo en condiciones que permitan la unión del anticuerpo o la parte de unión a antígeno a un epítipo del VHS-2; y (c) determinar si la muestra proporciona la presencia del VHS-2 en comparación con un tejido de control; en el que si el tejido de ensayo muestra la presencia del VHS-2, se identifica al paciente como con probabilidad de tener una infección por VHS-2.

Alternativamente, se pueden usar los polipéptidos que se han descrito anteriormente para detectar anticuerpos anti-VHS-2 en un individuo. La presente divulgación también describe un método de fenotipado de muestras biológicas de pacientes sospechosos de tener una infección por VHS-2 implica: (a) hacer que una muestra biológica sea susceptible de un ensayo de afinidad tal como ELISA, si fuera necesario; (b) poner en contacto la muestra con un antígeno específico del VHS-2 o una parte del mismo en condiciones que permitan la unión del antígeno a cualquier anticuerpo hospedador presente en la muestra; y (c) determinar si la muestra proporciona la presencia del VHS-2 en comparación con un tejido de control; en el que si el tejido de ensayo muestra la presencia del VHS-2, se identifica al paciente como con probabilidad de tener una infección por VHS-2. El ensayo que se ha mencionado anteriormente se puede ajustar de manera adecuada para detectar otras infecciones virales, por ejemplo, usando un homólogo (de otra especie viral) de las proteínas que se han descrito anteriormente, tal como en la Tabla 1 y/o la Tabla 2.

En la técnica se conocen varios métodos para medir la unión de antígeno-anticuerpo, que incluyen ELISA (ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas), transferencia de Western, ensayo de competición y transferencia puntual. La etapa de detección puede ser, por ejemplo, quimioluminiscente, fluorescente o colorimétrica. Un método adecuado para medir la unión de anticuerpo-proteína es el sistema xMAP de Luminex, en el que los péptidos se conjugan a una microesfera que contiene un colorante. Ciertos sistemas, incluyendo el sistema xMAP, son susceptibles de medir varios marcadores diferentes de forma multiplexada, y se podrían usar para medir los niveles de anticuerpos de una vez. En algunos aspectos, otros sistemas se usan para someter a ensayo una pluralidad de marcadores de forma multiplexada. Por ejemplo, la formación de perfiles se puede realizar usando cualquiera de los siguientes sistemas: micromatrices de antígeno, micromatrices de perlas, tecnología de partículas de nanocódigo de barras, proteínas en matrices a partir de bibliotecas de expresión de ADNc, matriz de proteínas *in situ*, matrices de proteínas de transformantes vivos, matriz de proteínas universal, técnica de microfluidos de laboratorio en un chip, y péptidos sobre fijación. Otro tipo de ensayo clínico es un ensayo quimioluminiscente para detectar la unión del anticuerpo. En algunos de estos ensayos, incluyendo el ensayo VITROS Eci anti-VHC, los anticuerpos se unen a un soporte en fase

sólida formado por micropartículas en suspensión líquida, y se usa un fluorómetro de superficie para cuantificar la generación enzimática de un producto fluorescente.

5 En otros aspectos, los polipéptidos que se han descrito anteriormente, tales como los de la Tabla 1 y/o Tabla 2, se pueden usar para detectar linfocitos T que son específicos del VHS-2. La presente divulgación describe un método de fenotipado de muestras biológicas de pacientes sospechosos de tener una infección por VHS-2, que implica (a) hacer que una muestra biológica sea susceptible de un ensayo para la activación de linfocitos T, si fuera necesario, (b) poner en contacto la muestra con un polipéptido específico del VHS-2 o una parte del mismo en condiciones que permitan que las APC procesen el polipéptido, y (c) determinar la activación de los linfocitos T como respuesta al polipéptido específico del VHS-2, en el que una activación de los linfocitos T elevada con respecto a un las no infectado indica infección por VHS-2. Este ensayo de diagnóstico pretende detectar la presencia de linfocitos T específicos para el VHS-2 en cualquier paciente, incluyendo los pacientes que han estado expuestos al VHS-2 pero que no se han seroconvertido para producir niveles detectables de anticuerpos anti-VHS-2.

15 La activación de los linfocitos T se puede medir usando muchos ensayos, incluyendo ELISA específico de citoquinas, proliferación celular medida por la incorporación de timidina tritiada o intercolación de membrana (PKH-67) o colorantes citoplasmáticos (CFSE), ELISPOT, citometría de flujo y matrices de perlas. Además, la respuesta de los linfocitos T se puede medir en líneas de linfocitos T o en hibridomas de linfocitos T de ratones o seres humanos que son específicos para los antígenos. Las lecturas de los linfocitos T activados incluyen proliferación, producción de citoquinas o lectura de una enzima sustituta expresada por el hibridoma que se induce cuando el hibridoma de los linfocitos T o linfocitos T se activa como respuesta a un antígeno. Por ejemplo, la activación de una respuesta de los linfocitos T se puede detectar por un hibridoma de los linfocitos T que se diseña para producir β -galactosidasa. La β -galactosidasa se puede detectar mediante el uso de sustratos colorimétricos de β -galactosidasa tales como clorofenil rojo β -D galactopiranosido (CPRG).

25 La infección con el VHS-2 puede ser aguda o latente. En algunos aspectos, si la muestra biológica muestra la presencia del VHS-2, se puede administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de las composiciones y terapias que se describen en el presente documento al paciente. La muestra biológica puede comprender, por ejemplo, sangre, semen, orina, fluido vaginal, moco, saliva, heces, orina, líquido cefalorraquídeo o una muestra de tejido. En algunos aspectos, la muestra biológica es un órgano destinado a trasplante. En ciertos aspectos, antes de la etapa de detección, la muestra biológica se somete a condiciones de cultivo que estimulan el crecimiento del VHS-2.

35 En el presente documento los ensayos de diagnóstico se pueden usar para detectar el VHS-2 en una variedad de muestras, incluyendo muestras tomadas a partir de pacientes y muestras obtenidas a partir de otras fuentes. Por ejemplo, los ensayos de diagnóstico se pueden usar para detectar el VHS-2 en objetos tales como instrumentos médicos. En algunos aspectos, en el presente documento los ensayos se pueden realizar en muestras tomadas a partir de animales tales como animales de granja (vacas, cerdos, gallinas, cabras, caballos y similares), animales de compañía (perros, gatos, aves y similares) o animales salvajes. En ciertos aspectos, en el presente documento los ensayos se pueden realizar en muestras tomadas a partir de cultivos celulares tales como cultivos de células humanas que producen una proteína terapéutica, cultivos de bacterias destinados a producir una molécula biológica útil o cultivos de células cultivadas con fines de investigación.

45 En el presente documento también se describe un método para determinar la ubicación de una infección por VHS-2 en un paciente que comprende: (a) administrar al paciente una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo VHS-2 marcado o una parte de unión a antígeno del mismo, (b) detectar la marca y (c) determinar si el paciente tiene el VHS-2 en comparación con un control. En ciertos aspectos, el método comprende además, si el paciente tiene una infección por VHS-2, administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que se describe en el presente documento. El método puede comprender además determinar los tipos de células infectadas y/o el volumen de VHS-2 en el paciente. Este método se puede usar para evaluar la propagación del VHS-2 en el paciente y determinar si una terapia localizada es apropiada.

55 En algunos aspectos, los polipéptidos que se describen en el presente documento se pueden usar para hacer un pronóstico del transcurso de la infección. En algunos aspectos, las respuestas de los linfocitos T o anticuerpos específicas para los polipéptidos en el presente documento se pueden detectar en una muestra tomada de un paciente. Si los anticuerpos o los linfocitos T están presentes en niveles normales, esto podría indicar que el paciente ha presentado una respuesta inmunitaria eficaz frente al patógeno. Si los anticuerpos o los linfocitos T están ausentes, o están presentes en niveles reducidos, esto podría indicar que el paciente no está consiguiendo una respuesta suficiente frente al patógeno, y se podría recomendar un tratamiento más agresivo. En algunos aspectos, el anticuerpo o los linfocitos T presentes a niveles reducidos se refieren a las respuestas que están presentes en menos de un 50 %, un 20 %, un 10 %, un 5 %, un 2 %, o un 1 % del nivel habitual en un paciente con una respuesta inmunitaria protectora. Las respuestas de los linfocitos T se pueden detectar mediante métodos conocidos en la técnica, tales como proliferación de linfocitos T, ELISPOT o ELISA, y los anticuerpos se pueden detectar por afinidad para cualquiera de los antígenos que se describen en el presente documento, usando métodos conocidos en la técnica, como ELISA.

65 En algunos aspectos, la detección de los linfocitos T específicas para antígenos del VHS-2 se puede usar para

predecir el progreso y los síntomas de la infección por VHS-2 en un paciente. Después de la infección con el VHS-2, algunos pacientes permanecen asintomáticos, aunque el virus puede establecer la latencia. Otros pacientes presentan síntomas de infección por VHS-2 y pueden experimentar brotes recurrentes. Los antígenos del VHS-2 encontrados en pacientes asintomáticos pueden diferir de los antígenos encontrados en pacientes que presentan síntomas y/o brotes recurrentes. Por lo tanto, los métodos de detección que se describen en el presente documento se pueden usar para distinguir entre subgrupos dentro de la población de pacientes infectados con el VHS-2. Los subgrupos además se pueden dividir en pacientes que experimentan brotes frecuentes y aquellos que, con poca frecuencia o nunca, experimentan brotes, o pacientes que presentan niveles elevados de virus y aquellos que presentan niveles bajos o no lo hacen. La clasificación de los pacientes, en función de la presencia y los niveles de las respuestas de los linfocitos T a ciertos antígenos del VHS-2 pero no a otros, puede ayudar a los profesionales de la salud a determinar los regímenes de tratamiento adecuados. De manera similar, las diferencias en la magnitud de las respuestas de los linfocitos T y/o las diferencias en la combinación y los niveles de citoquinas producidas por los linfocitos T también se pueden usar para predecir el progreso y los síntomas de la infección por VHS-2 en un paciente. Por lo tanto, un paciente infectado cuyo complemento de antígenos del VHS-2 a los que responden los linfocitos T predice síntomas graves, brotes frecuentes, y/o niveles elevados de efusión viral puede requerir una terapia antiviral más intensiva y/o un curso más prolongado de tratamiento terapéutico que un paciente cuyo complemento de antígenos del VHS-2 predice una infección asintomática.

Alguien con experiencia en la materia entenderá que los métodos en el presente documento no se limitan a la detección del VHS-2. Otros aspectos incluyen la detección de virus relacionados que incluyen virus con proteínas homólogas a las proteínas que se han descrito anteriormente, tales como las de la Tabla 1 y/o la Tabla 2. Los virus relacionados de ese tipo incluyen, por ejemplo, otros miembros de la familia *Herpesviridae*. Dependiendo de la homología, estos virus relacionados también pueden incluir virus que no son miembros de la familia *Herpesviridae*.

3. Uso en grupos con un aumento del riesgo de infección por VHS-2

Esencialmente, cualquier individuo tiene un cierto riesgo de infección con el VHS-2. Sin embargo, ciertas subpoblaciones tienen un mayor riesgo de infección. En algunos aspectos, los pacientes que reciben la composición para el VHS-2 están inmunocomprometidos.

Es probable que una condición inmunocomprometida que surge a partir de un tratamiento médico exponga al individuo en cuestión a un mayor riesgo de infección. Es posible tratar una infección de manera profiláctica en un individuo que tenga la condición inmunocomprometida antes o durante los tratamientos que se sabe que generan dicha condición. Al tratar de manera profiláctica con el antígeno antes o durante un tratamiento que se sabe que genera tal condición, es posible prevenir una infección posterior o reducir el riesgo de que el individuo contraiga una infección debido a la condición inmunocomprometida. Si el individuo contrae una infección, por ejemplo, después de un tratamiento que conduce a una condición inmunocomprometida, también es posible tratar la infección administrando al individuo una composición de antígeno.

En ciertos aspectos, las composiciones se administran a niños o pacientes adultos. En otros aspectos, las composiciones son apropiadas para mujeres embarazadas que se infectaron antes de quedar embarazadas, o que se infectaron durante el embarazo, tal como para inhibir la infección de un feto o un bebé. Las composiciones también se pueden administrar a neonatos y bebés que se infectaron en el útero o durante el parto.

H. Dosis y vías de administración

1. Cantidades y tiempo de dosificación

La cantidad de antígeno en cada dosis de vacuna se selecciona como una cantidad eficaz, que induce una respuesta profiláctica o terapéutica, como se adscrito anteriormente, ya sea en una dosis única o en dosis múltiples. Preferentemente, la dosis no tiene efectos secundarios adversos significativos en los vacunados habituales. Una cantidad de ese tipo variará dependiendo de qué antígeno específico se emplee. En general, se espera que una dosis comprenda 1-1000 µg de proteína, en algunos casos 2-100 µg, por ejemplo 4-40 µg. Una cantidad óptima para una vacuna en particular se puede determinar mediante estudios convencionales que incluyan la observación de títulos de anticuerpos, niveles de activación de linfocitos T y otras respuestas en sujetos. En algunos aspectos, la cantidad adecuada de antígeno que se administrará dependerá de la edad, el peso y la salud (por ejemplo, el estado inmunocomprometido) de un sujeto. Cuando está presente, un adyuvante generalmente estará presente en cantidades de 1 µg - 250 µg por dosis, por ejemplo 50-150 µg, 75-125 µg o 100 µg.

En algunos aspectos, solo se administra una dosis de la vacuna para conseguir los resultados que se han descrito anteriormente. En otros aspectos, después de una vacunación inicial, los sujetos reciben una o más vacunaciones de refuerzo, para un total de dos, tres, cuatro o cinco vacunaciones. De forma ventajosa, el número es tres o menos. Una vacunación de refuerzo se puede administrar, por ejemplo, aproximadamente 1 mes, 2 meses, 4 meses, 6 meses o 12 meses después de la vacunación inicial, de manera que un régimen de vacunación implica la administración a los 0, 0.5-2 y 4-8 meses. Puede ser ventajoso administrar dosis divididas de vacunas que se pueden administrar por la misma o por diferentes vías.

Las composiciones farmacéuticas que se describen en el presente documento pueden adquirir una variedad de formas de dosificación. En ciertos aspectos, la composición se proporciona en forma sólida o en polvo (por ejemplo, liofilizada); también se puede proporcionar en forma de solución. En ciertos aspectos, se proporciona una forma de dosificación tal como una dosis de composición liofilizada y al menos un recipiente para el diluyente estéril separado.

En algunos aspectos, el antígeno se administra a un paciente en una cantidad de 1 μ mol por dosis. En algunos aspectos, el antígeno se administra en una dosis que varía de 10 nmol a 100 nmol por dosis. El experto en la materia puede determinar la cantidad apropiada de antígeno que se administrará. En algunos aspectos, la cantidad adecuada de antígeno que se administrará dependerá de la edad, el peso y la salud (por ejemplo, estado inmunocomprometido) de un sujeto.

Las composiciones farmacéuticas que se desvelan en el presente documento se administran (en algunos aspectos) en cantidades suficientes para provocar la producción de anticuerpos como parte de una respuesta inmunogénica. En algunos aspectos, la composición se puede formular para que contenga 5 mcg/0,5 ml o una cantidad que oscila entre 10 mcg/1 ml y 200 mcg/1 ml de un antígeno. En otros aspectos, la composición puede comprender una combinación de antígenos. La pluralidad de antígenos puede ser cada uno de la misma concentración, o pueden ser concentraciones diferentes.

En algunos aspectos, la composición se administrará de manera escalonada de la dosis, de modo que las administraciones sucesivas de la composición contengan una mayor concentración de composición que las administraciones anteriores. En algunos aspectos, la composición se administrará de un modo tal que las administraciones sucesivas de la composición contengan una concentración de composición más baja que las administraciones anteriores.

En aplicaciones terapéuticas, las composiciones se administran a un paciente que padece una enfermedad en una cantidad suficiente para curar o al menos detener parcialmente la enfermedad y sus complicaciones.

Las aplicaciones terapéuticas de una composición que se describe en el presente documento incluyen reducir la capacidad de transmisión, disminuir la progresión de la enfermedad, reducir la efusión viral o eliminar infecciones recurrentes en pacientes que han sido infectados con el VHS-2, tal como en un 90 %, un 80 %, un 70 %, un 60 %, un 50 %, un 40 %, un 30 %, un 20 % o un 10 % de los niveles en los que se podrían producir en individuos que no son tratados con la composición. La composición también puede reducir la cantidad de VHS-2 presentada por individuos infectados, inhibir la expresión de proteínas requeridas para la reactivación del VHS-2 desde la etapa latente en pacientes infectados, y/o inhibir la replicación del VHS-2 en neuronas de pacientes infectados, tal como en un 90 %, un 80 %, un 70 %, un 60 %, un 50 %, un 40 %, un 30 %, un 20 % o un 10 % de los niveles en los que se podrían producir en individuos que no fueron tratados con la composición.

En aspectos profilácticos, las composiciones se administran a un ser humano u otro mamífero para inducir una respuesta inmunitaria que puede inhibir el establecimiento de una enfermedad infecciosa u otra afección. En algunos aspectos, una composición puede bloquear parcialmente que el virus establezca la latencia o reducir la eficacia con la que se establece la latencia.

En algunos aspectos, solo se proporciona una dosis (administración) de la composición. En otros aspectos, la composición se administra en dosis múltiples. En varios aspectos, la composición se administra una vez, dos veces, tres veces o más de tres veces. El número de dosis administradas a un sujeto depende del antígeno, la extensión de la enfermedad o la exposición esperada a la enfermedad, y la respuesta de un sujeto a la composición.

En algunos aspectos, las composiciones se administran en combinación con moléculas antimicrobianas. Las moléculas antimicrobianas pueden incluir moléculas antivirales. En la actualidad se conocen muchas moléculas antivirales en la técnica, y se dirigen a una o más etapas del ciclo de vida viral, incluyendo la unión viral a las células hospedadoras, la liberación de genes virales y/o enzimas en la célula hospedadora, la replicación de componentes virales usando la maquinaria de la célula hospedadora, ensamblaje de componentes virales en partículas virales completas y liberación de partículas virales para infectar nuevos hospedadores.

2. Vías de administración

La formulación de vacunas y composiciones farmacéuticas en el presente documento se pueden administrar mediante administración a un individuo, generalmente mediante administración sistémica (por ejemplo, las vías intravenosa, intraperitoneal, intramuscular, intradérmica, subcutánea, transdérmica, subdérmica, intracraneal, intranasal, mucosal, anal, vaginal, oral, sublingual, bucal o se pueden inhalar) o se pueden administrar mediante aplicación tópica.

En algunos aspectos, la composición se puede administrar directamente a los sitios probables de infección. En pacientes de sexo femenino, la composición se puede aplicar por vía tópica a membranas mucosas, o se puede administrar por vía vaginal o rectal usando dispositivos y métodos conocidos en la técnica. Las vías de

administración vaginal y rectal permiten la administración prolongada, continua o pulsada de las dosis de la composición, y se pueden administrar antes o después de la exposición al VHS, dependiendo del uso de una composición profiláctica o terapéutica. En pacientes de sexo masculino, la composición se puede aplicar por vía tópica a la piel o membranas mucosas, o se puede administrar por vía rectal. En ambas poblaciones de pacientes, la composición también se puede dirigir a los ganglios sensoriales.

Una vacuna o composición farmacéutica para el VHS-2 se administra a menudo por vía intramuscular. Generalmente, en esta vía, la vacuna se inyecta en una zona accesible del tejido muscular. Las inyecciones intramusculares se administran, en algunos aspectos, en los músculos deltoides, vasto lateral, ventrogluteal o dorsogluteal. Generalmente la inyección se administra con un ángulo de aproximadamente 90° con respecto a la superficie de la piel, por lo que la vacuna penetra en el músculo.

Una vacuna para el VHS-2 también se puede administrar por vía subcutánea. Generalmente la inyección se administra con un ángulo de 45° con respecto a la superficie de la piel, por lo que la vacuna se administra al tejido subcutáneo y no al músculo.

En algunos aspectos, la vacuna para el VHS-2 se administra por vía intradérmica. La administración intradérmica es similar a la administración subcutánea, pero la inyección no es tan profunda y la capa diana de la piel es la dermis. Generalmente la inyección se administra con un ángulo de 10-15° con respecto a la superficie de la piel, por lo que la vacuna se administra justo debajo de la epidermis.

3. Formulaciones

La formulación de vacuna puede ser adecuada para la administración a un paciente humano, y la preparación de la vacuna puede cumplir con las pautas de la USFDA. En algunos aspectos, la formulación de vacuna es adecuada para la administración a un animal no humano. En algunos aspectos, la vacuna está esencialmente exenta de endotoxinas o exotoxinas. Las endotoxinas incluyen pirógenos, tales como moléculas de lipopolisacáridos (LPS). La vacuna también puede estar esencialmente exenta de fragmentos de proteínas inactivas. En algunos aspectos, la vacuna tiene niveles más bajos de pirógenos que el agua industrial, el agua del grifo o el agua destilada. Otros componentes de la vacuna se pueden purificar usando métodos conocidos en la técnica, tales como cromatografía de intercambio iónico, ultrafiltración o destilación. En otros aspectos, los pirógenos se pueden inactivar o destruir antes de su administración a un paciente. Las materias primas para las vacunas, tales como agua, tampones, sales y otros productos químicos también se pueden identificar sistemáticamente y despirogenar. Todos los materiales de la vacuna pueden ser estériles, y cada lote de la vacuna se puede someter a ensayo para determinar su esterilidad. Por lo tanto, en ciertos aspectos, los niveles de endotoxinas en la vacuna disminuyen por debajo de los niveles establecidos por la USFDA, por ejemplo 0,2 endotoxinas (UE)/kg de producto para una composición inyectable intratecal; 5 EU/kg de producto para una composición inyectable no intratecal, y 0,25-0,5 EU/ml para agua estéril.

En algunos aspectos, la vacuna que comprende un polipéptido contiene menos de un 5 %, un 2 %, un 1 %, un 0,5 %, un 0,2 %, un 0,1 % de otros no polipéptidos, no deseados, con respecto a la cantidad de polipéptidos deseados. En algunos aspectos, la vacuna contiene menos de un 5 %, menos de un 2 %, menos de un 1 %, menos de un 0,5 %, menos de un 0,2 %, o menos de un 0,1 % de ADN y/o ARN.

Es preferente que la vacuna tenga una toxicidad baja o nula, dentro de una proporción de riesgo/beneficio razonable.

Las formulaciones adecuadas para la introducción de la composición farmacéutica varían de acuerdo con la vía de administración. Las formulaciones adecuadas para administración parenteral, tales como, por ejemplo, por vía intraarticular (en las articulaciones), intravenosa, intramuscular, intradérmica, intraperitoneal, intranasal y subcutánea, incluyen soluciones de inyección estériles isotónicas, acuosas y no acuosas, que pueden contener antioxidantes, tampones, agentes bacteriostáticos y solutos que hacen que la formulación sea isotónica con la sangre del receptor deseado, y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión, solubilizantes, agentes espesantes, estabilizantes y conservantes. Las formulaciones se pueden presentar en recipientes sellados de dosis unitarias o de dosis múltiples, tales como ampollas y viales.

Las soluciones y suspensiones de inyección se pueden preparar a partir de polvos, gránulos y comprimidos estériles del tipo que se ha descrito anteriormente. Las células transducidas por el ácido nucleico empaquetado también se pueden administrar por vía intravenosa o parenteral.

Las formulaciones adecuadas para administración oral pueden consistir en (a) soluciones líquidas, tales como una cantidad eficaz de los polipéptidos o ácidos nucleicos empaquetados suspendidos en diluyentes, tales como agua, solución salina o PEG 400; (b) cápsulas, sobrecitos o comprimidos, conteniendo cada uno de los cuales una cantidad determinada previamente del principio activo, tales como líquidos, sólidos, gránulos o gelatina; (c) suspensiones en un líquido apropiado; y (d) emulsiones adecuadas. Las formas del comprimido pueden incluir uno o más de lactosa, sacarosa, manitol, sorbitol, fosfatos de calcio, almidón de maíz, almidón de patata, tragacanto, celulosa microcristalina, goma arábica, gelatina, dióxido de silicio coloidal, croscarmelosa sódica, talco, estearato de magnesio, ácido esteárico y otros excipientes, colorantes, cargas, aglutinantes, diluyentes, agentes de

taponamiento, agentes humectantes, conservantes, agentes aromatizantes, colorantes, agentes desintegrantes y vehículos farmacéuticamente compatibles. Las formas de pastillas para chupar pueden comprender el principio activo en un sabor, normalmente sacarosa y goma arábiga o tragacanto, así como las pastillas que comprenden el principio activo en una base inerte, tal como gelatina y glicerina o sacarosa y emulsiones de goma arábiga, geles y similares que contienen, además del principio activo, vehículos conocidos en la técnica. Las composiciones farmacéuticas se pueden encapsular, por ejemplo, en liposomas, o en una formulación que proporciona una liberación lenta del principio activo.

Los antígenos, solos o en combinación con otros componentes adecuados, se pueden preparar en formulaciones de aerosol (por ejemplo, se pueden "nebulizar") para su administración mediante inhalación. Las formulaciones de aerosol se pueden colocar en agentes propulsores aceptables a presión, tales como diclorodifluorometano, propano, nitrógeno y similares.

Las formulaciones adecuadas para administración vaginal o rectal incluyen, por ejemplo, supositorios, que consisten en los polipéptidos o ácidos nucleicos empaquetados con una base de supositorio. Las bases de supositorio adecuadas incluyen triglicéridos naturales o sintéticos o hidrocarburos de parafina. Además, también es posible usar cápsulas rectales de gelatina que consisten en una combinación de los polipéptidos o ácidos nucleicos empaquetados con una base, incluyendo, por ejemplo, triglicéridos líquidos, polietilenglicoles, e hidrocarburos de parafina. La formulación puede ser adecuada para su administración a un paciente humano, y la preparación puede estar de acuerdo con las directrices de la USFDA. En algunos aspectos, la formulación es adecuada para la administración a un animal no humano. En algunos aspectos, la composición está esencialmente exenta de endotoxinas o exotoxinas. Las endotoxinas pueden incluir pirógenos, tales como moléculas de lipopolisacáridos (LPS). La composición también puede estar esencialmente exenta de fragmentos de proteínas inactivas que pueden producir fiebre otros efectos secundarios. En algunos aspectos, la composición contiene menos de un 1 %, menos de un 0,1 %, menos de un 0,01 %, menos de un 0,001 %, o menos de un 0,0001 % de endotoxinas, exotoxinas, y/o fragmentos de proteína inactiva. En algunos aspectos, la composición tiene niveles más bajos de pirógenos que el agua industrial, el agua del grifo o el agua destilada. Otros componentes de la vacuna se pueden purificar usando métodos conocidos en la técnica, tales como cromatografía de intercambio iónico, ultrafiltración o destilación. En otros aspectos, los pirógenos se pueden inactivar o destruir antes de su administración a un paciente. Las materias primas para las composiciones, tales como agua, tampones, sales y otros productos químicos también se pueden identificar sistemáticamente y despirogenar. Todos los materiales de la composición pueden ser estériles, y cada lote de la composición se puede someter a ensayo para determinar su esterilidad. Por lo tanto, en ciertos aspectos, los niveles de endotoxinas en la composición disminuyen por debajo de los niveles establecidos por la USFDA, por ejemplo 0,2 endotoxinas (UE)/kg de producto para una composición inyectable intratecal; 5 EU/kg de producto para una composición inyectable no intratecal, y 0,25-0,5 EU/ml para agua estéril.

En ciertos aspectos, la preparación comprende menos de un 50 %, un 20 %, un 10 %, o un 5 % (en peso seco) de proteínas contaminantes. En ciertos aspectos, la molécula deseada está presente en ausencia esencial de otras macromoléculas biológicas, tales como otras proteínas (en particular otras proteínas que pueden enmascarar, disminuir, confundir o alterar esencialmente las características de las proteínas componentes ya sea preparaciones purificadas o en su función en la mezcla reconstituida del sujeto). En ciertos aspectos, al menos un 80 %, un 90 %, un 95 %, un 99 %, o un 99,8 % (en peso seco) de macromoléculas biológicas del mismo tipo presentes (pero pueden estar presentes agua, tampones y otras moléculas pequeñas, especialmente moléculas que tienen un peso molecular inferior a 5000).

Es preferente que la composición tenga una toxicidad baja o nula, dentro de una relación de riesgo/beneficio razonable. En ciertos aspectos, la composición comprende ingredientes en concentraciones que son inferiores a las mediciones de DL_{50} para el animal que se está tratando con la composición. Las mediciones de DL_{50} se pueden obtener en ratones u otros sistemas de modelos experimentales y se pueden extrapolar a seres humanos y otros animales. Los métodos para calcular la DL_{50} de los compuestos en seres humanos y otros animales se conocen bien en la técnica. Una composición, y cualquier componente dentro de la misma, podría tener un valor de DL_{50} en ratas mayor que 100 g/kg, mayor que 50 g/kg, mayor que 20 g/kg, mayor que 10 g/kg, mayor que 5 g/kg, mayor que 2 g/kg, mayor que 1 g/kg, mayor que 500 mg/kg, mayor que 200 mg/kg, mayor que 100 mg/kg, mayor que 50 mg/kg, mayor que 20 mg/kg, o mayor que 10 mg/kg. En algunos aspectos, el índice terapéutico de la composición (medido como la dosis tóxica para un 50 % de la población (DT_{50}) dividido entre la dosis eficaz mínima para un 50 % de la población (DE_{50})), es mayor que 1, mayor que 10, o mayor que 100.

I. Preparación y almacenamiento de formulaciones de vacunas y composiciones inmunogénicas

Las vacunas del VHS-2 y se describen en el presente documento se pueden producir usando una variedad de técnicas. Por ejemplo, se puede producir un polipéptido usando una tecnología de ADN recombinante en una célula hospedadora adecuada. Una célula hospedadora adecuada puede ser bacteriana, levadura, mamífero u otro tipo de célula. La célula hospedadora se puede modificar para expresar una copia exógena de uno de los genes polipeptídicos relevantes. Generalmente, el gen está unido de forma operativa a secuencias reguladoras apropiadas tales como un promotor fuerte y una secuencia de poliadenilación. En algunos aspectos, el promotor es inducible o reprimible. Otras secuencias reguladoras pueden proporcionar la secreción o la excreción del polipéptido de interés

o la retención del polipéptido de interés en el citoplasma o en la membrana, dependiendo de cómo se desee purificar el polipéptido. El gen puede estar presente en un plásmido extracromosómico, o puede estar integrado en el genoma del hospedador. Alguien con experiencia en la materia reconocerá que no es necesario usar un ácido nucleico idéntico en un 100 % idéntico a la secuencia de origen natural. Más bien, algunas alteraciones de estas secuencias son toleradas y pueden ser deseables. Por ejemplo, el ácido nucleico se puede alterar para aprovechar la degeneración del código genético de manera que el polipéptido codificado siga siendo el mismo. En algunos aspectos, el gen está optimizado para codones para mejorar la expresión en un hospedador en particular. El ácido nucleico se puede producir, por ejemplo, mediante PCR o mediante síntesis química.

Una vez que se ha producido una línea celular recombinante, se puede aislar de ella un polipéptido. El aislamiento se puede conseguir, por ejemplo, mediante técnicas de purificación por afinidad o mediante técnicas de separación física (por ejemplo, una columna de tamaño).

Además en otro aspecto de la presente divulgación se describe un método de fabricación que comprende la mezcla de uno o más polipéptidos o un fragmento inmunogénico o variante de los mismos con un vehículo y/o un adyuvante. En algunos aspectos, el adyuvante es uno que estimula una respuesta de los linfocitos T_H1.

En algunos aspectos, los antígenos para inclusión en composiciones de la invención se pueden producir en cultivo celular. Un método comprende proporcionar uno o más vectores de expresión de mamíferos y clonación de nucleótidos que codifican dos o más polipéptidos seleccionados entre polipéptidos que tienen una secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NOS: 1-38, expresando y aislando los polipéptidos a continuación.

Los polipéptidos inmunogénicos que se describen en el presente documento, y las composiciones de ácido nucleico que expresan los polipéptidos, se pueden empaquetar en envases, dispositivos dispensadores y kits para administrar composiciones de ácido nucleico a un mamífero. Por ejemplo, se proporcionan envases o dispositivos dispensadores que contienen una o más formas de dosificación unitaria. Generalmente, las instrucciones para la administración de los compuestos se proporcionarán con el envase, junto con una indicación adecuada en la etiqueta de que el compuesto es adecuado para el tratamiento de una afección indicada, tales como las que se desvelan en el presente documento.

V. Ejemplos

Ejemplo 1. Identificación de antígenos del VHS-2

Se preparó una biblioteca de antígenos del VHS-2 (de la Cepa G del VHS-2, Lote N.º 7C0013, de Advanced Biotechnologies Inc, Maryland) y se identificó sistemáticamente con células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de donantes humanos. En resumen, una biblioteca de antígenos del VHS fue expresada por bacterias y se mezcló con células presentadoras de antígenos (APC). Las APC, a su vez, presentaron péptidos obtenidos a partir del VHS a linfocitos que se habían aislado de pacientes humanos infectados con el VHS-2. Los pacientes pertenecían a varias poblaciones, como se describe a continuación. Las respuestas linfocitarias de cada población se compararon para la reactividad a cada proteína expresada, y la identificación sistemática detectó antígenos que inducían linfocitos reactivos con mayor frecuencia en una población de pacientes en comparación con los demás. Los pacientes infectados pero asintomáticos y expuestos pero seronegativos pueden activar las respuestas inmunitarias protectoras que los pacientes que experimentan brotes frecuentes no lo hacen; en particular, se supone que los pacientes expuestos pero seronegativos presentan un aumento de la inmunidad esterilizante frente a la infección por VHS-2. Se cree que un conjunto único de polipéptidos activará los linfocitos de estas poblaciones de pacientes.

La liberación de IFN- γ de linfocitos T CD4⁺ y linfocitos T CD8⁺ de cada población se midió mediante ELISA después de la exposición a antígenos candidatos. Los antígenos se seleccionaron en función del aumento de veces de IFN- γ liberado, en relación con el nivel de IFN- γ liberado por los individuos con recurrencias frecuentes que experimentan más de cuatro brotes al año.

A. Identificación de antígenos codificados por UL10, UL19, UL40, US4, US6, RS1 (RS1.1, RS1.2, RS1.3), UL 36 (UL36.3, UL36.4, UL36.5), UL32, y RL2

Los linfocitos se aislaron de pacientes pertenecientes a varias poblaciones: asintomáticos (n = 40), expuestos (n = 40), recurrentes frecuentes que experimentan 4 o más brotes al año (n = 43), recurrentes menos frecuentes que experimentan menos de 4 o más brotes al año (n = 19), sin tratamiento previo (n = 10), y VHS-2/VHS-1⁺ (n = 10). La Tabla 3 muestra el análisis de frecuencia para trece antígenos del VHS-2 codificados por UL10, UL19, UL40, US4, US6, RS1 (RS1.1, RS1.2, RS1.3), UL36 (UL36.3, UL 36.4, UL36.5), UL32, y RL2 en la cohorte de pacientes expuestos en comparación con los recurrentes con 2 o más brotes al año.

Tabla 3. Análisis de frecuencia para antígenos codificados por UL10, UL19, UL40, US4, US6, RS1 (RS1.1, RS1.2, RS1.3), UL36 (UL36.3, UL36.4, UL36.5), UL32 y RL2

Gen del VHS-2	Nombre de la Proteína	Análisis de Frecuencia (seronegativo para VHS-1/VHS-2)	
		% de respuesta de donantes expuestos	Veces de aumento con respecto a la respuesta del recurrente
UL10	gM	23 %	1,4
UL19	VP5	-	-
UL40	ribonucleótido reductasa	36 %	3,0
US4	gG	24 %	1,6
US6	gD	27 %	1,9
RS1	ICP4		
RS1.1		54 %	3,0
RS1.2		46 %	2,3
RS1.3		23 %	1,2
UL36	Proteína del tegumento mayor		
UL36.3		46 %	2,3
UL36.4		46 %	4,2
UL36.5		31 %	1,9
UL32	Escisión de ADN y empaquetamiento de proteína	-	-
RL2	ICP0	45 %	1,6

B. Identificación de antígenos codificados por UL1, UL49.5, y UL54

- 5 Los linfocitos se aislaron de pacientes pertenecientes a varias poblaciones: asintomáticos (n = 40), expuestos (n = 40), recurrentes frecuentes que experimentan 4 o más brotes al año (n = 43), recurrentes menos frecuentes que experimentan menos de 4 o más brotes al año (n = 19), sin tratamiento previo (n = 10), y VHS-2/VHS-1⁺ (n = 10).
- 10 La Tabla 4 muestra el análisis de frecuencia para tres antígenos del VHS-2 codificados por UL1, UL49.5 y UL54, en la cohorte de pacientes expuestos en comparación con.

Tabla 4. Análisis de frecuencia para antígenos codificados por UL1, UL49.5, y UL54

Gen del VHS-2	Nombre de la Proteína	Análisis de frecuencia (seronegativo para VHS-1/VHS-2)	
		% de respuesta de donantes expuestos	Veces de aumento con respecto a la respuesta del recurrente
UL1	gL2	64 %	2,7
UL49.5	(virión p)	37 %	2,1
UL54	ICP27	22 %	5,8

15 C. Identificación de antígenos codificados por RL1, UL2, y UL11

- Los linfocitos se aislaron de pacientes pertenecientes a varias poblaciones: asintomáticos (n = 40), expuestos (n = 40), recurrentes frecuentes que experimentan 4 o más brotes al año (n = 43), recurrentes menos frecuentes que experimentan menos de 4 o más brotes al año (n = 19), sin tratamiento previo (n = 10), y VHS-2/VHS-1⁺ (n = 10).
- 20 La Tabla 5 muestra el análisis de frecuencia para tres antígenos del VHS-2 codificados por RL1, UL2, y UL11 en la cohorte de pacientes expuestos en comparación con los recurrentes con 2 o más brotes al año.

Tabla 5. Análisis de frecuencia para antígenos del VHS-2 codificados por RL1, UL2, y UL11

Gen del VHS-2	Nombre de la Proteína	Análisis de frecuencia (seronegativo para VHS-1/VHS-2)	
		% de respuesta de donantes expuestos	Veces de aumento con respecto a la respuesta del recurrente
RL1	ICP34.5	45 %	1,3
UL2	ADN glicosilasa	23 %	1,4
UL11	proteína del tegumento	21 %	< 1,0

Ejemplo 2. Datos *In vivo***5 A. [Protocolo A] Protocolo de vacunación terapéutica en cobaya**

Las cobayas Hartley hembra se estimularon por vía intravaginal con la cepa MS del VHS-2 a 5×10^5 pfu para establecer una infección del tracto genital. Los animales se monitorizaron para detectar la infección mediante frotis vaginal el día 1 después de la infección y la enfermedad aguda entre los días 3 y 14 después de la infección. En el día 14, después de la resolución de la enfermedad primaria, los animales se clasificaron de forma aleatoria en grupos de 12 y se inmunizaron por vía subcutánea con antígeno (polipéptido del VHS-2 a una dosis de 15 μ g) más adyuvante (dosis de 50 μ g de una matriz ISCOM con una mezcla a 91:9 de las fracciones A y C de saponina de Quillaja). Cada grupo recibió un total de 3 vacunas, los días 14, 21 y 34 después de la infección. Se recogieron muestras genitales durante el periodo de vacunación para controlar la efusión viral y las observaciones se registraron diariamente. Los síntomas se puntuaron en una escala de 0 a 4 de acuerdo con la gravedad, 0 = sin síntomas; 1 = enrojecimiento o hinchazón; 2 = unas pocas vesículas pequeñas; 3 = varias vesículas grandes; 4 = varias vesículas grandes con maceración. Además, a los animales con lesiones de gravedad intermedia entre las puntuaciones anteriores se les asignó una puntuación de 0,5, 1,5, 2,5, o 3,5.

20 1. Resultados de los estudios de vacunación terapéutica con ICP4.2, gD2 Δ TMR, y gD2

Los resultados de los estudios se presentan a continuación en las Tablas 6-10. El título de IgG se determinó el día 41 después de la infección y 7 días después de la tercera inmunización usando un promedio de 4 de los 12 animales en cada grupo. Las puntuaciones medias de las lesiones recurrentes y el promedio de días de lesión se determinaron entre el día 15 y el día 63 después de la infección. Las puntuaciones de las lesiones representan las lesiones totales para cada grupo desde el día 15 al 60 y a continuación se calculó una media. El promedio de los días de lesión representa el promedio de días después de la infección en el que los animales inmunizados o no inmunizados presentaban lesiones herpéticas. Se recogieron muestras de frotis vaginal de todos los animales durante 12 días entre los días 20-59 después de la infección y se almacenaron a -80 °C hasta que se analizaron los títulos de efusión de virus mediante PCR cuantitativa en tiempo real.

Tabla 6. Resultados de estudios de vacunación terapéutica con ICP4.2 (SEQ ID NO: 2): lesiones

Grupos N = 12	Dosis	Título de gD2 IgG	Puntuación Media de Lesión Recurrente	% de Reducción	Promedio de Días de Lesión	% de Reducción
Solución salina tamponada con fosfato	-	1:263	8,1	-	9,0	-
adyuvante solo	50 μ g x 3	1:331	7,1	14	8,5	6
ICP4.2 + adyuvante	15 μ g x 3	1:1079	4,3	47	5,1	44

Tabla 7. Resultados de estudios de vacunación terapéutica con ICP4.2 (SEQ ID NO: 2): efusión viral

Grupos	N.º de animales sin efusión viral detectable/ total	Número medio de días de efusión viral detectada \pm ETM	% de Reducción	Valor de P*
Solución salina tamponada con fosfato	0/11	4,5 \pm 0,8	-	-
Adyuvante solo	0/12	4,4 \pm 0,7	2	0,971
ICP4.2 + adyuvante	5/11	1,5 \pm 0,5	67	0,004

Tabla 8. Resultados de estudios de vacunación terapéutica con gD2ΔTMR (SEQ ID NO: 4): lesiones

Grupos	Puntuación Media de Lesión Recurrente	% de Reducción	Promedio de Días de Lesión	% de Reducción
Adyuvante solo	8,7	-	11,7	-
gD2ΔTMR	5,7	34	8,6	26

Tabla 9. Resultados de estudios de vacunación terapéutica con gD2 (SEQ ID NO: 5): lesiones

Grupos N = 12	Dosis	Título de gD2 IgG	Puntuación Media de Lesión Recurrente	% de Reducción	Promedio de Días de Lesión	% de Reducción
Solución salina tamponada con fosfato	-	1:263	8,1	-	9,0	-
Adyuvante solo	50 µg x 3	1:331	7,1	14	8,5	6
gD2 + adyuvante	15 µg x 3	> 1:6400	4,0	51 (p = 0,04)	5,0	45

5 Tabla 10. Resultados de estudios de vacunación terapéutica con gD2 (SEQ ID NO: 5): efusión viral

Grupos	N.º de animales sin efusión viral detectable/ total	Número medio de días de efusión viral detectada ± ETM	% de Reducción	Valor de P*
Solución salina tamponada con fosfato	0/11	4,5 ± 0,8	-	-
Adyuvante solo	0/12	4,4 ± 0,7	2	0,971
gD2 + adyuvante	4/12	2,4 ± 0,6	47	0,047

B. [Protocolo B] Protocolo de vacunación profiláctica en murino

10 Los ratones C57BL/6 hembra de 6 a 8 semanas de edad se inmunizaron por vía subcutánea con antígeno (polipéptido del VHS-2) más adyuvante (dosis de 12 µg de una matriz ISCOM con una mezcla a 82:18 de las fracciones A y C de saponina de *Quillaja*) el día 0 y el día 9. En el día 11, los ciclos estrales se sincronizaron con Depo Provera y a continuación los ratones se estimularon el día 16 mediante deposición intravaginal de 10 veces la DL₅₀ de la cepa 333 del VHS-2 mientras estaban bajo anestesia. Todos los animales se monitorizaron para determinar la morbilidad (puntuación clínica) y la mortalidad, y los pesos corporales y los frotis vaginales se recogieron entre los días 17 y 28 después de la infección. Las puntuaciones clínicas se registraron usando la siguiente escala: 0 = sin síntomas, 1 = eritema vaginal, 2 = eritema y edema vaginal, 3 = lesiones herpéticas vaginales, 4 = parálisis unilateral o ulceración genital grave, y 5 = parálisis bilateral o muerte.

20 1. Resultados de los estudios de vacunación profiláctica en murino con ICP4.2, VPS, gD2ΔTMR y gD2ΔTMR e ICP4.2

25 En el grupo experimental, los ratones se inmunizaron por vía subcutánea con 5 µg o 10 µg de antígeno más adyuvante (dosis de 12 µg de una matriz ISCOM con una mezcla a 82:18 de las fracciones A y C de saponina de *Quillaja*) el día 0 y el día 9. Los animales de control recibieron solo solución salina tamponada con fosfato (PBS) solo o adyuvante solo.

30 Todos los ratones que recibieron solo PBS o adyuvante solo murieron el día 9 después de la estimulación (sin supervivientes). Por el contrario, los ratones que recibieron antígeno sobrevivieron en gran parte hasta el día 9, y un 20-75 % sobrevivió hasta el día 12 después de la estimulación. La gravedad de los síntomas de la enfermedad (enfermedad genital y neurológica) también se puntuó en el día 9 o 10 después de la estimulación. Los ratones inmunizados con ICP4.2, VP5, gD2ΔTMR o gD2ΔTMR e ICP4.2 con adyuvante ISCOM mostraron una disminución significativa de los síntomas de la enfermedad en comparación con los grupos de PBS solo o adyuvante solo.

Tabla 11. Resultados de estudios de vacunación profiláctica en murino

Grupos	Puntuación Media de Enfermedad Día 10	% de Reducción	Valor de P*	% de Supervivencia Día 12
PBS solo/adyuvante solo	5,00/4,81	-	--	0 %
ICP4.2	3,6	28	X-	22,0 %
VP5 + adyuvante	3,13	35	0,146	33,8 %
gD2ΔTMR + adyuvante	1,44	70	0,023	77,5 %
gD2ΔTMR + ICP4.2 + adyuvante	0,75	84	0,020	88,8 %

*Ensayo t de Student

C. [Protocolo C] Protocolo de vacunación profiláctica en cobaya

- 5 Las cobayas Hartley hembra de 250-350 gramos (peso) se inmunizaron por vía subcutánea con 15 µg de antígeno más adyuvante (dosis de 50 µg de una matriz ISCOM con una mezcla a 91:9 de las fracciones A y C de saponina de *Quillaja*) el día 0 y el día 14 -21. Los sueros se recogieron con un clip de uñas de los pies 2 a 3 semanas después del refuerzo y a continuación las cobayas se estimularon mediante deposición intravaginal de 5×10^5 PFU de la cepa MS del VHS-2. Se recogieron muestras de frotis vaginal de todos los animales en los días 30 y 32 y se almacenaron a -80 °C hasta que se analizaron los títulos de virus mediante PCR cuantitativa en tiempo real. Las cobayas se evaluaron diariamente (día 1-14) y la enfermedad de la piel genital primaria se cuantificó usando una escala de puntuación de gravedad de la lesión de 1-4. Las puntuaciones numéricas se asignaron a los signos específicos de la enfermedad sigue a continuación: 0, sin enfermedad; 1, enrojecimiento o hinchazón; 2, unas pocas vesículas pequeñas; 3, varias vesículas grandes; 4, varias vesículas grandes con maceración. Al final del estudio, las cobayas se sometieron a eutanasia y los ganglios de la raíz dorsal (DRG) se recogieron y se almacenaron a -80 °C hasta que se procesaron para un análisis cuantitativo de PCR en tiempo real.

Tabla 12. Resultados de vacunación profiláctica en cobaya con gD2ΔTMR y VP5

Grupos	Título viral, PFU/ml Día 2	Puntuación media total de lesión aguda	% de Reducción	Copias de ADN de VHS-2/1 µg de ADN de DRG	% de Reducción
Adyuvante solo	$2,3 \times 10^6$	22,6	-	959	-
gD2ΔTMR + Adyuvante	$1,7 \times 10^6$	7,7	66 %	274	71 %
VP5 + adyuvante	$5,9 \times 10^5$	18,2	17 %	283	70 %

20 D. [Protocolo D] Ensayo de inmunogenicidad I (patrón)

- Los ratones se inmunizaron por vía subcutánea en la zona del cuello con una inyección de 100 µl de 5 µg de antígeno más adyuvante (dosis de 12 µg de una matriz ISCOM con una mezcla a 82:18 de las fracciones A y C de saponina de *Quillaja*) en solución salina. Los ratones recibieron una o dos inyecciones, con 7 días de diferencia. El análisis de la inmunogenicidad de la inyección se produjo 7 días después de la inyección final.

- El ensayo de inmunogenicidad fue un ELISPOT de IFN-γ *ex vivo*. Los linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ se enriquecieron a partir del bazo y se analizaron por separado. Para el ensayo ELISPOT, las placas de membrana se prepararon revistiéndolas durante la noche con anticuerpo de captura y posteriormente se bloquearon con medio suplementado durante un mínimo de 2 horas a 37 °C. Los ratones se sacrificaron y sus bazos se recogieron. A continuación los linfocitos T se prepararon mediante la clasificación de los esplenocitos para linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ usando perlas magnéticas. La solución de bloqueo se lavó de las placas ELISPOT y los linfocitos T se colocaron en placas sobre las placas bloqueadas. Las placas se devolvieron a la incubadora para permitir que los linfocitos T sedimentaran. Las APC se prepararon pulsando esplenocitos con agotamiento de linfocitos T sin tratamiento previo con antígeno durante 2 horas a 37 °C. Para los ELISPOT de linfocitos CD4⁺, las APC se pulsaron con proteína completa. Para los ELISPOT de linfocitos CD8⁺, las APC se pulsaron con proteína que expresaba *E. coli* E más cLLO. Un medio de control fueron las APC incubadas durante 2 horas a 37 °C sin antígeno adicional. Las APC pulsadas se irradiaron, se lavaron y se ajustaron a 2×10^6 células/ml. Las APC se añadieron a los pocillos apropiados de las placas que contenían linfocitos T. A continuación se añadió acetato de miristato de forbol (PMA) e ionomicina a los pocillos de control como control positivo. Se permitió que las placas se incubaran durante 18 horas a 37 °C con un 5 % de CO₂. A continuación las placas se desarrollaron usando un anticuerpo biotinilado secundario, peroxidasa de rábano picante (HRP) y sustrato 3-amino-9-etilcarbazol (AEC).

1. Resultados del ensayo de inmunogenicidad I con ICP4.2

El ensayo de inmunogenicidad I mostró una respuesta inmunogénica robusta para los regímenes tanto de una inyección como de dos inyecciones con ICP4.2. Para el régimen de una inyección, el número de manchas de IFN- γ por 200.000 linfocitos T fue de 8 y 101 para los linfocitos CD4⁺ y CD8⁺, respectivamente. Para el régimen de dos inyecciones, hubo 50 y 70 manchas, respectivamente. Por el contrario, se observaron menos de 15 manchas para el medio o adyuvante solo en linfocitos CD4⁺ o CD8⁺.

2. Resultados del ensayo de inmunogenicidad I con gD2 Δ TMR y gD2

Los resultados del ensayo de inmunogenicidad I se muestran en la Figura 1A y B. Se obtuvieron respuestas de los linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ robustas tanto para gD2 de longitud completa como para gD2 Δ TMR. Por el contrario, el antígeno gD2 truncado inmediatamente cadena arriba del dominio transmembrana (indicado como 306t en la Figura 1) mostró respuestas significativamente reducidas.

E. [Protocolo E] Ensayo de inmunogenicidad II (rápido)

La *E. coli* recombinante de la biblioteca patentada de Genocoea del orfeoma del VHS-2 se indujo para expresar gL2 o fragmentos de proteína ICP4 (ICP4.2, y polipéptidos codificados por RS1.1, RS1.3.1 y RS 1.3.2). La proteína fue retenida dentro de las células bacterianas. A continuación las bacterias se fijaron con PFA, se lavaron ampliamente con PBS y se almacenaron a -80 °C hasta que se usaron para la inmunización.

Se inmunizaron tres ratones por grupo con 1 x 10⁸ bacterias en PBS por ratón por inyección intraperitoneal. Los ratones recibieron 1-2 refuerzos adicionales en intervalos de 1 semana. Siete días después del último refuerzo, los sueros se recogieron y se analizaron en un ensayo de neutralización del VHS-2. Se prepararon diluciones en serie de cinco veces para muestras de plasma o suero en una placa de fondo redondo de 96 pocillos, seguido de la adición de 50 PFU del VHS-2 (cepa 333) a cada pocillo. Las placas se cubrieron y se incubaron a 37 °C durante 1 hora. 200 μ l de dilución de virus-suero se transfirieron por duplicado a células Vero cultivadas en una placa de cultivo de tejidos de 48 pocillos y se incubaron durante 1 hora a 37 °C. A continuación se añadieron 300 μ l de DMEM que contenía FBS al 2 % a cada pocillo y las placas se incubaron durante 48 horas a 37 °C. Para visualizar las placas de virus, las placas se tiñeron con cristal violeta.

Tabla 13. Resultados del ensayo de neutralización del VHS-2 con gL2, ICP4.2, y polipéptidos codificados por RS1.1, RS1.3.1 y RS1.3.2

Inmunógeno	Título de IgG de Neutralización del VHS-2*
<i>E. coli</i> /gL2	1:50
<i>E. coli</i> /RS 1.1	< 1:20
<i>E. coli</i> /ICP4.2	< 1:20
<i>E. coli</i> /RS 1.3.1	1:100
<i>E. coli</i> /RS1.3.2	< 1:20
Control positivo (DL11 Mab)	1:2500
Control negativo (Suero de ratón sin tratamiento previo)	< 1:20

* Dilución del suero que inhibe un 50 % del control del virus

F. [Protocolo F] Ensayo de inmunogenicidad III (combinaciones de péptidos superpuestos)

Los ratones se inmunizaron con 2 μ g/ratón de péptidos superpuestos (OLP) combinados que se extendían a toda la secuencia de fragmentos de gL2, ICP4 e ICP4 codificados por RS1.3.1 y RS1.3.2. Los OLP se formularon en adyuvante TiterMax (Alexis Biochemical) en un volumen total de 100 μ l por ratón, en los que el adyuvante representó 1/3 de la dosis subcutánea. Los ratones se inmunizaron el día 0, se reforzaron el día 6 y los bazo y la sangre se recogieron el día 11. Se prepararon suspensiones de células individuales a partir de los bazo y los eritrocitos se sometieron a lisis. A continuación las suspensiones de esplenocitos se dividieron en mitades. La primera mitad se separó en células presentadoras de antígeno, linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺; se sembraron 200.000 linfocitos T por pocillo de la placa ELISPOT de IFN- γ y se estimularon con 100.000 APC y la combinación de los OLP correspondiente a la inmunización, péptido irrelevante, control positivo y negativo. Las células se incubaron en placas durante la noche, tras lo cual las placas se desarrollaron y se hizo el recuento de las manchas por pocillo. La segunda mitad de cada suspensión de esplenocitos se desarrolló en forma de esplenocitos no separados (400.000/pocillo), se pulsó con péptidos y se analizó como se ha descrito anteriormente.

Los resultados se muestran en las Figuras 2A y B como una magnitud de la respuesta por grupo de inmunización.

G. [Protocolo G] Vacunación con al menos dos antígenos

Ejemplo 1. Inmunogenicidad de gD2ΔTMR e ICP4 o ICP4.2 en ratones C57BL/6

5 La proteína purificada se mezcló con adyuvante y se inmunizó en ratones sin tratamiento previo para evaluar la capacidad de generar respuestas de los linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ a los antígenos proteicos. En resumen, el antígeno solo (gD2ΔTMR (5 μg)) o las combinaciones de antígenos (gD2ΔTMR e ICP4.2 (10 μg)) se mezclaron con adyuvante (dosis de 12 μg de una matriz ISCOM con una mezcla a 82:18 de las fracciones A y C de saponina de Quillaja) y se administró por vía subcutánea a ratones, dos veces, con 9 días de diferencia. Siete días después de la
 10 segunda inmunización, los ratones se sometieron a eutanasia y los bazo se recogieron para los ensayos ELISPOT IPN γ ex vivo. Los linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ se clasificaron a partir de la población de esplenocitos usando perlas magnéticas revestidas con anticuerpos y a continuación se cultivaron en conjunto en membranas revestidas con anticuerpos específicos de IPN γ en placas de 96 pocillos con esplenocitos sin tratamiento previo que se pulsaron con antígenos específicos o no específicos (como se ha descrito) y se irradiaron con un aparato de irradiación de rayos X. Después de 18 horas de incubación, el IPN γ capturado se detectó con un anticuerpo secundario biotinilado específico de IPN γ y se visualizó con peroxidasa de rábano picante y sustrato de 3-amino-9-etilcarbazol. Los datos se informan como el número de unidades formadoras de manchas de IFN- γ por 2 x 10⁵ linfocitos T \pm desviación estándar de tres ratones por grupo. La Figura 3 muestra el número de unidades formadoras de manchas de IFN- γ por 2 x 10⁵ linfocitos T CD4⁺ o CD8⁺ \pm desviación estándar de tres ratones por grupo. Como se observa en las
 15 Figuras 3A y B, el número de unidades formadoras de manchas de IFN- γ por linfocitos T CD4⁺ o linfocitos T CD8⁺ aumenta en ratones inmunizados con antígeno gD2ΔTMR combinado con ICP4.2 en comparación con antígeno gD2ΔTMR solo.

Ejemplo 2. Las combinaciones de gD2 e ICP4.2 más inmunización con adyuvante redujeron los síntomas de enfermedad y mortalidad en ratones

25 La capacidad de desencadenar la inmunidad protectora después de la inmunización con la proteína ICP4.2 en combinación con gD2 más adyuvante se evaluó en un modelo de ratón de estimulación con VHS-2 letal. En resumen, se inmunizaron ocho ratones C57BL/6 por grupo con gD2 (2 μg) o ICP4.2 (10 μg) más adyuvante individualmente o con ambos antígenos mezclados juntos más adyuvante. Las formulaciones se administraron por vía subcutánea en la zona del cuello dos veces, con 9 días de diferencia. Los ciclos estrales se sincronizaron con Depo Provera 5 días antes de la infección por el virus, y los animales se estimularon por vía intravaginal 7 días después de la segunda inmunización con 20 veces la DL₅₀ de la cepa 333 del VHS-2. Los síntomas de la enfermedad se puntuaron después de la infección y se controló la supervivencia. Las puntuaciones de gravedad de la enfermedad fueron las siguientes: 0 = sin síntomas, 1 = enrojecimiento, 2 = enrojecimiento e hinchazón, 3 = lesiones herpéticas, 4 = ulceración grave o parálisis unilateral, y 5 = parálisis bilateral o muerte.

Tabla 14. Efecto de las proteínas gD2 e ICP4.2 del VHS-2 en los síntomas de enfermedad, replicación viral y mortalidad

Antígeno (+ adyuvante) N = 8	Puntuación media de enfermedad Día 7	Reducción de la puntuación de enfermedad	Valor de P**	Reducción del título viral	% de Supervivencia Día 11
PBS	3,5 ± 0,3	---	---	---	0 %
gD2* (2 ug)	2,5 ± 0,2	29 %	0,016	0 %	25 %
ICP4.2 (10 ug)	1,7 ± 0,4	51 %	0,005	0 %	13 %
gD2 (2 ug) + ICP4.2 (10 ug)	1,3 ± 0,3	63 %	0,0004	20 %	50 %

*EC; **Ensayo t de Student

Ejemplo 3. Las combinaciones de gD2ΔTMR e ICP4.2 más inmunización con adyuvante redujeron los síntomas de enfermedad y mortalidad en ratones

40 Los ratones inmunizados con una combinación de antígenos gD2ΔTMR e ICP4.2 mostraron una puntuación media de enfermedad más baja a los diez días después de la estimulación con el virus en comparación con los animales que recibieron el antígeno individual con adyuvante.
 45

Tabla 15. Efecto de las proteínas gD2ΔTMR e ICP4.2 del VHS-2 en los síntomas de enfermedad y tasa de supervivencia en ratones

Grupos	Puntuación Media de Enfermedad Día 10	% de Reducción	Valor de P*	% de Supervivencia Día 12
Adyuvante solo	4,81	-	--	00 %
gD2ΔTMR + adyuvante	1,44	70	0,023	75 %
gD2ΔTMR + ICP4.2 + adyuvante	0,75	84	0,020	88 %

5 **Ejemplo 4. La combinación de gD2 e ICP4.2 más inmunización con adyuvante reduce la gravedad de lesiones recurrentes cuando se administra por vía terapéutica a cobayas infectados con el VHS-2**

10 La capacidad para influir en la reactivación del VHS-2 en cobayas infectados después de la inmunización terapéutica con antígenos más adyuvante se evaluó. En resumen, las cobayas se infectaron por vía intravaginal con 5×10^5 pfu de la cepa MS del VHS-2, se militarizaron para enfermedad primaria durante 14 días, y a continuación se clasificaron al azar en grupos de inmunización (N = 15). Los animales inmunizaron tres veces por vía subcutánea los días 14, 21, y 35 después de la infección con antígeno (15 μ g) más adyuvante (50 μ g) o adyuvante solo, el sistema de puntuación fue como sigue a continuación: 0 = sin síntomas, 1 = enrojecimiento, 2 = lesiones individuales, 3 = lesiones grandes o fusionadas, 4 = ulceración grave o parálisis unilateral, y 5 = parálisis bilateral o muerte. La Tabla 16 muestra los datos como la puntuación media de la lesión recurrente para cada semana después de que las cobayas se recuperarán de su enfermedad aguda. Las cobayas tratadas con una combinación de antígenos gD2 e ICP4.2 mostraron una reacción en la puntuación media de la lesión a los 7 (día 42) y 14 (día 49) 10 días después de su última inmunización en comparación con los animales que recibieron los antígenos individuales con adyuvante.

Tabla 16. Efecto de la vacuna de las proteínas gD2 e ICP4.2 del VHS-2 en la enfermedad cutánea genital recurrente

Antígeno + Adyuvante	Puntuación Media de Lesión Recurrente Después de Infección por VHS-2				
	Día 15-21	Día 22-28	Día 29-35	Día 36-42	Día 43-49
PBS	2,00 ± 0,45	1,17 ± 0,35	1,50 ± 0,50	0,87 ± 0,28	1,33 ± 0,33
gD2	1,00 ± 0,30	0,67 ± 0,24	0,80 ± 0,19	0,83 ± 0,26	0,77 ± 0,28
ICP4.2	1,97 ± 0,38	1,07 ± 0,29	1,03 ± 0,33	0,53 ± 0,16	0,83 ± 0,29
gD2 e ICP4.2	1,43 ± 0,32	0,80 ± 0,27	1,07 ± 0,33	0,43 ± 0,19	0,70 ± 0,27

20

Secuencias

SEQ ID NO: 1 = ICP4, longitud completa

SAEQRKKKKT TTTTQGRGAEVAMADEDGGRLRAAAETTGGPGSPDPADGPPPTPNPDR
 RPAARPGFGWHGGPEENEDEADDAADADADEAAPASGEAVDEPAADGVVSPRQLALLASMVDEAVRT
 IPSPPPERDGAQEAAARSPSPPRTPSMRADYGEENDDDDDDDDDDRDAGRWRGPETTSAVRGAYPD
 PMASLSRPPAPRRHHHHHHRRRRRAPRRR SAASDSSKSGSSSSASSASSSSASSSSASASSSDDDDD
 DDAARAPASAADHAAGGTLGADDEEAGVPARAPGAAPRPSPPRAEPAPARTPAATAGRLERRRARA
 AGRDATGRFTAGRPRRVELDADAASGAFYARYRDGYVVSSEPWPWGAGPPPPGRVLYGGLGDSRPLWGA
 PEAEEARARFEASGAPAPVWAPELGDAAQQYALITRLLYTPDAEAMGWLQNPVRVAPGDVALDQACFRI
 SGAARNSSSFISGSVARAVPHLGYAMAAGRFGWGLAHVAAA VMSRRYDRAQKGFLLTSLRRAYAPLL
 ARENAALTGARTPDDGGDANRHDGDDARGKPAAAAAPLPSAAA SPADERAVPAGYGAAGVLAALGRLS
 AAPASAPAGADDDDDDDGAGGGGGGRRAEAGRVAVECLAACRGI LEALAEFGDGLAAVPLAGARPA
 APPRPGPAGAAAPPHADAPRLRAWLRELRFVVDALVLMRLRGDLRVAGGSEAAVAAVRAVSLVAGALG
 PALPRSPRLSSAAAAAADLLFQNQSLRPLLADTVAAADSLAAPASAPREARKRKSPPAPARAPGGAP
 RPPKSRADAPRPAAPAGAAPAPP TPPP RPPRALTRRPAEGDFPQGGWRRQPPGPSHTPAPSA
 AALEAYCAPRAVAELTDHPLFPAPWRPALMFDPRALASLAARCAAPPPGGAPAAFGLRASGPLRRAA
 AWMRQVPDPEDVRVVI LYSPLPGEDLAAGRAGGGPPPEWSAERGGLSCLLAALGNRLCGPATAAWAGN
 WTGAPDVSALGAQGVLLLS TRDLAFAGAVEFLGLLAGACDRRLIVVNAVRAADWPADGPVVS RQHAYL
 ACEVLPVAVQCAVRWPAARDLRRTVLASGRVFGPGVFARVEAAHARLYPDAPPLRLCRGANVRYRVRTR
 FGPDTLVPMSPREYRRAVLPALDGRAAA SAGDAMAPGAPDFCEDEAHSHRACARWGLGAPLRPVYVA
 LGRDAVRGGPAELRGRPREFCARALLEPDGDAPPLVLRDDADAGPPPQIRWASAAGRAGTVLAAAGGG
 VEVVGTAAGLATPPRRREPVDMDAELEDDDDGLFGE

SEQ ID NO: 2 = fragmento interno de ICP4

MVLYGGLGDSRPLWGAPEAEEARARFEASGAPAPVWAPELGDAAQQYALITRLLYTP
 DAEAMGWLQNPVRVAPGDVALDQACFRI SGAARNSSSFISGSVARAVPHLGYAMAAGRFGWGLAHVAAA
 VMSRRYDRAQKGFLLTSLRRAYAPLLARENAALTGARTPDDGGDANRRDGDARGKPAAAAAPLPSA
 AASPADERAVPAGYGAAGVLAALGRLS AAPASAPAGADDDDDDDGAGGGGGGGGGGRRAEAGRVA
 VECLAACRGI LEALAEFGDGLAAVPLAGARPAAPPRPGPAGAAAPPHADAPRLRAWLRELRFVVDAL
 VLMRLRGDLRVAGGSEAAVAAVRAVSLVAGALGPALPRSPRLSSAAAAAADLLFQNQSL

SEQ ID NO: 3 = gL2 citoplasmático

MGFVCLFGLVVMGAWGAWGGSQATEYVLRSVIAKEVGDILRVPCMRTPADDVSWRYEA
 PSVIDYARIDGIFLRYHCPGLDTFLWDRHAQRAYLVNPFLEAAGFLEDLSHSVFPADTQETTTRALY
 KEIRDALGSRKQAVSHAPVRAGCVNFYSRTRRCVGRDLRPANTTSTWEPVSSDDEASSQSKPLAT
 QPPVLALSNAAPRRVSPTRGRRRHTRLRN

SEQ ID NO: 4 = delección interna de gD2

NRWKYALADPSLKMADPNRFRGKNLPVLDQLTDPGPKRVYHIQPSL
EDPFQPPSIPITVYYAVLERACRSVLLHAPSEAPQIVRGASDEARKHTYNLTIAWYRMGDNCAIPITV
MEYTECPYNKSLGVCPIRTQPRWSYYDSFSAVSEDNLGFLMHAPAFETAGTYLRLVKINDWTEITQFI
LEHRARASCKYALPLRIPPAACLTSKAYQQGVTVDSIGMLPRFIPENQRTVALYSLKIAGWHGPKPPY
TSTLLPELSDTTNATQPELVPEDPEDSALLEDPAGTVSSQIPPNWHIPSIQDVAPHHAPAAPSNEPRR
RAQMAPKRLRLPHIRDDAPP SHQPLFY

SEQ ID NO: 5 = secuencia de gD2 predicha

MGRLTSGVGTAAALLVVAVGLRVVCAKYALADPSLKMADPNRFRGKNLPVLDQLTDPGPKRVYHIQPS
LEDPFQPPSIPITVYYAVLERACRSVLLHAPSEAPQIVRGASDEARKHTYNLTIAWYRMGDNCAIPIT
VMEYTECPYNKSLGVCPIRTQPRWSYYDSFSAVSEDNLGFLMHAPAFETAGTYLRLVKINDWTEITQF
ILEHRARASCKYALPLRIPPAACLTSKAYQQGVTVDSIGMLPRFIPENQRTVALYSLKIAGWHGPKPP
YTSTLLPELSDTTNATQPELVPEDPEDSALLEDPAGTVSSQIPPNWHIPSIQDVAPHHAPAAPSNEPRR
LIIGALAGSTLAVLVIGGIAFWVRRRAQMAPKRLRLPHIRDDAPP SHQPLFY

5

SEQ ID NO: 6 = ICP34.5

MSRRRGPRRRGPRRRPRGAPAVPRGAPAVPRGALPTADSQMVPAYDSGTAVESAPAASSLRRWL
LVPQADDSDADYAGNDDAEWANSPPSEGGGKAPHAAPAAACPPPPRKRERGPQRPLPPHLALRL
RTTEYLARLSLRRRRPPASPPADAPRGKVCFSRQVVRHLVAVETAARLARAGSWARERADRDRFRR
RVAAAEAVIGPCLEPEARARARARARAHEDGGPAEEEEAAAAARGSSAAAGPGRRAV

10

SEQ ID NO: 7 = ICP0

MEPRPGTSSRADPGPERPPRQTPGTQPAAPHAWGMLNDMQWLASSDSEEETEVI SDD
DLHRDSTSEAGSTDTEMFEAGLMDAATPPARPPAERQGSPTPADAQGSCGGGPVGEAEAGGGDVC
AVCTDEIAPPLRCQSFPC LHPFCIPCMKTIWIPLRNTCP LCNTPVAYLIVGVTASGSFSTIP IVNDPRT
RVEAEAAVRAGTAVDFIWTGNPRTAPRSLSLGGHTVRALSPTPPWPGTDEDDDLADVDYVPPAPRRA
PRRGGGGAGATRGTSQPAATRPPAPP GAPRSSSSGGAPLRAGVGS GSGGPAVAAVPRVASLPPAAGG
GRAQARRVGEDAAAAEGRTPPARQPRAAQEPPIVI SDSPPPSPRRPAGPGPLSEFVSSSSAQVSSGPGG
GGLPQSSGRAARPRAAVAPRVRSPPRAAAAPVVSASADAAGPAPPVAVDAHRAPRSRMTQAQTD TQA
QSLGRAGATDARGSGGPGAEGGPGVPRGTNTPGAAPHAAGAARPRKRRGSDSGPAASSSASSSAAAP

RSPLAPQGVGAKRAAPRRAPDSDSGDRGHGPLAPASAGAAPP SASPSSQA AVAAASSSSASSSSASSS
SASSSSASSSSASSSSASSSSASSSAGGAGGSVASASGAGERRETS LGPRAAAPRGPRKARKTRHAE
GGPEPGARDPAPGLTRYLP IAGVSSVVALAPYVNKTVTGDCLPVLDMETGHIGAYVVLVDQTNVADL
LRAAAPAWSRRTLLPEHARN CVRPPDYPTPPASEWNSLWMTFVGNMLFDQGT LVGALDFHGLRSRHPW
SREQGAPAPAGDAPAGHGE

15 SEQ ID NO: 8 = fragmentos internos de ICP4 (RS1.1, N.º 1-400)

msaeqrkkkktttttqgrgaevamadedggrlraaaettggpgspdpadgppptpn
pdrarpaarpfgwhggpeenedeaddaaadadadeaapasgeavdepaadgvvspr
qlallasmvdeavrtipsppperdgaaeaaarspspprtpsmradygeendddddd
dddddrdagrwvrgpettsavrgaypdpmaslsprppaprrhhhhhhrrrraprr
rsaasdssksgssssassassssassssssasassssdddddadaarapasaadhaagg
tlgaddeeagvparapgaaprpsppraepapartpaatagrlerrraraavagrda
tgrftagrprrveldadaasgafyaryrdgyvsgepwpgagppppgrvlygglgds
rpglwgap

SEQ ID NO: 9 = fragmentos internos de ICP4 (RS1.3.1, N.º 750-1024)

ssaaaaadllfqngslrplladtvaaadslaapasapreakrkrspaparappgg
aprppkksradaprpaappagaappapptppprpprpaaltrrpaegpdpqggwr
rqppgshpapsaaaleaycapraaeltdhplfpapwrpalmfdpralasaar
caappppgapaafgplrasgplrraaawmrqvdpdpdvrvvilysplpgedlaagr
agggpppewsaergglscillaalgnrlcgpataawagnwtgapdvsalgaq

5

SEQ ID NO: 10 = fragmentos internos de ICP4 (RS1.3.2, N.º 1008-1319)

wagnwtgapdvsalgaqgvlllstrdlafagaveflgllagacdrriivnavraa
dwpadgpvvsrqhaylacevlpavqcavrwpaardlrrtvlasgrvfgpgvfarve
aaharlypdapplrlcrganvryrvtrrfgpdtlvpmspreyrravlpaldgraaa
sgagdmapgapdfcedeahshracarwglgaplrpvyvalgrdavrggpaelrgp
rrefcarallepdgdapplvlrddadagpppqirwasaagragtvlaaagggvevv
gtaaglatpprrepvmdaeledddglfge

10

SEQ ID NO: 11 = fragmentos internos de ICP4 (RS1.3, N.º 750-1319)

Ssaaaaadllfqnqslrp1ladtvaaads1aapasaprearkrkspaparappgg
aprppkksradaprpaappagaappapptppprpprpaaltrrpaegpdpqggwr
rqppgpshtpapsaaaleaycapravaeltdhplfpapwrpalmdpralasaar
caappppggapaafgplrasgplrraaawmrqvdpdvrvvilysplpgedlaagr
agggpppewsaergglsc1laalgnrlcgpataawagnwtgapdvsa1gaqgvlll
strdlafagaveflgllagacdr1livvnavraadwpadgpvvsrqhaylacevlp
avqcavrwpaardlrrtvlasgrvfgpgvfarveaaharlypdapplrlcrganvr
yrvrtrfpgpdtlvmpspreyrravlpaldgraaasgagdamapgapdfcedeahsh
racarwglgaplrpvyvalgrdavrggpaelrgprrefcarallepdgdapplvlr
ddadagpppqirwasaagragtv1aaagggvevvgtaaglatpprrepvmdaele
ddddglfge

SEQ ID NO: 12 = fragmentos internos de ICP4 (RS1.4, N.º 340-883)

tagrprrveldadaasgafyaryrdgyvsgepwpgagppppgrvlygg1gdsrpgl
wgapeaeeararfeasgapapvwapelgdaaqyalitr1lytpdaeamgw1qnpr
vapgdvaldqacfrisgaarnsssfisgsvaravphlgyamaagrfgwglahvaa
vamsrrydraqkgfl1tslrrayapllarenaaltgartpddggdanrhdgdarg
kpaaaaaplpsaaaspaderavpagygaagvlaalgr1saapasapagaddddddd
gaggggggrraeagraveclaacrgilealaegfdgdlaavpglagarpaapprp
gpagaaapphadapr1rawlrelrfvrdalvlmrlrgdlrvaggseaavaavrav
lvagalgp1prsprllssaaaaadllfqnqslrp1ladtvaaads1aapasapr
earkrkspaparappggaprppkksradaprpaappagaappapptppprpprpa
altrrpaegpdpqggwrrqppgpshtpapsaaaleayca

SEQ ID NO: 13 = fragmentos internos de ICP4 (RS1.5, N.º 775-1318)

aaads laapasaprearkrkspaparappggaprppkksradaprpaappagaap
papptppprpprpaaltrrpaegpdpqggwrrqppgpshtpapsaaaleaycapra
vaelt dhplfpapwrpalmfdpralasilaarcaaapppggapaa fgplrasgplrra
aawmrqvpdpedvrvvilysplpgedlaagr agggpppewsaergglscillaaln
rlcgpataawagnwtgapdvsalgaqgvlllstrdlafagaveflgllagacdrri
ivnavraadwpadgpvvsrqhaylacevlpavqcavrwpaardlr rtvlasgrvf

gpgvfarveaaharlypdapplrlcrganvryrvtrrfgpdtlvpm spreyr ravl
paldgraaasgagdamapgapdfcedeahshracarwglgaplrpvyvalgrdavr
ggpaelrgprrefcarallepdgdapplvlrddadagpppqirwasaagragtvla
aaggvvevgt aaglatpprrepvmdaeledddddglfge

SEQ ID NO: 14 = fragmentos internos de ICP4 (RS1.6, N.º 209-1318)

hrrrraprrrrsaasdssks gssssassassssassssssasassssddddd
aarapasaadhaaggtlgadde eagvparapgaaprpsppraepapartpaatagr
lerrraraavagrdatgrftagrprrrveldadaasgafyaryrdgyvsgepwpagg
ppppgrvlygglgdsrpglw gapeaeeararfeasgapapvwapelgdaaqyali
trllytpdaeamgwlnprvapg dvaldqacfrisgaarnsssfisgsvaravphl
gyamaagrfgwglahvaaavamsrrydraqkgfltslrrayapllarenaaltga
rtpdggdanrhgdgdargkpaaaaaplpsaaaspaderavpagygaagvlaalgr
lsaapasapagadddddddgaggggggrraeagr vaveclaacrgilealaegfdg
dlaavp glagarpaapprpgpaga aapphadaprllrawlrelrfvrdalvlmrlrg
dlrvaggseaavaavravslvagalgpalprsprllssaaaaadllfqnqslrpl
ladtvaaads laapasaprearkrkspaparappggaprppkksradaprpaapp
agaappapptppprpprpaaltrrpaegpdpqggwrrqppgpshtpapsaaaleay
capravaelt dhplfpapwrpalmfdpralasilaarcaaapppggapaa fgplrasg
plrraaawmrqvpdpedvrvvilysplpgedlaagr agggpppewsaergglscill
aalgnrlcgpataawagnwtgapdvsalgaqgvlllstrdlafagaveflgllaga
cdrriivnavraadwpadgpvvsrqhaylacevlpavqcavrwpaardlr rtvla
sgrvfgpgvfarveaaharlypdapplrlcrganvryrvtrrfgpdtlvpm sprey
rravlpaldgraaasgagdamapgapdfcedeahshracarwglgaplrpvyvalg
rdavrggpaelrgprrefcarallepdgdapplvlrddadagpppqirwasaagra
gtvlaaaggvvevgt aaglatpprrepvmdaeledddddglfge

SEQ ID NO: 15 = fragmentos internos de ICP4 (RS1.7, delección de 391-544)

msaeqrkkkktttttqgrgaevamadedggrlraaaettggpgspdpadgppptpn
pdrarpaarpfgwhggpeenedeaddaaadadadeaapasgeavdepaadgvvspr
qlallasmvdeavrtipsppperdgageeaarspspprtpsmradygeendddddd
ddddrdagrwrvgpettsavrgaypdpmaslsprppaprrhhhhhhrrrrraprr
rsaasdssksgssssassassssassssssasasssdddddddaarapasaadhaagg
tlgaddeeagvparapgaaprpsppraepapartpaatagrlerrraraavagrda
tgrftagrprrveldadaasgafyaryrdgyvvsgepwpgagppppgrvlygglgar
tpddggdanrhdgddargkpaaaaaplpsaaaspaderavpagygaagvlaalgrl
saapasapagadddddddgagggggrraeagraveclaacrgilealaegfdgd
laavpglagarpaapprpgpagaaapphadaprlrawlrelrfvrda lvmrlrgd
lrvaggseaavaavravslvagalgpalprsprllssaaaaadllfqngslrpll
adtvaaadslaapasapreakrksppaparappggaprrppkksradaprpaaappa
gaappapptppprpprpaaltrrpaegpdpqggwrrqppggshtpapsaaaleayc
apravaeltdhplfpapwrpalmfdpralaslaraaapppggapaaafgplrasgp
lrraaawmrqvpdpedvrvvilysplpgedlaagraggpppewsaergglsclla
algnrlcgpataawagnwtgapdvsalgaggvlllstrdla fagaveflgllagac
drriivnavraadwpadgpvvsrqhaylacevlpavqcavrwpaardlrvtlas
grvfgpgvfarveaaharlypdapplrlcrganvryrvtrrfgpdtlvpmspreyr
ravlpaldgraaasgagdamapgapdfcedeahshracarwglgaplrpyvalgr
davrggpaelrgprrefcarallepdgdapplvlrddadagpppqirwasaagrag
tvlaaagggvevvgt aaglatpprrepvmdaeledddddglfge

SEQ ID NO: 16 = fragmentos internos de ICP4 (RS1.8, delección de 786-864)

m saeqrkkkktttttqgrgaevamadeggrlraaaettggpgspdpadgppptpnpdrpaaarpqfg
whggpeenedeaddaaadadadeaapasgeavdepaadgvvsprqlallasmvdeavrtipsppperd
gaggeaarspsprrtpsmradygeenddddddrrdagrwvrgpettsavrgaypdpmaslsprp
paprhhhhhhrrrrraprrrrsaasdsksqssssassassssssasasssdddddadarapas
aadhaaggtlgaddeegvparapgaaprpsppraepapartpaatagrlerrraraavagrdatgrf
tagrprrveldadaasgafyaryrdgyvvsgepwpgagppppgrvlygglgdsrpglwgapeaeearar
feasgapapvwapelgdaaqyalitrlllytpdaeamgwlnprvapgddvaldqacfrisgaarnsss
figsvaravphlgyamaagrfgwglahvaaavamsrrydraqkgfltslrrayapllarenaaltg
artpddggdanrhgdgdargkpaaaaaplpsaaaspaderavpagygaagvlaalgrlsaapasapag
adddddddgaggggggraeagraveclaacrgilealaegfdgdlaavpglagarpaapprpgpag
aaapphadaprllrawlrelrfvrdalvlmrlrgdlrvaggseaavaavravslvagalgpalprsprl
lssaaaaadllfqnqslrplladtvaaadslaapastpapsaaaleaycapravaelt dhplfpapw
rpalmfdpralaslaraappppgapaafgplrasgplrraaawmrqvpdpedvrvvilysplpged
laagragggpppewsaergglscillaalgnrlcgpataawagnwtgapdvsalgaqgvlllstrdlaf
agaveflgllagacdrllivnavraadwpadgppvvsrqhaylacevlpavqcavrwpaardlrrtv
asgrvfgpgvfarveaaharlypdapplrlcrganvryrvtrrfgpdtlvpmspreyrravlpaldgr
aaasgagdamapgapdfcedeahshracarwglgaplrpvyvalgrdavrggpaelrgprrefcaral
lepdgdapplvlrddadagpppqirwasaagragtvlaaagggvevvgtaaglatpprrepvmdael
eddddglfge

SEQ ID NO: 17 = secuencia predicha para uracil ADN glicosilasa (codificada por UL2)

MFSASTTPEQPLGLSGDATPPLPTSVPLDWAAFRRRAFLIDDAWRPLLEPELANPLTARLLAEYDRRCQ
TEEVLPREDVFSWTRYCTPDDVRVVIIGQDPYHHPGQAHGLAFSVRADVPVPPSLRNVLAAVKNCYP
DARMSGRGCLEKWARDGVLLLNTTLTVKRGAAASHSKLGWDRFVGGVVQRLAARRPGLVFMWGAHAQ
NAIRPDPRQHYVLKFSHPSPLSKVPFGTCQHFLAANRYLETRDIMPIDWSV

5

SEQ ID NO: 18 = secuencia predicha para proteína del tegumento codificada por UL11

MGLAFSGARPCCCRHNVITTDGGEVVS LTAHEFDVVDIESEEEGNFYVPPDVRVVTAPGPQYRRASD
PPSRHTRRRDPDVARPPATLTPPLSDSE

10

SEQ ID NO: 19 = gL2 secretada

NRWGFVCLFGLVVMGAWGAWGGSQATEYVLRSVIAKEVGDILRVPCM
RTPADDVSWRYEAPSVIDYARIDGIFLRYHCPGLDTFLWDRHAQRAYLVNPFLEAAGFLEDLSHSVFP
ADTQETTTTRALYKEIRDALGSRKQAVSHAPVRAGCVNFDYSRTRRCVGRDLRPANTTSTWEPPVSS
DDEASSQSKPLATQPPVLALSNAAPRRVSPTRGRRRHTRLRRN

15

SEQ ID NO: 20 = secuencia predicha para VP5 codificada por UL19

DYDIPTTENLYFQGM AAPARDPPGYRYAAAMVPTGSILSTIEVASHRRLEDFDFARVRS
 DENSLYDVEFDALLGSYCNLTLSLVRFLELGLSVACVCTKFPPELAYMNEGRVQFEVHQPLIARDGPHPV
 EQPVHNYMTKVIDRRALNAAFSLATEAIALLTGEALDGTGISLHRQLRAIQQLARNVQAVLGAFERGT
 ADQMLHVLLKAPPLALLLPMQRYLDNGRLATRVARATLVAELKRSFCDTSSFFLGKAGHRREATEAWL
 VDLTTATQPSVAVPRLTHADTRGRPV DGVLVTTAAIKQRLLQSFLKVEDTEADVPTYGEMVLNGANL
 VTALVMGKAVRSLDDVGRHLLMQEEQLEANRETLDLELESAPQTTRVRADLVAIGDRLVPLEALEKRI
 YAATNVPYPLVGM DLT FVLP LGLFN PAMERFAAHAGDLVPAPGHPEPRAFP PRQLFFWGKDHQVLRRL
 SMENAVGTVCHPSLMNIDA AVGGVNHDPVEAANPYGAYVAAPAGPGADMQQREFLNARQLAHGRVRW
 VAECQMTAEQFMQPDNANLAL E LHPAFDFFAGVADVELPGGEVPPAGPGAIQATWRVVNGNLP LALCP
 VAFRDARGLELGVGRHAMAPATIAAVRGAFEDRSYP AVFYLLQAAIHGSEHVFCALARLVTQCITSYW

NNTRCAAFVNDYSLVSYIVTYLGGDLPEECMAVYRDLVAHVEALAQLVDDFTLPGPELGGQAQAE LN H
 LMRDPALLPPLVWDCDGLMRHAALDRHRDCRIDAGEHEPVYAAACNVATADFN RNDGRLLHNTQARAA
 DAADDRPHRPADWTVHHKIYYYVLVPAF SRGRCC TAGVRFDRVYATLQNMVVPEIAPGEECP SDFVTD
 PAHPLHPANLVANTVNAMEFHNGRVVVDGPAMLT LQVLAHNMAERTTALLCSAAPDAGANTASTANMRI
 FDGALHAGVLLMAPQHLDHTIQNGEYFYVLPVHALFAGADHVANAPNFPPALRDLARHVP LVPPALGA
 NYFSSIRQPVVQHARESAAGENALTYALMAGYFKMSPVALYHQLKTGLHPGFGFTVVRQDRFVTENVL
 F SERASEAYFLGQLQVARHETGGGV SFTLTQPRGNVDLGVGYTAVAATATVRNEVTD MGNLPQNFYLG
 RGAPPLLDNAAAVYLRNAV VAGNRLGPAQPLPVFGCAQVPRRAGMDHGQDAVCEFIATPVATDIN YFR
 RPCNPRGRAAGGVYAGDKEGDVIALMYDHGQSDPARPFAATANPWASQRF SYGDLLYNGAYHLNGASP
 VLSPCFKFFTAADITAKHRCLERLIVETGSAVSTATAASDVQFKRPPGCRELVEDPCGLFQEAYPITC
 ASDPALLRSARDGEAHARETHFTQYLIYDASPLKGLSL

SEQ ID NO: 21 = VP5 codificada por UL19ΔTEV

MAAPARDPPGYRYAAAMVPTGSILSTIEVASHRRRLFDFARVRSDENSLYDVEFDALL
 GSYCNTLSLVRFLELGLSVACVCTKFPELAYMNEGRVQFEVHQPLIARDGPHPVEQPVHNYMTKVIDR
 RALNAAFSLATEAIALLTGEALDGTGISLHRQLRAIQQLARNVQAVLGAFERGTADQMLHVLEKAPP
 LALLLPMQRYLDNGRLATRVARATLV AELKRSFCDTSEFFLGKAGHRREAIEAWLVDLTTATQPSVAVP
 RLTHADTRGRPV DGVLVTTAAIKQRLLSFLKVEDTEADVPVITYGEMVLNGANLVTALVMGKA VRSLD
 DVGRHLL EMQEEQLEANRETLDELESAPQTTRVRADLV AIGDRLVFL EALEKRIYAATNVPYPLVGAM
 DLTFVLP LGLFN PAMERFAAHAGDLVPAPGHEPEPRAFFPRQLFFWGKDHQVLR LLSMENAVGTVCHP SL
 MNIDAAVGGVNHDPVEAANPYGAYVAAPAGPGADMQRFLNAWRQRLAHGRVRWVAECQMTAEQFMQP
 DNANLAL ELHPAFDFFAGVADVELPGGEVPPAGFGAIQATWRVVNGNLP LALCFVAFRDARGLELGVG
 RHAMAPATIAAVRGAFEDRSYPVAVFYLLQAAIHGSEHVFCALARLV TQCITSYWNTRCAAEVNDYSL
 VSYIVTYLGGDLPEECMAVYRDLVAHVEALAQLVDDFTLPGPELGGQAQAE LNHLMRDPALLPPLVWD
 CDGLMRHAALDRHRDCRIDAGEHEPVYAAACNVATADFN RNDGRL LHNTQARAADAADDRPHRPADWT
 VHKKIYYYVLVPAFSRGRCTAGVRFDRVYATLQNMVVPEIAPGEECP SDEPVTDEAHP LHPANLVANT
 VNAMFHNGRVVVDGPAMLT LQVLAHNMAERTTAL LLSAAPDAGANTASTANMRIFD GALHAGVLLMAP
 QHLDHTIQNGEYFYVLPVHALFAGADHVANAPNFPF PALRDLARHVPLVPPALGANYFSSIRQPVVQHA
 RESAAGENALTYALMAGYFKMSPVALYHQLKTGLHPGFGFTVVRQDRFVTENVLF SERASEAYFLGQL
 QVARHETGGGVSFTLTQPRGNVDLGVGYTAVAATATVRN PVTDMGNLPQNFY LGRGAPPLDNAAAVY
 LRNAV VAGNRLGPAQPLPVFGCAQVPRRAGMDHGD AVCEFIATPVATD INYFRRPCNPRGRAAGGVY
 AGDKEGDVIALMYDHGQSDPARPFAATANEWASQRF SYGDLLYNGAYHLNGASEVLSFCFKFFTAADI
 TAKHRCLERLIVETGSAVSTATAASDVQFKRPPGCRELVEDFCGLFQEAYPITCASDPALLRSARDGE
 AHARETHFTQYLIYDASPLKGLSL

SEQ ID NO: 22 = secuencia predicha para ICP1/2 codificada por UL36

MIPAALPHPTMKRQGDRIVVTGVRNQFATDLEPGGSVSCMRSSLSFLSLLFDVGPDRVLSAEATEGC
LVEGGEWTRAAAGSGPPRMCSI IELPNFLEYPAAAGGLRCVFSRVYGEVGGFFGEPTAGLLETQCPAHT
FFAGPWAMRPLSYTLLTIGPLGMGLYRDGDTAYLFDPHGLPAGTPAFIAKVRAGDVYPYLTYAHDRP
KVRWAGAMVFFVPSGPGAVAPADLTAALHLYGASETYLQDEPFVERRVAITHPLRGEIGGLGALFVG
VVPRGDGEGSGPVVPALPAPTHVQTPGADRPEAPRGASGPPDTPQAGHPNRPPDDVWAAALEGTPPA
KPSAPDAAASGPPHAAPPQTPAGDAAEEAEDLRVLEVGAVPVGRHRARYSTGLPKRRRPTWTPPSSV
EDLTSGERFAPKAPPKAKKKSAPKKKAPVAAEVPASSPTPIAATVPPAPDTPPQSGQGGDDGPASP
SSPSVLETLGARRPPEPPGADLAQLFEVHPNVAATAVRLAARDAALAREVAACSQLTINALRSPYPAH
PGLLELCVIFFFERVLAFLEIENGARTHTQAGVAGPAAALLDFTLRMLPRKTAVGDFLASTRMSLADVA
AHRPLIQHVLDENSQIGRLALAKLVLVARDVIRETDAFYGDLADLDLQLRAAPPANLYARLGEWLLER
SRAHPNTLFAPATPTHPEPLLHRIQALAQFARGEEMRVEAEAREMREALDALARGVDSVSQRAGPLTV
MPVPAAPGAGGRAPCPPALGPEAIQARLEDVRIQARRAIESAVKEYFHRGAVYSAKALQASDSHDCRF
HVASAAVPMVQLLESPLAFDQHTRDVAQRAALPPPPPLATSPQAILLRDLQRGQPLDAPEDLAOWL
SVLTDAAATQGLIERKPLEELARSIHGINDQQARRSSGLAELQRFDALDAALAQQLDSDAAFVPATGPA
PYVDGGGLSPEATRMAEDALRQARAMEAAKMTAELAPEARSRLRERAHAEAMLNDARERAKVAHDAR
EKFLHKLQGVLRPLPDFVGLKACPAVLATLRASLPAGWTDLADAVRGGPPPEVTAALRADLWGLLGQYR
EALHPTPDTATALAGLHPAFVVVLKTLFADAPETPVLVQFFSDHAPTIAKAVSNAINAGSAAVATAS
PAATVDAAVRAHGALADAVSALGAAARDPASPLSFLAVLADSAAGYVKATRLALEARGAIDELTTLGS
AAADLVVQARRACAQPEGDHAALIDAAARATTAARES LAGHEAGFGGLLHAEGTAGDHSPSGRALQEL
GKVI GATR RRADELEAAVADLTAKMAAQRRAGSSERWAAGVEAALDRVENRAEFDVVELRRLQALAGT
HGYNPRDRFRKRAEQALAAANAEAVTLALDTAFANPYTPENQRHPMLPLAAIHRLGWSAAFHAAAETY
ADMFRVDAEPLARLLRIAEGLEMAQAGDGFIDYHEAVGRLADDMTSVPGLRRYVPPFFQHGYADYVEL
RDRLDAIRADVHRALGGVPLDLAAAAEQISAARNDPEATAELVRTGVTLPCPSEDALVACAAALERVD
QSPVKNTAYAEYVAFVTRQDTAETKDAVVRAKQQRAEATERVMAGLREALAARERRAQIEAEGLANLK
TMLKVVAVPATVAKTLDQARSVAE IADQVEVLLDQTEKTRELDVPAVIWLEHAQRTFETHPLSAARGD
GPGPLARHAGRIGALFDTRRRVDALRRSLEEAEEAEWDEVWGRFGRVRRGGAWKSPEGFRAMHEQLRALQ
DTNTVSGLRAQPAYERLSARYQGVLGAKGAERAEAVEELGARVTKHTALCARLRDEVVRRVPWEMNF
DALGGLLAEFDAAAADLAPWAVEEFRGARELIQYRMGLYSAYARAGGQTGAGAESAPAPLLVDLRALD
ARARASSPEGHEVDPQLRRRGEAYLRAGGDGPLVLRREAVSALDLPFATSFLAPDGTPLQYALCFP
AVTDKLGALLMRPEAACVRPPLPTDVLESAPTVTAMYVLTVVNRLQLALSDAQAANFQLFGRFVRHRQ
ATWGASMDAAAELYVALVATTLTREFGCRWAQLGWASGAAAPRPPPGPRGSQRHCVAFNENDVLVALV
AGVPEHIYNFWRLDVRQHEYMHLTLERAFEDAAESMLFVQRLTPHPDARIRVLPTFLDGGPPTRGLL
FGTRLADWRRGKLSSETDPLAPWRSALGLGTQRRDVPALGKLSPAQALAAVSVLGRMCLPSAALALWT
CMFPDDYTEYDSFDALLAARLESQTLGPAGGREASLPEAPHALYRPTGQHVAVLAAATHRTPAARVT
AMDVLVLAAVLLGAPVVVALRNNTTAFSRESELELCLTLFDSRPGGPDAAALRDVVSSDIETWAVGLLHTD
LNP IENACLAALQPLRLSALIAERPLADGPPCLVLVDISMTPVAVLWEAPEPPGPPDVRVFGSEATEEL
PFVATAGDVLAASAADADPFFARAILGRPFDA SLLTGELFPGHPVYQRPLADEAGPSAPTAARDPRDL
AGGDGSGPEDPAAPPARQADPGVLAPTLTLDATTGEPVPPRMWAWIHGLEELASDDAGGPTPNPAPA
LLPPPATDQSVPTSQYAPRPIGPAATARETRPSVPPQONTGRVPVAPRDDPRSPPTPSPPADAALPP

PAFSGSAAAFSAAVPRVRRSRRTRAKSRAPRASAPPEGWRPPALPAPVAPVAASARPPDQPPTPESAP
PAWVSALPLPPGPASARGAFPAPTLAPIPPPPAEGAVVPGDRRRGRRRQTTAGPSPTPPRGPAAGPPR
RLTRPAVASLSASLNSLPSPRDPADHAAAVSAAAAVPPSPGLAPPTSAVQTSPPPLAPGPFVAPSEPL
CGWVVPGGPVARPPPPQSPATKPAARTRIRARSVPQPPLPQPPLPQPPLPQPPLPQPPLPQPPLPQPP
LPQPPLPQPPLPQPPLPQPPLPVTRTLTPQSRDSVPTPESPTHNTNHLVSAVTSWASSLALHVDSA
PPPASLLQTLHISSDDEHSDADSLRFSDDTEALDFLPPEPHLPPADEPPGPLAADHLQSPHSQFGP
LPVQANAVLSRRYVRSTGRSALAVLIRACRRIQQQLQRTRRALFQRSNAVLTSLHHVRMLLG

SEQ ID NO: 23 = fragmentos internos de ICP1/2 codificados por UL36.3.4.1

AAQRARGSSERWAAGVEAALDRVENRAEFDVVVELRRLQALAGTHGYNPRDFRKRAEQA
LAANA EAVTLALDTAFANPYTPENQRHMLPPLAAIHR LGWSAAFHAAAETYADMFRVDAEPLARLL
RIAEG LLEMAQAGDGFIDYHEAVGRLADDMT SVPG LRRYV PFFQHGYADYVELRDRLDAIRADVHRAL
GGVPLDLAAAAEQISAARN DPEATAELVRTGVTLPCP SEDALVACAAA LERVDQSPVKNTAYAEYVAF
VTRQDTAETKDAVVRAKQQRAEATERVMAGLREALAARERRAQIEAEG LANLKTMLKVAVPATVAKT
LDQARSVAEIADQVEVLLDQTEKTRELDVPAVIWLEHAQRTFETHPLSAARGDGPGLARHAGRLGAL
FDTRRRVDALRRSLEEAEAEWDEVWGRFGRVRRGGAWKSPEGFRAMHEQLRALQDTTNTVSGLRAQPAY
ERLSARYQGV LGAKGAERAEAVEELGARVTKHTALCARLRDEVVRRVPWEMNFDALGGLLAEFDAAAA
DLAPWAVEEFRGARELIQYRMGLYSAYARAGGQTGAGAESAPAPLLVDLRLDARARASSSPEGHEVD
PQLRRRGEAYLRAGGDFPLVLR EAVSALDLPFATSFLAPDGTPLQYALCFPAVTDKLGALLMRPEA
ACVRPPLPTDVLESAPVTAMYVLTVVNRLQLALS DAQAANFQLFGRFVRHRQATWGASMDAAAEYV
ALVATTLTREFGCRWAQLGWASGAAAPRPPPGPRGSQRHCVAFNENDVLVALVAGVPEHIYNFWRLDL
VRQHEYMHLTLERAFEDAAESMLFVQRLTPHPDARIRVLP TFLDGGP PTRGLLFGTRLADWRRGKLS E
TDPLAPWRSAL ELGTQRRDVPALGKLSPAQALAAVSVLGRMCLPSAALALWTCMFPDDYTEYDSFDA
LLAARLESQTLGFPAGGREASL

SEQ ID NO: 24 = fragmentos internos de ICP1/2 codificados por UL36.4.2.5

MFGQQLASDVQOYLERLEKQRQOKVGVDEASAGLTLGGDALRVPELDFATATPKRHQTVVPGVGTLDH
CCEHSPLFSAVARRLLFNLSLVPALRGRDFGDDHTAKLEFLAPELVRAVARLRFRECAPEDAVPQRNA
YYSVLNTEFQALHRSEAFRQLVHFVVRDFAQLLKTSEFRASSLAETTGPPEKRAKVDVATHGQTYGTLELF
QKMILMHATYFLAAVLLGDHAEQVNTFLRLVFEIPLFSDTAVRHFRQRATVFLVPRRHGKTWFLVPLI
ALSLASFRGIKIGYTAHIRKATEPVFDEIDACLRGWFGSSRVDHVKGETISFSFPDGSRSSTIVFASSH
NTNGIRGQDFNLLFVDEANFIRPDVQTIMGFLNQANCKIIFVSSSTNTGKASTSFLYNLRGADELLEN
VVTYICDDHMPPRVVTHNATACSCYILNKPVFITMDGAVRRRTADLELFDSEFMQEIIGGQARETGDDRP
VLTKSAGERFLLYRPTTTNSGLMAPELYVYVDPFAFTANTRASGTGIAVVGRYRDDFIIFALEHFFLR

ALTGSAPADIARCVVHSLAQVLAALHFGAFRSVRVAVEGNSSQDSAVAIATHVHTEMHRILASAGANGP
GPELLFYHCEPPGGAVLYPFFLLNKQKTPAFEFYIKKFNSGGVMASQELVSVTVRLQTDVPVEYLSEQL
NNLIETVSPNTDVRMYSGKRNGAADDLMVAVIMAIYLAAPTGIPPAFFPIIRTS

SEQ ID NO: 29 = secuencia predicha para ICP35 codificada por UL26.5

MNEVVSASGAPAPPPPGDGSYLWIPASHYNQLVTGQSAPRHPPLTACGLPAAGTVAYGHPGAGPSPHY
PPPAHPYPGMLFAGPSPLEAQIAALVGAIAADRQAGGLPAAAGDHGIRGSAKRRRHEVEQPEYDCGRD
EPDRDFPYYPGEARPEPRPVDSRRAARQASGPHEITITLVGAVTSLQQELAHMRARTHAPYGPYPVVG
PYHHPHADTETPAQPPRYPAKAVYLPPIAPPGLSGAVPPSYPPVAVTPGPAPPLHQPSPAHAH
PPPPPPGFTPPFAASLPQPEAPGAEAGALVNASSAAHVNVDTARAADLFVSQMMGSR

SEQ ID NO: 30 = secuencia predicha para polimerasa codificada por UL30

MFCAAGGPASFGGKPAARAASGFFAPHNPRGATQTAPPCRRQNFYNPHLAQTGTQPKALGPAQRHTY
 YSECDEFRFIAPRSLDEDAEAEQRTGVHDGRLRRAPKVYCGGDERDVLRVGPEGFWPRRLRLWGGADH
 APEGFDPTVTVFHVYDILEHVEHAYSMRAAQLHERFMDAITPAGTVITLLGLTPEGHRVAVHVYGRQ
 YFYMNKAEVDRHLQCRAPRDLCEERLAAALRESFGASFRGISADHFEAEVVERADVYYYETRPTLYYRV
 FVRSGRALAYLCDNFCPAIRKYEGGVDATTRFILDNPGFVTFGWYRLKPGRGNAPAQPRPPTAFGTSS
 DVEFNCTADNLAVEGAMCDLPAYKLMCFDIECKAGGEDELAFPPVAERPEDLVIQISCLLYDLSTTALE
 HILLFSLGSCDLPESHLSDLASRGLPAPVVLEFDSEFEMLLAFMTFVKQYGFVTVGNYINFDWPFV
 LTKLTEIYKVP LDGYGRMNGRGVFRVWDIGQSHFQKRSKIKVNGMVNIDMYGIITDKVKLSSYKLNVA
 AEAVLKDKKKDLSYRDI PAYYASGPAQRGVIGEYCVQDSSLVGLQFFKFLPHLELSAVARLAGINITR
 TIYDQQIRVFTCLLRLAGQKGFILPDTQGRFRGLDKEAPKRPAVPRGEGERP GDGNGDEDKDDDEDG
 DEDGDEREEVARETGGRHVGYQGARVLDPTSGFHVDPVVVDFASLYPSIIQAHNLCFSTLSLRPEAV
 AHLEADRDYLEIEVGGRRLEFFVKAHVRESLLSILLRDWLAMRKQIRSRIPQSTPEEAVLLDKQQAIAK
 VVCNSVYGFETGVQHGLLEPCLHVAATVTTIGREMLLATRAYVHARWAEFDQLLADFEAAGMRAPGPYS
 MRIIYGD TDSIFVLCRGLTAAGLVAMGDKMASHISRALFLPPIKLECEKTFTKLLLIAKKKYIGVICG
 GKMLIKGVDLVRKNNCAFINRTSRALVDLLFYDDTVSGAAAAAERPAEEWLARLPPEGLQAFGAVLV
 DAHRRITDPERDIQDFVLTAELSRHPRAYTNKRLAHLTVYYKLMARRAQVPSIKDRIPYVIVAQTREV
 EETVARLAALRELDAAAPGDEPAPPAALPSPAKRPRETPSHADPPGGASKPRKLLVSELAEDPGYAIA
 RGVPLNTDYFVSHLLGAACVTFKALFGNNAKITESLLKRFIPETWHPPDDVAARLRAAGFGPAGAGAT
 AEETRRMLHRAFDTLA

SEQ ID NO: 31 = secuencia predicha para complejo de helicasa/primasa codificado por UL5

MAASGGEGSRDVRAPGPPPQQPGARPVRFDEAF LNFTSMHGVQPIIARIRELSQQQLDVTQVPRLQ
 WFRDVAALEVPTGLPLREFPFAAYLITGNAGSGKSTCVQTLNEVLDCVVTGATRIAAQNMVVKLSGAF
 LSRPINTIFHEFGFRGNHVQAQLGQHPYTLASSPASLEDLQRRDLTYWVILDI TKRALAAHGGEDA
 RNEFHALTALEQTLGLGQALTRLASVTHGALPAFTRSNIIVIDEAGLLGRHLLTTVYCWWMINALY
 HTPQYAGRLRPVLVCGSPTQTASLESTFEHQKLRCSVRQSENVLTLYLICNRTLREYTRLSHWAIFI
 NNKRCVEHEFGNLMKVLEYGLPITEEHMQFVDRFVVPESYITNPANLPGWTRLFSSHKEVSAYMAKLNH
 AYLKVTREGEFVVFTLPVLTFFVSVKEFDEYRRLTQQPTLTMEKWI TANASRITNYSQSQDQDAGHVRC
 EVHSKQQLVVARNDITYVLNSQVAVTARLRKMFVGFDTGTFRTFEAVLRDDSEVKTQGETSVEFAYRFL
 SRLMFGGLIHFYNFLQRPGLDATQRTLAYGRLGELTAELLSLRRDAAGASATRAADTSDRSPGERAFN
 FKHLGPRDGGPDDFDDDLVDVIFAGLDEQQLDVFYCHYALEEPETTAAVHAQFGLLKRAFLGRYLILR
 ELFGEVFESAPFSTYVDNVIFRGCELLTGSPRGGLMSVALQTDNYTLMGYTYTRVFAFAEELRRRHAT
 AGVAEFLEESPLPYIVLRDQHGFMSSVNTNISEFVESIDSTELAMAINADYGISSKLAMTITRSQGLS
 LDKVAICFTPGNLRNLNSAYVAMSRTTSSEFLHMNLNPLRERHERDDVISEHILSALRDPNVVIVY

SEQ ID NO: 32 = secuencia predicha para complejo de helicasa/primasa codificado por UL8

MEAPGIVVVEESVSAITLYAVWLPPTTRDCLHALLYLVCRDAAGEARARFAEVSVGSDDLQDFYGS
 VSAPGAVAAARAATAPAAASPLEPLGDPTLWRALYACVLAALERQTGRWALFVPLRLGWDPTGLVVRV
 ERASWGPPAAPRAALLDVEAKVDVDP LALSARVAEHFGARLAWARLAAIRDSPQCASSASLAVTITTR
 TARFAREYTTLAFPPTRKEGAFADLVEVCEVGLRPRGHPQRVTARVLLPRGYDYFVSAGDGFSAFALV
 ALFRQWHTTVHAAPGALAPVFAFLGPGFEVRRGGPVQYFAVLGFPGWPTFTVPAAAAAAESARDLVRGAA
 ATHAACLGAWPAVGARVVLPPRAWPAVASEAAGRLLPAFREAVARWHPTATTIQLLDPAAVGPVWTA
 RFCF'SGLQAQLLAALAGLGEAGLPEARGRAGLERLDALVAAAPSEPWAVLERLVPDADCACPALRQ
 LLGGVMAAVCLQIEQTASSVKFAVCGGTGAFFWGLFNVDPGDADAHGAIQDARRALEASVRAVLSAN
 GIRPRLAPSLAPEGVYTHVVTWSQTGAWFNSRDDTDFLQGFPLRGAAYAAAAEVMRDALRRILRRPA
 AGPPEEAVCAARGVMEDACDRFVLDVAFGRRLDAEYWSVLTTPPGEADDP LPQTAFRGGALLDAEQYWR
 VVRVCPGGGESVGVVVDLYPRPLVLPVDCAHHLREILREIQLVFTGVLEGVWEGGGSFVYPFDEKIR
 FLFP

SEQ ID NO: 33 = secuencia predicha para proteína desconocida codificada por UL15.5

MDGAVRRITADLFLPDSFMQEI IGGQARETGDDRPVLTKSAGERFLLYRPSTTTNSGLMAPELYVYVDP
 AFTANTRASGTGIADVGRYRDDFI IFALEHFFLRALTGSAPAD IARCVVHSLAQVLALHPGAFRSVRV
 AVEGNSSQDSAVAIATHVHTEMHRI LASAGANGPPELLEFYHCEPPGGAVLYPFFLLNKQKTPAFEYF
 IKKFNSGGVMASQELVSVTVRLQTDVPEYLSEQLNLIETVSPNTDVRMYSKRNGAADDLMVAVIMA
 IYLAAPTGIPPAFFPITRTS

5

SEQ ID NO: 34 = secuencia predicha para proteína de escisión y empaquetamiento codificada por UL32

MATSAPGVPSAAVREESPGSSWKEGAFERPYVAFDPDLLALNEALCAELLAACHVVGVPASALDED
 VESDVAPAPPRRGAAREASGGRGPGSARGPPADPTAEGLLDTGPFAAAASVDTFALDRPCLVCRTIEL
 YKQAYRLSPQWVADYAFLLCAKCLGAPHCAASIFVAAFEFVYVMDHHLRTRKATLVGSFAFALTIND
 IHRHFFLHCCFRTDGGVPRHAQKQPRPTSPGAAKVQYSNYSFLAQSATRALIGTLASGGDDGAGAG
 AGGGSGTQPSLTTALMNWKDCARLLDCTEGKRGGGDSCTRAAARNGEFEAAAAGALAQQGEPETWAYA
 DLILLLLAGTPAVWESGPRLRAAADARRAAVSESWEAHRGARMRDAAPRFAQFAEPQFPDLDLGPLM
 ATVLKHGRGRGRTGGECLLNLVLRAYWLMRRLRASVVRYSENNTSLEFDCIVPVVDQLEADPEAQF
 GDGGRFVSLLRAGPEAIFKHMFCDEPMCAITEMEVDPPVFLFGHPRADHRDELQLHKAKLACGNEFEGR
 VCIALRALIYTFKTYQVFVPKPTALATFVREAGALLRRHSISLLSLEHTLCTYV

10

SEQ ID NO: 35 = secuencia predicha para fragmento de ICP1/2 codificado por UL36.4.2

MEYDSFDALLAARLESQTLGFPAGGREASLPEAPHALYRPTGQHVAVLAAATHRTPAARVTAMDVLVA
 AVLLGAPVVVALRNNTAFSRESELELCLTLFDSRPGPDAAALRDVVSVDIETWAVGLLHTDLNPIENA
 CLAAQLPRLSALIAERP LADGPPCLVLVDISMTPVAVLWEAPEPPGPPDVRVFGSEATEELPFVATAG
 DVLAASAADADPFFARAILGRPFDA SLLTGELEFPGHPVYQRPLADEAGPSAPTAARDPRDLAGDGGGS
 GPEDFAAPPARQADPGVLAPTLLTDATTGEPVPPRMWAWIHGLEELASDDAGGPT

15

SEQ ID NO: 36 = secuencia predicha para ICP27 codificada por UL54

MATDIDMLIDLGLDLSSELEEDALERDEEGRDDPESDSSGECSSSEDEMEDPCGDGGAEIDAAP
KGPPARPEDAGTPEASTPRPAARRGADDFPATTGVWSRLGTRRSASPREPHGGKVARIQPPSTKAPH
PRGGRRRGRGRGRYGPGGADSTPKPRRRVSRNAHNQGGRRHPASARTDGP GATHGEARRGGEQLDVSG
GPRPRGTRQAPPFLMALSITPPHADGRAPVPERKAPSADTIDPAVRAVLRISERAAVERISESFGRS
ALVMQDPFFGGMPFPAANSPWAPVLATQAGGFDAETR RVSWETLVAHGPSLYRTFAANPRAASTAKAMR
DCVLRQENLIEALASADETLAWCKMCIHNLPLRPQDPIIGTAAAVLENLATRLRPFLQCYLKARGLC
GLDDLCRRRLSDIKDIASFVLVILARLANRVERGVSEIDYTTVGVGAGETMHFYIPGACMAGLIEIL
DTHRQECSSRVCELTASHTIAPLYVHGKYFYCNSLF

SEQ ID NO: 37 = proteína viriónica codificada por UL49.5

MTGKPARLGRWVLLFVALVAGVPGEPNNAAGARGVIGDAQCRGDSAGVVSVPGLVLP
FYLGMTSMGVCMIAHVYQICQRALAAGSA

5

SEQ ID NO: 38 = gG2 codificada por US4

NRWGSVPEINPPNSDVVFPGGSPVAQYCYAYPRLDDPGPLGSADA
GRQDLPRRVVRHEPLGRSFLTGGVLVLLAPPVRGFGAPNATYAARVTYYRLTRACRQPILLRQYGGCRG
GEPSPKTCGSYTYTYQGGGPPTRYALVNASLLVPIWDRAAETFEYQIELGGELHVGLLWVEVGEGP
GPTAPPQAARAEGGPCVPPVPAGRPWRSVPPVWYSAPNPGFRGLRFRERCLPPQTPAAPSDLPRVAFA
PQSLLVGITGRTFIRMARPTEDVGVLPHPWAPGALDDGPYAPFPPRPRFR

10

SEQ ID NO: 39 = secuencia de nucleótidos para RS1 (ICP4), longitud completa

ATGTCGTA CTACCATC ACCATC ACCATC ACAGTG CCGAAC AGCGTAAAAAGAAAAAAC CACCACCAC
 GACCCAAGGACGTGGAGCTGAAGTTGCTATGGCGGATGAGGATGGAGGCCGCTTGAGAGCTGCTGCTG
 AGACTACTGGAGGACCTGGATCACCGGACCCTGCCGATGGACCCCCCTACACCAAACCCCGATCGT
 AGACCGGCTGCTAGACCTGGATTCCGATGGCATGGAGGACCCGAGGAAAACGAGGACGAGGCCGACGA
 CGCCGCTGCCGACGCCGACGCCGATGAGGCTGCCCTGCTTCTGGAGAGGCCGTAGACGAACCTGCTG
 CCGATGGAGTTGTTAGCCCTAGGCAATTGGCTTTGTTGGCGAGCATGGTAGACGAGGCTGTGAGAACA
 ATCCCTTCCCCCTCCCCCTGAACGTGATGGAGCACAAAGAGGAGGCCGCTAGGAGTCCCTCACCACCCCG
 TACACCTTCTATGAGAGCGGATTACGGCGAGGAAAACGACGACGACGACGATGATGATGACGACGATG
 ATCGTGATGCCGGACGCTGGGTTAGGGGACCTGAAAACCACTTCTGCTGTCCGTGGAGCATAACCCCGAT
 CCTATGGCGAGTTTGGAGCCCTAGACCACCTGCCCGGAGGAGACACCACCACCACCACCATCATAGGCC
 TAGACGTGCTCCTAGACGTGTTCTGCCGCTAGTGACTCTTCCAAATCTGGCTCTTCTTCATCTGCCT
 CTTCCGCTTCATCTTCGGCCTCATCGTCTCTTCGGCATCCGCTTCGAGTAGTGATGATGATGATGAC
 GACGACGCTGCTAGAGCCCCGCTTCTGCTGCCGACCACGCTGCTGGCGGAAC TTTGGGAGCCGACGA
 CGAGGAGGCCGGGAGTTCTGCTCGTGCCCCGGGAGCTGCTCCGAGGCC TTTCCACCCCGTGTGAAC
 CTGCTCCGGCTAGAACACCGGCCGCTACTGCTGGTAGACTGGAGCGTAGACGTGCCCGTGTGCTGTG
 GCTGGTAGAGATGCTACTGGCCGCTTCACTGCTGGCCGTCCTAGACGTGTTGAACTGGACGCCGATGC
 TGCTTCTGGTGCTTTCTACGCCCGTTACCGTGATGGTTACGTGTCTGGTGAACCTTGGCC TGGCGCTG
 GTCCACCTCCGCCCGGACGTGTACTCTACGGTGGATTGGGCGATTCTCGCCCTGGTCTGTGGGGCGCT
 CCGGAGGCTGAGGAGGCTAGAGCCCGTTTCGAGGCTTCTGGTGCCCCTGCTCCTGTTTGGGCTCCTGA
 ATTGGGCGACGCTGCTCAACAATAACGCCCTCATCACACGCTTGCTGTACACTCCCGACGCCGAGGCTA
 TGGGATGGCTCCAAAACCCCTAGAGTTGCCCTGGTGATGTTGCTCTGGATCAGGCTTGTTCCGTATC
 TCCGGCGCTGCTCGTAACTCTTCTTCGTTTCTCCGGTTCTGTGGCTAGAGCTGTGCCTCACTTGGG
 ATACGCCATGGCCGCTGGACGTTTCGGCTGGGGACTGGCTCATGTTGCTGCCGCTGTAGCAATGTCTA
 GACGCTACGACCGTGTCTCAAAAAGGATTCTTGCTCACGTCCTGAGGCGTGCTTACGCCCTTTGTG
 GCCCGTGAAAACGCTGCCCTCACTGGCGCCCGTACCCCGATGACGGTGGCGACGCCAACGCCACGA
 TGGTGATGATGCTAGAGGCCAAAACCCGCTGCCGCTGCTGCTCCTTTGCCCTCTGCCGCCGCTTCCCCG
 CCGATGAACGTGCTGTTCCCTGCCGGTTACGGTGGCGCTGGTGTGTTGGCTGCTTTGGGACGCTTGAGT
 GCTGCCCGGCTAGTGCCCCGCTGGTGCCGATGACGATGACGATGACGATGGTGCTGGCGGAGGCCG
 TGGCGGTAGACGTGCTGAGGCTGGACGTGTTGCTGTTGAATGCC TGGCTGCCCTGTAGAGGAATCTGG
 AGGCTCTGGCCGAGGGATTGACGGAGACTTGGCGGCTGTACCGGACTGGCGGGAGCGAGGCC TGCC
 GCTCCACCTCGCCCCGGTCTCTGCTGGTGCTGCCGCTCCTCCTCATGCCGACGCTCCTAGACTCCGTGC

TTGGCTCCGTGAACCTCCGTTTCGTTTCGTGACGCTTTGGTTCTGATGAGACTGAGAGGCGACTTGAGAG
 TGGCTGGAGGATCCGAGGCTGCTGTTGCTGCTGTCCGTGCTGTTTCTTTGGTTGCTGGTGCTTTGGGC
 CCTGCTTTGCCGAGATCTCCCCGTTTGTGTGCGAGTGCCGCCGCTGCTGCCGCCGATTGTTGTTCCA
 AAACCAATCCCTCCGCCCTCTGCTCGCCGACACTGTTGCCGCTGCCGATTCTCTGGCTGCTCCGGCTT
 CTGCCCCACGTGAAGCTCGTAAACGTAAATCACCCGCTCCGGCTCGTGCTCCCCCTGGTGCGCCCCCT
 AGACCCCTAAAAAATCCCGTGCCGATGCCCTAGACCTGCTGCTGCTCCCCCGCTGGTGCTGCTCC
 CCCCCTCCCCCTACTCCCCCCCCACGCCACCTCGTCCCGCTGCCCTCACACGCCGTCCTGCTGAGG
 GACCCGATCCACAAGGCGGCTGGCGTAGACAACCTCCTGGCCATCCCATACACCGGCACCATCTGCC
 GCTGCTTTGGAGGCTTACTGTGCTCCTCGTGCTGTGGCTGAACTCACCGATCATCCGCTGTTCCCTGC
 TCCCTGGCGTCCCGCCCTCATGTTGATCCTAGAGCTTTGGCTTCTTGGCCGCTCGTTGTGCTGCC
 CTCCCCCTGGCGGTGCTCCGGCTGCTTTCCGGTCTCTCCGTGCCCTCTGGTCCACTCCGCCGTGCCGCT
 GCCTGGATGAGACAAGTTCCCGACCTGAGGATGTTAGAGTTGTGATCTTGACTCGCCCTTGCCCTGG
 CGAGGATTGGCCGCTGGTAGAGCTGGCGGTGGCCCCCTCCTGAATGGTCTGCTGAACGTGGTGGTT
 TGTTCTGCTTGTGGCCGCCCTGGGAAACCGTCTGTGTGGTCCCTGCTACTGCTGCTTGGGCTGGAAAC
 TGGACTGGCGCTCCCGATGTTTCTGCTCTCGGTGCTCAAGGAGTTTTGCTGCTCTCTACTCGTGACTT
 GGCATTGCTGGAGCTGTTGAATCCTGGGACTCTTGGCTGGCGCTTGTGATAGGAGACTCATCGTCG
 TAAACGCTGTGAGAGCTGCCGATTGGCCTGCCGATGGTCTGTTGTGTCTCGTCAACACGCTTACTTG
 GCTTGTGAAGTGTGGCCGCTGTCCAATGTGCTGTTCCGCTGGCCTGCTGCTCGTGATCTGAGGCGTAC
 TGTTCTGGCTAGTGGTCTGTTTTTCGGACCTGGTGTTCGCTCGTGTCGAAGCTGCTCACGCTAGAC
 TGTACCCCGATGCCCCACCCCTCCGTTTGTGTGCTGGAGCAAACGTTCCGCTACCGTGTCCGTACTCGT
 TTCGGACCCGATACTCTGGTTCCAATGTCCCTCGTGAATAACCGTCTGCTGTTCTGCCTGCCCTCGA
 TGGACGTGCTGCCGCTTCTGGCGCTGGTACGCTATGGCTCCTGGCGCTCCGGACTTCTGTGAGGATG
 AGGCTCACTCACATCGTGCCCTGTGCCGCTGGGGACTGGGCGCTCCATTGAGGCCTGTATACGTGGCA
 CTGGGCCGTGATGCTGTTAGAGGCGGACCCGCTGAATTGAGAGGCCCTCGTCTGAATTCGTGCTAG
 GGCTCTGCTCGAACCAGATGGAGATGCTCCTCCTTTGGTACTCCGTGACGACGCCGATGCTGGTCTC
 CCCCACAAATTCGCTGGGCTAGTGCTGCTGGACGTGCTGGTACTGTATTGGCTGCTGCTGGCGGTGGC
 GTTGAAGTTGTTGGTACTGCCGCTGGACTCGCTACACCTCCCCGCCGTGAACCTGTAGACATGGATGC
 TGAACCTGAGGATGATGACGACGGATTGTTCCGGAGAGTAATAG

SEQ ID NO: 40 = US6ΔTMR

ATGAAGTTCCTCGTGAACGTGGCCCTGGTGTTCATGGTGGTGTACATCAGCTACATCTACGCCAACCG
 TTGGAAGTACGCTCTGGCTGACCCATCCCTGAAGATGGCTGACCCCAACCGTTTCCGTGGCAAGAACC
 TGCCCGTGTGGACCAGCTGACCGACCCCCCTGGCGTGAAGCGTGTGTACCACATCCAGCCATCCCTC
 GAAGACCCCTTCCAGCCCCCTCCATCCCCATCACCGTGTACTACGCTGTGCTGGAACGCGCTTGCCG
 TTCCGTGCTGCTGCACGCTCCTTCCGAGGCTCCCCAGATCGTGCGTGGTGCTTCGACGAGGCTCGCA
 AGCACACCTACAACCTGACTATCGCTTGGTACAGGATGGGTGACAACCTGCGCTATCCCTATCACCGTC
 ATGGAATACACCGAGTGCCCTTACAACAAGTCCCTGGGCGTGTGCCCTATCCGTACCCAGCCCCGTTG
 GTCCTACTACGACTCCTTCAGCGCTGTGTCCGAGGACAACCTGGGTTTTCTGATGCACGCTCCCGCTT

TCGAGACTGCTGGCACCTACCTGCGTCTGGTCAAGATCAACGACTGGACCGAGATCACCCAGTTCATC
 CTGGAACACCGTGTCTCGTGTCTCGTGCAAGTACGCCCTGCCCTGCGTATCCCTCCTGCTGCTTGCTT
 GACCTCCAAGGCTTACCAGCAGGGCGTGACCGTGGACTCCATCGGCATGCTGCCCGTTTCATCCCCG
 AGAACAGCGTACCCTGGCTCTGTACTCTCTGAAGATCGCTGGCTGGCACGGTCTTAAGCCCCCTAC
 ACCTCCACTCTGCTGCCCCCTGAGCTGTCCGACACCACCAACGCTACTCAGCCCCGAGTTGGTGCCTGA
 GGACCCCGAGGACTCCGCTCTGTTGGAGGACCCCGCTGGAACCGTGTCTCCAGATCCCCCCCCAACT
 GGCACATCCCTTCCATCCAGGACGTGGCCCCCTACCACGCTCCAGCTGCTCCCTCCAACCCCGTGTG
 CGTGCTCAGATGGCTCCCAAGCGTCTGCGTCTGCCCCACATCCGTGACGACGACGCTCCTCCATCCCA
 CCAGCCCCTGTTCTACCACCACCACCATCACCCTAATAA

SEQ ID NO: 41 = secuencia de nucleótidos para RL1 (ICP34.5)

ATGTCCTCGTGTCTGGTCCCTCGTGTCTGGTCCCTCGTGTCTGGTCCCGGTCCGGGTGCGCCGGCGGT
 ACCACGCCCCGGGTGCGCCGGCAGTCCCGCGTCCAGGGCGCACTGCCTACCGCGGACTCTCAAATGGTGC
 CGGCGTATGATTCTGGTACTGCCGTGCAATCTGCTCCGGCAGCGAGCTCCCTGCTGCGTCTGGCTG
 CTGGTCCCTCAGGCGGACGATTCGGATGACGCAGACTACGCGGGCAACGACGACCGGAGTGGGCTAA
 CAGCCCCCAAGCGAGGGTGGTGGCAAAGCGCCGGAGGCTCCGCACGCAGCGCTGCCGAGCGTGCC
 CGCTCCGCTCCTCGTAAAGAAGCTGGCCCTCAACGTCTCTGCCGCCGACCTGGCTCTGCGTCTG
 CGTACTACCCTGAGTACCTGGCGCGTCTGTCTCTGCGTGTCCCGTCCGCCGGCTAGCCCCCGGC
 CGATGCACCGCGTGGCAAAGTGTGCTTCTCTCCACGTGTTCAAGTTCGTACCTGGTGGCTTGGGAAA
 CGGCTGCCCGTCTGGCTCGCCGTGGCAGCTGGGCACGTGAGCGCGCAGACCGTGACCGCTTCCGTGCG
 CGTGTGGCGGCTGTGAAGCCGTTATCGGCCCGTGCCTGGAACCTGAGGCTCGCGCTCGCGCGCGTGC
 GCGCGCTCGTGCCACGAAGATGGCGGTCCAGCAGAGGAAGAAGAGGCAGCTGCAGCAGCGCGCGGTA
 GCTCCGCGGCTGCGGGTCCAGGTGCTGTGCGGTA

SEQ ID NO: 42 = secuencia de nucleótidos para RL2 (ICP0)

ATGTCGTAATACCATCACCATCACCATCACATGGAGCCACGTCTTGGTACTTCTTCTCGCGCTGATCC
 TGGTCTGAACGTCCGCCACGCCAGACTCCGGGCACCCAGCCGGCCGCCCTCACGCTTGGGGCATGC
 TGAACGATATGCAGTGGCTGGCGTCTCTGATTCCGAAGAGGAGACTGAGGTTGGTATCAGCGATGAT
 GATCTGCACCGGACTCTACCAGCGAAGCAGGTTCCACTGACACCGAAATGTTTGAAGCGGGCCTGAT
 GGATGCCCGGACCCCGCCGGCTCGTCCGCCGGCTGAACGTGAGGGTAGCCCTACGCCTGCGGATGCGC
 AAGGCTCTTGTGGTGGTGGTCCAGTAGGCGAAGAGGAGGCTGAGGCGGTTGGCGGGGTGATGTGTGT
 GCGGTTTGTACCGATGAAATCGCACCCCGCTGCGTTGTGAGTCTTTCCCGTGCCTGCACCCGTTTTG
 CATTCCGTGCATGAAAACCTGGATCCCGCTGCGCAACACTTGCCCGCTGTGCAACACTCCGGTTGCTT
 ATCTGATCGTTGGTGTAAACCGCATCTGGTTCCTTTTCTACCATCCCGATTGTCAACGACCCACGTACG
 CGTGTGAGGGCGGAGGCGGCTGTACGTGCGGGCACCGCGGTGGACTTTATCTGGACCGGTAACCCGCG
 CACCGCGCCACGCTCCCTGTCTCTGGGTGGCCATAACCGTTCGTGCTCTGAGCCCGACCCACCTTGGC
 CAGGCACCGATGACGAAGACGACGATCTGGCTGACGTTGACTATGTTCCGCCGGCACCGCGTCCGCGCA

CCACGCCGTGGTGGCGGTGGCGCCGGTGGACGCGCGGTACCTCCCAGCCGGCAGCAACTCGCCCAGC
 ACCGCCGGGTGCCCCGCGTTCTAGCAGCTCCGGTGGCGCACCGCTGCGTGTGGCGTGGGTTCTGGTT
 CCGGTGGTGGTCCGGCCGTGGCGGCTGTCTCCCGCGTGTGGCTTCTCTGCCACCGGCAGCTGGTGGC
 GGTGCTGCTCAAGCTCGTCTGTGTCGGCGAGGACGCAGCGGCTGCTGAGGGCCGTACTCCACCGGCCCG
 TCAACCGCGCGCAGCACAGGAACCGCCGATCGTGATCTCCGATTCCCCGCCACCGAGCCCGCTCGCC
 CGGCGGGTCCGGGTCCGCTGTCTTTTGTATCCTCCAGCTCTGCTCAGGTAAGCAGCGGTCTCGGCGGT
 GCGGCGCTGCCACAGTCTCTGGTCTGTGCTGCTGCTCTCTGCGGCGGTGCTCTCTGTGTACGTTCT
 TCCGCCACGCGCTGCTGCCGCGCCGGTCTGTTCTGCCTCTGCTGACGCGGCAGGTCCGGCTCCGCCTG
 CAGTTCCGGTTGATGCACACCGTGCACCGCGCTCTCGTATGACCCAGGCGCAGACTGATAACCCAGGCA
 CAATCCCTGGGTCCGCGGGTGGACTGACGCTCGTGGTAGCGGTGGTCCGGGCGCTGAAGGTGGCCC
 GGGTGTCCACCGCGTACTAACACTCCGGGCGCTGCCGCCACACGCGGCTGAAGGTGCGGCTGCACGTC
 CGCGTAAACGTCGTGGTCCGACAGCGGTCCGGCTGCAAGCAGCAGCGCGAGCTCTTCCGCTGCGCCT
 CGCAGCCCCTGGCGCCGAGGGTGTGGCGCCAAGCGTGTGCTCCGCGTCTGTGCACCGGACTCCGA
 TTCTGGCGACCGCGGTACGCGCCCGCTGGCCCTGCTAGCGCAGGCGCTGCGCCGCCATCCGCCAGCC
 CGTCTTCTCAGCAGCTGTGGCTGCGGCGTCTCTTCTTCCGCTAGCAGCTCTTCCGCTCTTCTAGC
 AGCGCGTCTCTAGCAGCGCATCTTCCCTCTTCTGCTTCTTCTTAGCGCTTCTAGCTCTTCCGCGTC
 CTCTTCCGCTGGCGGTGCAGGCGGCTCTGTTGCTTCCGCCAGCGGCGCAGGTGAGCGTCTGTAAACGA
 GCCTGGGCCCACGTGCTGCTGCACCGCGTGGCCCGCGTAAGTGTGGCGCAAGACCCGCCACGCTGAA
 GCGGTCGCGAGCCGGTGCAGCGTATCCGGCTCCGGGCTGACCCGTTACCTGCCGATTGCGGGTGT
 GTCTCCGTTGTGGCACTGGCGCCGTATGTGAACAAAACGTGCACGGGCGATTGCCGCTGTTCTGG
 ACATGAAAACCGGTCATATCGGCGCTTACGTCGTTCTGGTTGACCAAACCGGCAACGTGGCGGATCTG
 CTGCGTGGCGCCGCTCCGGCTTGGTCCCGTCTGCTACCCGCTGCTGCCGGAACATGCTCGCAACTGTGTACG
 CCCACCGGATTACCCAAACCCCGCCGGCTCCGAGTGGAACTCCCTGTGGATGACCCCGGTTGGTAACA
 TGCTGTTCGACCAGGGCAGCTGGTGGTGTCTGAGCTTTTACGGCCGCTGCGCTCCCGTACCCGTGG
 TCCCGTGAGCAAGGCGCTCCGGCCCTGCGGGCGATGCCCGGCTGGCCACGGCGAGAGTACTAGAGG
 ATCATAA

SEQ ID NO: 43 = secuencia de nucleótidos para UL36.3.4.1

ATGTCGTAACCATCACCATCACCATCACGCCGCTCAACGTGCTAGGGGATCCTCTGAACGCTGGGC
 TGCTGGTGTGAGGCTGCTTTGGATAGAGTGGAGAACCGTGCCGAATTCGATGTTGTCGAGCTGAGGA
 GACTCCAAGCTTTGGCTGGTACTCACGGCTACAACCTCGTGATTTCCGTAAACGTGCCGAACAGGCT
 TTGGCGGCAAACGCTGAGGCCGTAACATTGGCTCTGGACACTGCCTTCGCTTCAACCCATACAGCC
 CGAAAACCAACGTCATCCTATGCTCCACCTCTCGTGTCTATTACCGCTGGGATGGAGCGCTGCTT
 TCCATGCTGCTGCTGAAACTTACGCCGACATGTTCCGTGTGATGCCGAACCACTGGCTAGACTGCTC
 CGTATCGCTGAGGACTGCTGGAGATGGCTCAAGCTGGCGACGGATTCATCGATTACCATGAGGCTGT
 CGGTAGACTGGCCGATGATATGACTTCTGTGCCCGATTGAGGCGCTACGTTCTTCTTCCAACATG
 GCTACGCCGATTACGTGAACTGAGAGATCGCTGGATGCTATTAGGGCCGACGTCATAGAGCACTC
 GGTGGTGTTCGCTGGATTTGGCGGCTGCTGCCGAACAAAATTTCCGCTGCTCGTAACGATCCTGAGGC

TACTGCTGAATTGGTCCGTACTGGTGTAACATTGCCTTGCCCTAGTGAGGACGCTCTCGTGGCTTGTG
 CTGCTGCCCTGGAGAGAGTTCGATCAATCTCCCGTGAAAAACACGGCTTACGCCGAATACGTTGCCTTC
 GTGACCCGTCAAGACACTGCTGAGACTAAAGACGCTGTGGTCCGTGCTAAACAACAACGCTGCTGAGGC
 CACTGAACGTGTTATGGCTGGCCTGAGAGAGGCTCTGGCTGCTAGAGAACGTCGTGCTCAAAATTGAGG
 CTGAGGGATTGGCAAACCTGAAAACCATGCTCAAAGTCGTGGCTGTACCCGCTACTGTTGCTAAAACT
 CTCGACCAGGCTCGTAGTGTTGCCGAAATTGCCGATCAAGTCGAAGTGTGCTGGATCAAACCGAAAA
 AACTCGTGAACCTGGATGTGCCTGCTGTGATCTGGCTCGAACACGCCCAAAGAACATTTCGAGACACACC
 CTTTGTCTGCCGCTCGTGGTGATGGTCCTGGACCCCTTGGCTCGTCATGCTGGCCGCCCTCGGTGCCCTC
 TTCGATACTCGTCTGATAGAGTAGACGCCTTGAGGAGATCCCTGGAGGAGGCTGAGGCTGAATGGGACGA
 AGTTTGGGGACGCTTCGGTAGAGTGAGGGGCGGAGCGTGGAATCTCCGGAGGGATTCCGTGCAATGC
 ATGAGCAACTGAGGGCCCTCCAAGACACAACAACACCCGTGTCTGGCCTGAGGGCTCAACCTGCTTAC
 GAACGCTTGTCTGCTCGCTACCAAGGAGTACTCGGAGCGAAAGGCGCTGAGAGAGCTGAGGCTGTTGA
 GGAACTCGGTGCTCGTGTCACTAAACACACCGCTCTGTGTGCTAGGCTGAGAGATGAGGTCGTCCGTA
 GAGTGCCTTGGGAAATGAACTTCGATGCTCTGGGAGGATTGTTGGCTGAGTTCGATGCCGCTGCTGCC
 GATTTGGCACCTTGGGCTGTAGAGGAATTCGGTGGTGCTAGAGAACTCATTCAATACCGTATGGGCCT
 GACTCTGCCTACGCTAGAGCTGGAGGACAAACTGGTGCTGGAGCTGAATCTGCTCCTGCTCCTTTCG
 TCGTGGATCTGAGGGCTTTGGATGCTCGTGCTCGTGCTTCTTCTTCCCCTGAGGGACATGAAAGTGGAC
 CCACAACCTGCTGAGGAGGCGTGGAGAGGCTTACTTGAGAGCTGGCGGCGACCCCTGGACCTCTCGTGCT
 CCGTGAAGCTGTTTCTGCTTTGGACCTGCCATTGCCACATCTTTCTTGGCCCCGATGGAACCTCCCC
 TCCAATACGCTTTGTGCTTCCCTGCCGTAACGGACAAACTCGGAGCTTTGCTCATGAGCCCCGAGGCC
 GCTTGTGTTAGACCTCCTTTGCCTACCGATGTGCTGGAATCTGCCCAAACCTGTGACTGCCATGTACGT
 ACTCACTGTGGTCAACCGCCTCCAACCTGGCATTGAGTGATGCTCAAGCGGCAAACTTCCAACCTGTTCCG
 GTCGTTTCGTTTCGTCATAGGCAGGCAACCTGGGGAGCGTCAATGGATGCCGCCGCTGAATTGTACGTT
 GCCCTGGTGGCTACAACCTCTCACACGTGAATTCGGTTGTGCTGGGCACAATTGGGATGGGCTAGTGG
 AGCTGCTGCTCCTAGACCCCCACCTGGACCCCGTGGCTCACAACGTCACCTGTGTGGCATTCAACGAGA
 ACGATGTCCCTCGTCGCTTTGGTTGCCGGTGTTCCCGAACACATCTACAACCTTCTGGCGCTGGACTTG
 GTCCGTC AACACGAGTACATGCACCTCACACTGGAGCGTGCCCTTCGAGGATGCTGCCGAGTCTAIGCT
 CTTTCGTTCAACGCCTCACTCCACATCCCGACGCTCGIATTAGAGTTCTGCCGACCTTCTTGGATGGTG
 GTCCTCCTACACGTGGTCTGTTGTTTCGGAACCCGCTTGGCGGACTGGCGTCTGGTAAACTGTCTGAA
 ACCGACCCATTGGCCCCATGGAGATCTGCTTTGGAACCTCGGAACCCAACGTCGTGACGTGCCTGCTTT
 GGGAAAACCTGTCCCCTGCTCAAGCTTTGGCCGCTGTGTCCGTACTGGGCCGTATGTGCTTGCCTCGG
 CTGCCTTGGCTGCTTTGTGGACCTGTATGTTCCCGACGACTACACTGAATACGACTCATTTCGACGCC
 CTCTTGGCGGCTCGCCTGGAATCGGGACAAACATTGGGACCTGCTGGCGGTAGAGAGGCTTCATTGTA
 ATAG

SEQ ID NO: 44 = secuencia de nucleótidos para UL36.4.2.5

ATGTCGTA CTACCATCACCATCACCATCACGAATACGACTCCTTCGACGCTTTGTTGGCTGCTAGACT
 GGAATCTGGTCAAACCTTGGGACCCGCTGGCGGTAGAGAGGCTTCTTTGCCCGAGGCTCCTCATGCTT

TGTACCGTCCAACCGGACAACATGTTGCTGTGTTGGCGGCTGCTACTCATAGAACCCCTGCTGCTCGT
 GTTACTGCTATGGACCTGGTCTTGGCGGCCGTTTTGCTGGGCGCTCCTGTGGTGGTCGCTCTGAGAAA
 CACTACTGCCTTCTCCCGTGAATCCGAATTGGAACGTGTCCTCACCCGTTCGATTCTCGTCCCGGCG
 GACCGGATGCTGCCCTGAGAGATGTGGTATCCTCCGACATTGAAACCTGGGCTGTGGGCTTGTCCAC
 ACCGATTGAACCCTATTGAGAACGCTTGCTTGGCGGCTCAACTGCCACGCTTGTCTGCCCTCATTGC
 TGAACGTCCCTTGGCCGATGGACCCCTTGTGGTGGTGGTGGACATTCGATGACACCTGTGCTG
 TTTTGTGGGAGGCCCTGAACCACCTGGCCCTCCCGATGTTTCGTTTCGTCGGTAGCGAGGCCACTGAG
 GAATTGCCTTTCGTGGCTACTGCTGGTGAATGTTTTGGCGGCGAGTGTGCCGATGCCGATCCTTTCTT
 CGCTCGTGCTATCCTGGGCCGTCCTTCGATGCTTCTCTGCTCACTGGTGAACGTTCCTGGTCACC
 CCGTTTACCAACGTCCTGGCGGATGAGGCTGGTCCCTCTGCTCCTACTGCCGCTCGTGATCCTAGA
 GATCTGGCTGGAGGCGACGGTGGATCCGGACCTGAGGATCCCGCTGCTCCACCTGCTAGACAGGCCGA
 TCCTGGTGTGGTGGCTCCTACTCTGCTCACCAGATGCTACTACTGGCGAACCTGTGCCACCCCGTATGT
 GGGCTTGGATTGACTGGAGGAACTGGCTTCCGATGATGCCGGCGGTCCTACCCCAAACCCTGCC
 CCGGCTTGTGTCCTCTGCTACGGATCAATCTGTCCCACTTCCCAATACGCCCTTAGACCAAT
 TGGCCCGGCTGCCACTGCTAGAGAACTCGTCCCTCCGTTCCCCCTCAACAAAACACTGGTCTGTGCC
 CTGTGGCTCCACGTGATGACCCTAGACCTTCCCCCTACTCCTTCCCCCTGCCGATGCTGCTTTG
 CCACCTCCTGCTTCTCTGTTCTGCTGCTGCTTCTCCTGCTGCTGTTCCACGTTTCGTCGTTCTAG
 GCGTACTCGTGCCAAATCCCGTGGCCCTCGTGCTTCTGCCCCACCCGAGGGATGGCGTCCCCCGCTT
 TGCTGCCCCGTGTTGCTCCTGTGGGGCTTCTGCTCGTCCCCCGATCAACCTCCTACTCCCGAATCT
 GCTCCCCCGGCTTGGGTTTCCGCTCTGCCATTGCCACCCGGACCTGCTAGTGTGCTGGTGGCTTTCCC
 TGCTCCAACCTTGGCCCTATCCCCACCCCGCTGAGGGAGCTGTTGTTCCCGGTGGTGTGCTGTA
 GACGTGGTGGCGTCAAACAACCTGCTGGACCATCCCTACACCGCCACGTGGCCCGGCTGCTGGTCTT
 CCTCGTCGCCCTACTAGGCCTGCTGTTGCTAGTCTGTCCGCTTCTTTGAACTCTCTGCTTCCCCCG
 TGATCCTGCCGATCATGCTGCTGCCGTTTTCTGCTGCCGCCGCTGCCGTACCACCTTACCTGGACTGG
 CTCCCCAACTTCTGCTGTCCAAACCTCTCTCCTCCCTTGGCGCCTGGTCTGTTGCCCATCTGAA
 CCTTGTGTGGCTGGGTTGTGCTGGAGGCCCTGTTGCTAGACGTCCCCACCCCAATCTCCGGCTAC
 TAAACCGGCTGCTCGTACCCGATTAGGGCTCGTTCGTGCCCAACCACCCTTGCCCAACCTCCAC
 TGCTCAACCCCTTGGCTCAACCCCTCTCCCCAACCACCTCTGCCTCAACCTCCGCTGCCCAA
 CCTCCTTTGCCCAACCTCCTTTGCCCAACCTCCTTTGCCCAACCTCCGCTGCCCAACCTCCGCT
 GCCACCTGTTACTCGTACACTCACTCCCCAATCTCGTGACTCTGTGCCTACACCTGAGTCTCCAACCTC
 ACACAAACACCCACTTGGCCGTTAGTGTGTGACTTCTTGGGCTTCGTCCCTGGCTCTCCATGTGGAT
 TCTGCCCTCCCCCTGCTTCATTGCTCCAAACTCTCCACATTTCTCCGATGATGAACACTCCGACGC
 CGACTCACTCCGCTTCTCCGATTCCGATGACACTGAGGCTCTCGATCCTTTGCCTCCTGAACCTCACT
 TGCCACCTGCCGATGAACCCCGGACCTCTGGCTGCCGACCATCTCCAATCACCTCACTCACAATTC
 GGTCCCTTGGCCGTTCAAGCGAACGCTGTTCTGTCTCGTCTGTTACGTGAGATCAACTGGCCGTTCTGC
 CTTGGCTGTGCTCATTAGAGCTTGTGCCGATCCAAACAACACTCCAGCGTACTAGGAGAGCACTCT
 TCCAACGCTCAAACGCCGTGCTCACATCACTCCACCATGTCCGATGCTCTTGGGATAATAG

SEQ ID NO: 45 = secuencia de nucleótidos para US12 (ICP47)

ATGTCCTGGGCTCTGAAAACCACCGACATGTTCTGGACTCTTCTCGTTGCACCCACCGTACCTACGG
 TGACGTTTGGCGCTGAAATCCACAAACGTGAACGTGAAGACCGTGAAGCTGCTCGTACCGCTGTTACCG
 ACCCGGAACTGCCGCTGCTGTGCCCGCCGGACGTTTCGTTCTGACCCGGCTTCTCGTAACCCGACCCAG
 CAGACCCGTGGTTGCGCTCGTTCTAACGAACGTCAGGACCGTGTTCGGCTCCCGTGA

SEQ ID NO: 46 = secuencia de nucleótidos para US4

ATGAAGTTCTCGTGAACGTGGCCCTGGTGTTCATGGTGGTGTACATCAGCTACATCTACGCTAACCG
 TTGGGGTTCCGGCGTGCCCGGTCCCATCAACCCCCCAACTCCGACGTGGTGTTCGCCGGTGGTTCCC
 CCGTGGCTCAGTACTGCTACGCTTACCCCCGTCTGGACGACCCCTGGTCCCCTGGGTTCTGCTGACGCT
 GGTGCTCAGGACCTGCCCCGTCGTGTCGTGCGTACGAGCCCCCTGGGTGCTAGCTTCTGACCGGTGG
 CCTGGTGTGTTGGCTCCCCCTGTGCGCGGTTTCGGTGTCCCAACGCTACCTACGCTGCTCGTGTGA
 CCTACTACCGTCTGACCCGTGCTTGCCGTCAGCCCATCTGCTGCGTCAGTACGGTGGTTGCCGTGGT
 GGAGAGCCCCCATCCCCAAGACCTGCGGTTCTTACACCTACACCTACCAGGGTGGTGGTCCCCCTAC
 CCGTTACGCTCTGGTCAACGCTTCCCTGCTGGTGCCCATCTGGGACCGTGTGCTGAGACTTTCGAGT
 ACCAGATCGAGCTGGGTGGCGAGCTGCACGTGGGTCTGCTGTGGGTGGAAGTGGGTGGAGAGGGTCCC
 GGTCTACCGCTCCTCCTCAGGCTGCTCGTGTGAGGGTGGTCTTGCCTGCCACCCGTCCTGCTGG
 TCGTCTTGGCGTTCCGTGCCCGCGTGTGGTACTCCGCTCCCAACCCCGGTTTCGCGGTCTGCGTT
 TCCGTGAGCGTTGCCTGCCTCCCCAGACCCCTGCTGCTCCTTCCGACCTGCCTCGTGTGGCTTTCGCT
 CCCCAGTCCCTGCTCGTGGGTATCACCGGTGCTACCTTCATCCGTATGGCTCGTCCCACCGAGGACGT
 GGGTGTCTGCTCCTCACTGGGCTCCAGGTGCTCTGGACGACGGTCCCTACGCTCCCTTCCCCCTC
 GTCCCCGTTTCCGTGCTCACCACCACCATCACCACCTAATAA

SEQ ID NO: 117 = RS1.2

ATGTCGTACTIONACCATCACCATCACATGGTGTGTACGGCGGGCTGGGCGACAGCCGCCCGG
 CCTCTGGGGGGCGCCCCGAGGCGGAGGAGGCGCGGGCCCGGTTTCGAGGCCTCGGGCGCCCCGGCGCCCG
 TGTGGGCGCCCGAGCTGGGCGACGCGGCGCAGCAGTACGCCCTGATCACGCGGCTGCTGTACACGCCG
 GACGCGGAGGCGATGGGGTGGCTCCAGAACCOCGCGGTGGCGCCCCGGGACGTGGCGCTGGACCAGGC
 CTGCTTCCGGATCTCGGGCGCGGCGCAACAGCAGCTCCTTCATCTCCGGCAGCGTGGCGCGGGCCG
 TGCCCCACCTGGGGTACGCCATGGCGGGCGGGCCGCTTCGGCTGGGGCTGGCGCACGTGGCGGCCGCC
 GTGGCCATGAGCCGCCGCTACGACCGCGCGCAGAAGGGCTTCCTGCTGACCAGCCTGCGCCGCGCCTA
 CGCGCCCCCTGCTGGCGCGGAGAACGCGGCGCTGACCGGGGCGCGGACCCCCGACGACGGCGGGCAGC
 CCAACCGCCGCGACGGCGACGACGCCCGCGGAAGCCCGCCGCGCCCGCCCGTTGCCGTGGCG
 GCGGCGTCCCGGCCGACGAGCGCGCGGTGCCCGCGGCTACGGCGCCGCGGGGGTGTCCCGGCCCT
 GGGGCGCTGAGCGCCGCGCCCGCCTCCGCGCCGGCCGGGGCCGACGACGACGACGACGACGACGACG
 GCGCCGGCGGTGGTGGCGGTGGTGGCGGTGGTGGCGGGCCGGCGCGGAGGCGGGCCGCGTGGCC
 GTGGAGTGCCTGGCCGCCCTGCCCGGGATCCTGGAGGCGCTGGCGGAGGGCTTCGACGGCGACCTGGC
 GGCCGTGCCGGGGCTGGCCGGAGCCCGGCCCGCGCCCCCGCGCCCGGGGCCCGGGCGCGGCCG

CCCCGCCGACGCCGACGCGCCCCGCCCTGCGCGCCTGGCTGCGCGAGCTGCGGGTTCGTGCGCGACGCG
 CTGGTGCTGATGCGCCTGCGCGGGGACCTGCGCGTGGCCGGCGGCAGCGAGGCCCGCGTGGCCGCCGT
 GCGCGCCGTGAGCCTGGTCGCCGGGGCCCTGGGCCCGGCGCTGCCGCGGAGCCCCGCGCCTGCTGAGCT
 CCGCCGCCGCCGCCGCGCGGACCTGCTCTTCCAGAACCAGAGCCTGAGTACTAGAGGATCATAA

SEQ ID NO: 118 = UL1 (citoplasmática), gL de longitud completa

ATGTCGTA TACTACCATCACCATCACCATCACATGGGGTTCGTCTGTCTGTTTGGGCTTGTCTTATGGG
 AGCCTGGGGGGCGTGGGGTGGGTACAGGCAACCGAATATGTTCTTCGTAGTGTATTGCCAAAGAGG
 TGGGGGACATACTAAGAGTGCCCTTGCATGCGGACCCCCGCGGACGATGTTTCTTGGCGCTACGAGGCC
 CCGTCCGTTATTGACTATGCCCCGATAGACGGAATATTTCTTCGCTATCACTGCCCGGGGTGGACAC
 GTTTTTGTGGGATAGGCACGCCAGAGGGCGTATCTTGTTAACCCCTTCTCTTTGCGGCGGGATTTT
 TGGAGGACTTGAGTCACTCTGTGTTTCCGGCCGACACCCAGGAAACAACGACGCGCCGGGCCCTTAT
 AAAGAGATACGCGATGCGTTGGGCAGTCGAAAACAGCCGTCAGCCACGCACCCGTCAGGGCCGGGTG
 TGTAACCTTTGACTACTACGCACTCGCCGCTGCGTCGGGCGACGCGATTACGGCCTGCCAACACCA
 CGTCAACGTGGGAACCGCCTGTGTGTCGGACGATGAAGCGAGCTCGCAGTCGAAGCCCCCTCGCCACC
 CAGCCGCCCGTCTCGCCCTTTCGAACGCCCCCCCCACGGCGGGTCTCCCCGACGCGAGGTGCGGCGCG
 GCATACTCGCCTCCGACGCAACTGA

5

SEQ ID NO: 119 = UL1 (Secretada), gL de longitud completa (Ag preferente)

ATGAAGTTCCTCGTGAACGTGGCCCTGGTGTTCATGGTGGTGTACATCAGCTACATCTACGCCAACCG
 TTGGGGGTTTCGTCTGTCTGTTTGGGCTTGTCTGTTATGGGAGCCTGGGGGGCGTGGGGTGGGTACAGG
 CAACCGAATATGTTCTTCGTAGTGTATTGCCAAAGAGGTGGGGGACATACTAAGAGTGCCCTTGCATG
 CGGACCCCCGCGGACGATGTTTCTTGGCGCTACGAGGCCCGTCCGTTATTGACTATGCCCGCATAGA
 CGGAATATTTCTTCGCTATCACTGCCCGGGGTGGACACGTTTTTGTGGGATAGGCACGCCAGAGGG
 CGTATCTTGTTAACCCCTTCTCTTTGCGGCGGGATTTTTGGAGGACTTGAGTCACTCTGTGTTCCG
 GCCGACACCCAGGAAACAACGACGCGCCGGGCCCTTTATAAAGAGATACGCGATGCGTTGGGCAGTCG
 AAAACAGGCCGTGAGCCACGCACCCGTCAGGGCCGGGTGTGTAACCTTTGACTACTCACGCACTCGCC
 GCTGCGTCGGGCGACGCGATTTACGGCCTGCCAACACCACGTCAACGTGGGAACCGCCTGTGTGTCG
 GACGATGAAGCGAGCTCGCAGTCGAAGCCCCTCGCCACCCAGCCGCGCCGTCCTCGCCCTTTCGAACGC
 CCCCCACGGCGGGTCTCCCCGACGCGAGGTGCGGCGCCGGCATACTCGCCTCCGACGCAACCATCACC
 ATCACCATCACTGA

10

SEQ ID NO: 120 UL19 delta TEV VP5 longitud completa

ATGTCGTA TACTACCATCACCATCACCATCACATGGCCGCTCCTGCCCGGACCCCCGGGTACCGGTA
 CGCCCGGGCCATGGTGCCACCGGCTCCATCCTGAGTACGATCGAGGTGGCGTCCCACCGCAGACTCT
 TTGATTTTTTCGCCCGGTGCGCTCCGACGAAAAACGCTGTATGACGTAGAGTTTGACGCCCTGCTG
 GGGTCTACTGCAACACCCTGTGCTCGTGGCTTTCTGGAGCTCGGCCTGTCCGTGGCGTGGCTGTG

CACCAAGTTCCTCCGGAGCTGGCTTACATGAACGAAGGGCGTGTGCAGTTCGAGGTCCACCAGCCCCTCA
TCGCCCCGACGGCCCCGACCCCGTCGAGCAGCCCGTGCATAATTACATGACGAAGGTCATCGACCCG
CGGGCCCTGAACGCGCCTTCAGCCTGGCCACCAGGCCATTGCCCTGCTCACGGGGGAGGCCCTGGA
CGGGACGGGCATTAGCCTGCATCGCCAGCTGCGCGCCATCCAGCAGCTCGCGCGCAACGTCCAGGCCG
TCCTGGGGCGTTTGAGCGCGGCACGGCCGACCAGATGCTGCACGTGCTGTTGGAGAAGGCGCCTCCC
CTGGCCCTGCTGTTGCCCATGCAACGATATCTCGACAACGGGGCGCCTGGCGACCAGGGTTGCCCGGGC
GACCCTGGTCCCGAGCTGAAGCGGAGCTTTTGGACACGAGCTTCTTCCTGGGCAAGGCGGGCCATC
GCCGCGAGGCCATCGAGGCCCTGGCTCGTGGACCTGACCACGGCGACGCAGCCGTCCGTGGCCGTGCC
CGCTGACGCACGCCGACACGCGCGGGCGGCCGGTTCGACGGGGTGTGGTACCACCGCCGCCATCAA
ACAGCGCCTCCTGCAGTCCCTTCTGAAGGTGGAGGACACCGAGGCCGACGTGCCGGTGACCTACGGCG
AGATGGTCTTGAACGGGGCCAACCTCGTCACGGCGCTGGTGATGGGCAAGGCCGTGCGGAGCCTGGAC
GACGTGGGCCGCCACCTGCTGGAGATGCAGGAGGAGCAACTCGAGGCCAACCAGGAGACGCTGGATGA
ACTCGAAAGCGCCCCCAGACAACGCGCGTGCAGCGCGGATCTGGTGGCCATAGGGCAGAGGCTGGTCT
TCCTGGAGGCCCTGGAGAAGCGCATCTACGCCGCCACCAACGTGCCCTACCCCTGGTGGGCGCCATG
GACCTGACGTTCTGCTCCTGCCCTGGGGCTGTTCAACCCGGCCATGGAGCGCTTCGCCGCGCACGCCGG
GGACCTGGTGCCCGCCCCGGCCACCCGGAGCCCCGCGCGTTCCCTCCCCGGCAGCTGTTTTTTTGGG
GAAAAGGACCACCAGGTTCTGCGGCTGTCCATGGAGAACGCGGTCCGGACCGTGTGTATCCTTCGCTC
ATGAACATCGACGCGGCCGTCGGGGGCGTGAACCACGACCCCGTCGAGGCCGCGAATCCGTACGGGGC
GTACGTCGCGGCCCGGCCGGCCCCGGCGCGGACATGCAGCAGCGTTTTCTGAACGCCTGGCGGCAGC
GCCTCGCCACGGCCGGTCCGGTGGGTGCGCCAGTGCCAGATGACCGCGGAGCAGTTTCATGCAGCCC
GACAACGCCAACCTGGCTCTGGAGCTGCACCCCGCGTTCGACTTCTTCGCGGGCGTGGCCGACGTGGA
GCTTCCCGCGCGGAAGTCCCCCGGCCGGTCCGGGGGCGATCCAGGCCACCTGGCGCGTGGTCAACG
GCAACCTGCCCTGGCGCTGTGTCCGGTGGCGTTTTCTGACGCCCGGGGCTGGAGCTCGGCGTTGGC
CGCCACGCCATGGCGCCGGCTACCATAGCCGCCGTCGCGGGGGCGTTCGAGGACCGCAGCTACCCGGC
GGTGTCTACCTGCTGCAAGCCGCGATTCACGGCAGCGAGCACGTGTTCTGCGCCCTGGCGCGGCTCG
TGACTCAGTGATCACCAGCTACTGGAACAACACGCGATGCGCGGCGTTCGTGAACGACTACTCGCTG
GTCTCGTACATCGTGACCTACCTCGGGGGCGACCTCCCCGAGGAGTGATGGCCGTGTATCGGGACCT
GGTGGCCACGTCGAGGCCCTGGCCAGCTGGTGGACGACTTTACCCTGCCGGGCCCGGAGCTGGGCG
GGCAGGCTCAGGCCGAGCTGAATCACCTGATGCGCGACCCGGCGCTGCTGCCGCCCTCGTGTGGGAC
TGCGACGGCCTTATGCGACACGCGGCCCTGGACCGCCACCGAGACTGCCGGATTGACGCGGGGGAGCA
CGAGCCCGTCTACGCGGGCGGTGCAACGTGGCGACGGCCGACTTTAACCAGCAACGACGGCCGGCTGC
TGCAACAACCCAGGCCCGCGGGCCGACGCCGCCGACGACCGGCCGACCGGCCGGCCGACTGGACC
GTCCACCACAAAATCTACTATTACGTGCTGGTGCAGGCTTCTCGCGGGGGCGCTGCTGCACCGCGGG
GGTCCGCTTCGACCGCGTGTACGCCACGCTGCAGAATGGTGGTCCCGGAGATCGCCCCGGCGAGG
AGTGCCCGAGCGATCCCGTGACCGACCCCGCCACCCGCTGCATCCCGCCAATCTGGTGGCCAACAG
GTCAACGCCATGTTCCACAACGGGGCGGTGCTGCTCGACGGGCCCGCCATGCTCACGCTGCAGGTGCT
GGCGCACAACATGGCCGAGCGCACGACGGCGCTGCTGTGCTCCCGGGCGCCCGACGCGGGCGCCAACA
CCGCGTCGACGGCCAACATGCGCATCTTCGACGGGGCGCTGCACGCCGGCGTGTGCTCATGGCCCCC
CAGCACCTGGACCACCCATCCAAAATGGCGAATACTTCTACGTCTGCCCCTCCACGCGCTGTTTGC

GGGCGCCGACCACGTGGCCAACGCGCCCAACTTCCCCCGGCCCTGCGCGACCTGGCGCGCCACGTCC
CCCTGGTCCCCCGGCCCTGGGGGCCAACTACTTCTCTCCATCCGCCAGCCCGTGGTGCAGCACGCC
CGCGAGAGCGCGGGGGGAGAACGCGCTGACCTACGCGCTCATGGCGGGGTACTTCAAGATGAGCCC
CGTGGCCCTGTATCACCAGCTCAAGACGGGCCTCCACCCCGGGTTTCGGGTTACCGTTCGTGCGGCAGG
ACCGCTTCGTGACCGAGAACGTGCTGTTTTCCGAGCGCGCTCGGAGGCGTACTTTCTGGGCCAGTTC
CAGGTGGCCCCGCCACGAAACGGGCGGGGGGGTTCAGCTTCACGCTCACCCAGCCGCGCGGAAACGTGGA
CCTGGGTGTGGGCTACACCGCCGTGCGGGCCACGGCCACCGTCCGCAACCCCGTTACGGACATGGGCA
ACCTCCCCAAAACTTTTACCTCGGCCGCGGGGCCCCCCCCGCTGCTAGACAACGCGGCCCGCGTGTAC
CTGCGCAACGCGGTTCGTGGCGGAAACCGGCTGGGGCCGGCCAGCCCTCCCGGTCTTTGGCTGCGC
CCAGGTGCCGCGCGCGCCGGCATGGACCACGGGCAGGATGCCGTGTGTGAGTTCATCGCCACCCCG
TGGCCACGGACATCAACTACTTTTCGCCGGCCCTGCAACCCGCGGGGACGCGCGGCCGGCGGTGTAC
GCGGGGGACAAGGAGGGGGACGTTCATAGCCCTCATGTACGACCACGGCCAGAGCGACCCGGCGGGCC
CTTCGCGGCCACGGCCAACCCGTGGGCGTTCGACGCGTTCTCGTACGGGGACCTGCTGTACAACGGGG
CCTATCACCTCAACGGGGCTCGCCCGTCTCAGCCCTGCTTCAAGTTCTTACCGCGGGCCGACATC
ACGGCCAAACATCGCTGCCTGGAGCGTCTTATCGTGGAAACGGGATCGGCGGTATCCACGGCCACCGC
TGCCAGCGACGTGCAGTTTAAGCGCCCGCGGGGTGCCGCGAGCTCGTGGAAAGACCCGTGCGGCCTGT
TTCAGGAAGCCTACCCGATCACCTGCGCCAGCGACCCCGCCCTGCTACGCGAGCGCCGCGATGGGGAG
GCCACGCGCGAGAGACCCACTTTACGCAGTATCTCATCTACGACGCCTCCCCGCTAAAGGGCCTGTC
TCTGTAA

SEQ ID NO: 121 = RS1.1

Atgagtgccgaacagcgtaaaaagaaaaaaccaccaccacgacccaaggacgtggagctgaagttgc
tatggcggatgaggatggaggccgcttgagagctgctgctgagactactggaggacctggatcaccgg
accctgccgatggacccccctacaccaaacccegatcgtagaccggtgctagacctggattcgga
tggcatggaggacccgaggaaaacgaggacgaggcggacgacgccgctgccgacgccgacgccgatga
ggctgcccctgcttctggagagcggtagacgaacctgctgccgatggagttgtagccctaggaat
tggctttggtggcagcatggtagacgaggctgtgagaacaatcccttcccctccccctgaacgtgat
ggagcacaagaggaggcggtaggagtccctcaccaccccgtagacctctatgagagcggattacgg
cgaggaaaacgacgacgacgacgatgatgatgacgacgatgatcgtgatgccggacgctgggttaggg
gacctgaaaccacttctgctgtccgtggagcatacccgatcctatggcgagtttgagccctagacca
cctgccccgaggagacaccaccaccaccatcataggcgtagacgtgctcctagacgtgcttctgc
cgctagtgactcttccaaatctggctcttcttcatctgctcttccgcttctcttggcctcatcgt
cctcttcggcatccgcttcgagtagtgatgatgatgatgacgacgacgctgctagagccccgcttct
gctgccgaccacgctgctggcggaactttgggagccgacgacgaggaggcgggagttcctgctcgtgc
ccccggagctgctccgaggccttctccaccccgctgctgaacctgctccggctagaacaccggccgcta
ctgctggttagactggagcgtagacgtgcccgctgctgctgtggtggttagagatgctactggccttc
actgctggccgctcctagacgtggtgaactggacgccgatgctgcttctggtgcttctacgcccgtta

ccgtgatggttacgtgtctggtgaaccttggcctggcctggtccacctccgccccgacgtgtactct
acggtggattggcgattctcgccctggtctgtgggcgctccg

SEQ ID NO: 122 = RS1.3.1

togagtgccgcegetgetgccgcegatttgttgttccaaaaccaatccctccgcectctgctcgccga
 cactgttgccgctgccgattctctggetgetccggettctgccccacgtgaagctcgtaaacgtaaat
 caccogctccggctcgtgctccccctggtggcgccccctagacccccetaaaaaatcccggtgccgatgcc
 cctagacctgctgctgctccccccgctggtgctgctccccccgctccccctactccccccccacgccc
 acctcgtcccgctgccctcacacgccgtcctgctgagggaccgatccacaaggcggctggcgtagac
 aacctcctggcccatcccatacacggcaccatctgccgctgctttggaggcttactgtgctcctcgt
 gctgtggctgaactcaccgatcatccgctgttccctgctccctggcgtcccgcctcatgttcgatcc
 tagagctttggettccctggccgctcgttgtgctgccccccccctggcggctcctggctgctttcg
 gtccctccgctgctctggtccactccgcccgtgccgctgctggatgagacaagttcccgacctgag
 gatgttagagttgtgatcttgtactcgcccttgccctggcgaggatttggccgctggttagagctggcg
 tggccccccctcctgaatggtctgctgaacgtggtggtttgtcttgettgttggcgccectgggaaacc
 gtctgtgtggtcctgctactgctgcttgggctggaaactggactggcgctcccgatgtttctgctctc
 ggtgctcaa

5 SEQ ID NO: 123 = RS1.3.2

Tgggctggaaactggactggcgctcccgatgtttctgctctcgggtgctcaaggagttttgctgctctc
 tactcgtgacttggcattcgtctggagctgttgaattcctgggactcttggctggcgcttgtgatagga
 gactcatcgtcgtaaaccgctgtgagagctgccgattggcctgccgatggtcctggtgtgtctcgtcaa
 cacgcttacttggcttgtgaagtgttggccgctgtccaatgtgctgttcgctggcctgctgctcgtga
 tctgagggctactgttctggctagtggctcgtgttttcggacctggtgttttcgctcgtgtcgaagctg
 ctcacgctagactgtaccccgatgccccaccctccgtttgtgtcgtggagcaaacgttcgtaccgt
 gtccgtaactcgtttcggaccogataactctggttccaatgtcccctcgtgaataccgctcgtgctgttct
 gctgcccctcogatggacgtgctgccgcttctggcgtggtgacgctatggtcctggegetccggact
 tctgtgaggatgaggetcactcacatcgtgctgtgcccgctggggactggcgctccattgaggcct
 gtatacgtggcactgggcccgtgatgctggttagaggcggaccogctgaattgagaggcctcgtcgtga
 attctgtgctagggctctgctcgaaccogatggagatgctcctcctttggtactccgtgacgacgccc
 atgetggtcctccccacaaaattcgtctgggctagtgctgctggacgtgctggtactgtattggetgct
 gctggcgggtggcgttgaagttgttggactgccgctggactcgetacacctccccgcgctgaacctgt
 agacatggatgctgaactcagaggatgatgacgacggattgttcggagag

10 SEQ ID NO: 124 = RS1.3

togagtgccgcegetgetgccgcegatttgttgttccaaaaccaatccctccgcectctgctcgccga
 cactgttgccgctgccgattctctggetgetccggettctgccccacgtgaagctcgtaaacgtaaat
 caccogctccggctcgtgctccccctggtggcgccccctagacccccetaaaaaatcccggtgccgatgcc

cctagacctgctgctgctcccccgctgggtgctgctcccccgctccccctactccccccccacgccc
acctcgtcccgctgccctcacacgcgctcctgctgagggaccogatccacaaggcgctggcgtagac
aacctcctggcccatcccatacacccggcaccatctgcccgtgctttggaggettactgtgctcctcgt
gctgtggctgaactcaccgatcaccogctgtccctgctccctggcgctcccgccctcatgttcgatcc
tagagetttggcttccctggccgctcgtttgtgctgcccctccccctggcggtgctccggtgctttcg
gtcctctcctgctgctctgggtccactccgcccgtgcccgtgctggatgagacaagtcccgaccctgag
gatgtagagtgtgatcttgtactcgccttgccctggcgaggatttggccgctggtagagctggcgg
tgccccccctcctgaatgggtctgctgaacgtgggtggtttgtcttgcttgttgcccgccctgggaaacc
gtctgtgtggctcctgctactgctgcttgggctggaaactggactggcgctcccgatggttctgctctc
gggtgctcaaggagttttgctgctctctactcgtgacttggcattcogctggagctgttgaattcctggg
actcttggctggcgcttgtgataggagactcactcgtcgtaaacgctgtgagagctgcccattggcctg
ccgatggctcctgttgtgtctcgtcaacacgcttacttggcttgtgaagtgttgcccgctgtccaatgt
gctgttcgctggcctgctgctcgtgatctgaggcgtactggtctggctagtggctcgtgttttcggacc
tgggtgttttcgctcgtgtcgaagctgctcacgctagactgtaccccgatgccccaccctccggttgt
gtcgtggagcaaacgttcgctaccgctgctcgtactcgtttcggaccogataactctggttccaatgtcc
cctcgtgaataccgctcgtgctgttctgctgcccctcgatggacgtgctgcccgttctggcgctggtga
cgctatggctcctggcgctccggaacttctgtgaggatgaggctcactcacatcgtgctgtgcccgt
ggggactggcgctccattgaggcctgtatacgtggcactgggcogtgatgctgttagaggcggacc
gctgaattgagaggccctcgtcgtgaattctgtgctagggctctgctcgaaccogatggagatgctcc
tcccttggtaactccgtgacgacgcogatgctggctcctccccacaaattcogctgggctagtgtgctg
gacgtgctggtaactgtattggctgctgctggcggtggcggttgaagttgttggtaactgcccgtggactc
gctacacctccccgcccgtgaacctgtagacatggatgctgaactcgaggatgatgacgacggattgtt
cggagag

SEQ ID NO: 125 = RS1.4

actgctggcctcctagacgtgttgaactggacgcogatgctgcttctgggtgctttctacgeccgtta
ccgtgatggttacgtgtctgggtgaaccttggcctggcgctgggtccacctccgcccggacgtgtactct
acggtggattggcgattctcgcctggtctgtggggcgetccggaggctgaggaggetagageccgt
ttcgaggcttctgggtcccctgctcctgtttgggctcctgaattgggcgacgetgctcaacaatcgc
cctcatcacacgcttctgtgtacactcccgaagccgaggctatgggatggctccaaaaccctagagttg
ccccgggtgatgttctctggatcaggcttgtttccgtatctccggcgctgctcgttaactcttctctg
ttcatctccggttctgtggctagagctgtgcccacttgggatacgccatggccgctggacgtttcgg
ctggggactggctcatgttctgcccgtgtagcaatgtctagacgetacgaccgtgctcaaaaaggat
tcttctcactgactgaggcgtgcttacgccccttgttggcccgtgaaaacgctgcccctcactggc
gcccgtaccccogatgacggtggcgacgccaaccgcccacgatggtgatgatgctagaggcaaacccgc
tgcccgtgctgctcctttgcccctctgcccgcgcttcccctgcccgatgaacgtgctgttccctgcccgtt
acggtgcccgtgggtgttggctgctttgggacgcttgagtctgcccggctagtgcccccgctggt
gcccgatgacgatgacgatgacgatgggtgctggcggaggcgggtggcggttagacgtgctgaggctggacg

tgttgcgtgattgaatgectggctgectgtagaggaatcttgaggctctggccgagggattcgacggag
 acttggcggtgtaccgggactggcgggagcgaggcctgcccctccacctcgccccggctcctgctggt
 gctgccgctcctcctcatgccgacgctcctagactccgtgcttggtccgtgaactccgtttcgttcg
 tgacgctttggttctgatgagactgagaggcgacttgagagtggtggaggatccgaggtgctggtg
 ctgctgctccgtgctggttctttggtgctggtgctttgggcccctgctttgccgagatctccccgttg
 ttgctgagtgccgcccgtgctgccgcccatttgttggttccaaaaccaatccccccgcccctctgctcgc
 cgacaactgttgccgctgccgattctctggctgctccggcttctgccccacgtgaagctcgtaaaacgta
 aatcaccgctccggctcgtgctccccctggtggcgcccctagacccccctaaaaaatcccgctgccgat
 gcccctagacctgctgctgctccccccgctggtgctgctccccccgctccccctactccccccccacg
 cccacctcgtcccgtgccctcacacgccgtcctgctgagggaccgatccacaaggcggtggcgta
 gacaacctcctggcccattcccatacaccggcaccatctgccgctgctttggaggcttactgtgct

SEQ ID NO: 126 = RS1.5

gcogctgcgattctctggtgctccggcttctgccccacgtgaagctcgtaaacgtaaatcaccgcg
 tccggtcgtgctccccctggtggcgcccctagacccccctaaaaaatcccgctgccgatgccctagac
 ctgctgctgctccccccgctggtgctgctccccccgctccccctactccccccccacgccacctcgt
 cccgctgccctcacacgcgctcctgctgagggaccgatccacaaggcggtggcgtagacaacctcc
 tggcccattcccatacaccggcaccatctgccgctgctttggaggcttactgtgctcctcgtgctggtg
 ctgaactcaccgatcctccgctgttccctgctcctggcgctccgcctcatgttcgatcctagagct
 ttggcttccctggccgctcgttgtgctgcccctccccctggcggtgctccggctgctttcggctcctc
 ccgctgccctcacaacgcgctcctgctgagggaccgatccacaaggcggtggcgtagacaacctcc
 gagttgtgatcttgaactgccttgcctggcgaggatttggccgctggttagagctggcggtggcccc
 cctcctgaatggtctgctgaacgctggtggttgtcttgccttgttggccgcccctgggaaaccgctctgtg
 tggctcctgctactgctgcttgggctggaaactggactggcgctcccgatgtttctgctctcggctgctc
 aaggagttttgcctgctctcactcgtgacttggcattcctgctggagctgttgaattcctgggactcttg
 gctggcgcttgtgataggagactcatcgtcgtaaacgctgtgagagctgccgattggcctgccgatgg
 tccgtgtgtgctcgtcaaacgcttacttggcttgtgaagtgttggccgctgtccaatgtgctgttc
 gctggcctgctgctcgtgatctgaggcgtactgttctggctagtggctcgtgttttcggacctggtgtt
 ttccgctcgtgtcgaagctgctcacgctagactgtaccccgatgccccaccctccgtttgtgctggtg
 agcaaacgctccgctaccgctgctcgtactcgtttccggaccggatactctgggtccaatgtccccctcgtg
 aataccgctcgtgctgttctgcctgccctcgatggacgtgctgccgcttctggcgctggtgacgctatg
 gctcctggcgctccggacttctgtgaggatgaggctcactcacatcgtgctcgtgcccgctggggact
 gggcgctccattgaggcctgtatacgtggcactgggcccgtgatgctgttagaggcggaccgctgaat
 tgagaggcccctcgtcgtgaattctgtgctagggtctgctcgaaccgatggagatgctcctcctttg
 gtactccgtgacgacgcccgatgctggtcctccccacaaattcgtgggctagtgtgctggacgtgc
 tggtaactgtattggctgctgctggcggtggcggtgaagtgttggtaactgccgctggactcgtcacac
 ctccccgcgctgaacctgtagacatggatgctgaactcgaggatgatgacgacggattgttcggagag

SEQ ID NO: 127 = RS1.6

caccaccaccaccaccatcatagggcgtagacgtgctcctagacgtcgttctgccgctagtgaactcttc
caaatctggctcttcttcatctgectcttccgcttcatcttggcctcatcgctctcttggcatccg
cttcgagtagtgatgatgatgatgacgacgacgctgctagagccccgcttctgctgccgaccacgct
gctggcggaactttgggagccgacgacgaggaggcgggagttcctgctcgtgccccggagctgctcc
gaggccttctccaccocgtgctgaacctgctccggctagaacaccggccgctactgctggtagactgg
agcgtagacgtgcccgctgctgctgtggctggtagagatgctactggccgcttcaactgctggccgctct
agacgtgttgaactggacgccgatgctgcttctgggtgctttctacgccgcttaccgtgatggttacgt
gtctggtgaaccttggcctggcctggtccacctccgccggacgtgtactctacggtggattggggc
attctcgccctggctctgtggggcctccggaggctgaggaggctagagcccgcttccgagcttctggt
gcccctgctcctgtttgggctcctgaattggggcagcctgctcaacaatacggcctcatcacacgctt
gctgtacactcccgaagccgaggtatgggatggctccaaaacctagagttgcccctggtgatgttg
ctctggatcaggttgtttccgtatctccggcctgctcgtaactcttctcgttcatctccggttct
gtggctagagctgtgctcacttgggatccgcatggccgctggacgtttccgctggggactggctca
tgttctgctgccgctgtagcaatgtctagacgctacgacccgctgctcaaaaaggattcttctcactcac
tgaggcgtgcttaacgccccttgttggcccgctgaaaacgctgcccctcaactggcgcccgtacccccgat
gacggtggcgacgccaaccgccaacgatgggtgatgatgctagaggcaaacccgctgccgctgctgctcc
tttgcctctgccgccccttccccgccgatgaacgtgctgttccctgccggttacggtgccgctggtg
tgttggctgctttgggacgcttgagtgctgccccgctagtgcccccgctggtgccgatgacgatgac
gatgacgatggtgctggcggaggcgggtggcggtagacgtgctgaggctggacgtgttctgttgaatg
cctggctgcccgttagaggaatcttggaggctctggccgagggatccgacggagacttggcggctgtac
cgggactggcgggagcgaggcctgccgctccacctcccccggctcctgctggtgctgccgctcctcct
catgccgacgctcctagactccgtgcttggctccgtgaaactccgtttcgttctgacgctttggttct
gatgagactgagaggcacttgagagtggtggaggatccgaggtgctgttctgctgctccgtgctg
tttctttgggttctggtgctttgggcccctgctttgcccagatctccccgttgggtgctgagtgccc
gctgctgccgcccatttgttgttccaaaaccaatcctccgccctctgctgccgacactgttggcgc
tgcgattctctggtgctccgcttctgccccacgtgaagctcgtaaacgtaaatcaccgctccgg
ctcgtgctccccctggtggcgcctcctagaccccccaaaaaatcccgtgccgatgcccctagacctgct
gctgctcccccgctggtgctgctcccccgctccccctactccccccccacgcccacctcgtcccc
tgcctcacaagcgcctcctgctgagggaccgatccacaaggcggctggcgtagacaacctcctggcc
catcccatacaccggcaccatctgccgctgctttggaggcttactgtgctcctcgtgctgtggctgaa
ctcaccgatcctccgctgttccctgctcctcggcgtcccgccctcatgttccgatcctagagctttggc
ttccttggcgcctcgttgtgctgcccctccccctggcggctgctccgctgctttcggctcctcctcgtg
cctctgggtccactccgcccgtgccgctgctggatgagacaagttcccgacctgaggatggttagagtt
gtgatcttgtactgcccttgcctggcgaggatttggccgctggttagagctggcgggtggccccctcc
tgaatggtctgctgaacgtgggtggtttctctgcttgttggccgccctgggaaaccgctctgtgtggtc
ctgctactgctgcttgggctggaaactggactggcgcctccgatgtttctgctctcgggtgctcaagga

gttttgcctctctactcgtgacttggcattcgcctggagctggtgaattcctgggactcttggctgg
cgcttctgataggagactcatcgtcgtaaacgctgtgagagctgccgattggcctgccgatggctcgt
ttgtgtctcgtcaacacgcttacttggcttgtgaagtgttgcccgtgtccaatgtgctgttcgctgg
cctgctgctcgtgatctgaggcgtactgttctggctagtggctcgtgttttcggacctgggtgttttcgc
tcgtgtcgaagctgctcacgctagactgtaccccgatgccccaccctcctgtttgtgctgctggagcaa
acgttcgctaccgctgctcgtactcgttttcggacccgatactctggttccaatgtcccctcgtgaatac
cgtcgtgctgttctgcctgccctcgatggacgtgctgccctctctggcctgggtgacgctatggctcc
tggcgtccggacttctgtgaggatgaggctcactcacatcgtgectgtgcccgtggggactggggc
ctccattgaggcctgtatcgtggcactggccgctgatgctgttagaggcggaccctgtaattgaga
ggccctcgtcgtgaattctgtgctagggtctcgtcgaacccgatggagatgctcctcctttggact
cgtgacgacgccgatgctggtcctccccacaaattcgtcggctagtgtcgtgctggacgtgctggta
ctgtattggctgctgctggcgtggcgttgaagtgttggactgccgctggactcgtacacctccc
cgccgtgaacctgtagacatggatgctgaactcagaggatgatgacgacggattgttcggagagtaa

SEQ ID NO: 128 = RS1.7

atgagtgccgaacagcgtaaaaagaaaaaaaccaccaccacgacccaaggacgtggagctgaagttgc
tatggcggatgaggatggaggccgcttgagagctgctgctgagactactggaggacctggatcacccg
accctgccgatggacccccccctacaccaaaccocgatcgttagaccgctgctagacctggattcgga
tggcatggaggacccgaggaaaacgaggacgaggcggacgacgccgctgccgacgccgacgccgatga
ggctgcccctgcttctggagaggcggtagacgaacctgctgccgatggagttgttagccctaggcaat
tggctttgttggcgagcatggttagacgaggtgtgagaacaatcccttcccctcccctgaactgat
ggagcacaagaggaggcggctaggagtcctcaccaccccgtagacctctatgagagcggattacgg
cgaggaaaacgacgacgacgacgatgatgatgacgacgatgatcgtgatgccgacgctgggttaggg
gacctgaaaccacttctgctgtcogtggagcataccccgatcctatggcgagttaggacctagacca
cctgccccgaggagacaccaccaccaccatcataggcgtagacgtgctcctagacgtcgttctgc
cgtagtgactcttccaaatctggctcttcttcatctgectcttccgcttcatcttcggcctcatcgt
cctcttcggcatccgcttcgagtagtgatgatgatgatgacgacgacgctgctagagccccgcttct
gctgccgaccacgctgctggcggaaactttgggagccgacgacgaggaggcgggagttcctgctcgtgc
cccgggagctgctccgaggccttctccaccccgctgctgaacctgctccggctagaacaccggccgcta
ctgctggtagactggagcgtagacgtgcccgctgctgctgtggctggtagagatgctactggccgcttc
actgctggcctcctagacgtgttgaactggacgcgatgctgcttctgggtgtttctacgcccgta
ccgtgatggttacgtgtctgggtgaaccttggcctggcgtggccacctccgccccgacgtgtaactct
accgtggattggggcggcctacccccgatgacggtggcgcgacccaaccgccaacgatggtgatgatget
agaggcaaacccgctgcogctgctgctcctttgccctctgcgcogcttcccctgccgatgaactgc
tgctcctgccggttacgggtgcccgtgggtgtgttggctgctttgggacgcttgagtgctgccccggcta
gtcccccgctgggtgccgatgacgatgacgatgacgatgggtgctggcggaggcgggtggcggtagacgt
gctgaggctggacgtgttctgttgaatgctggctgctgtagaggaatcttggaggtctggccga
gggattcagacggagacttggcggctgtaccgggactggcgggagcagggcctgccgctccacctcgc
ccggctcctgctgggtgctgcogctcctcctcatgccgacgctcctagactcgtgcttggctccgtgaa

ctccgtttcogttcogtgacgcttttggttctgatgagactgagaggcgacttgagagtggctggaggatc
 cgaggctgctggttgcctgctgctcogtgcctggttctttgggtgctgggtgctttgggcccctgctttgccga
 gatctccccgtttggtgctogagtgcgcgcgctgctgcccgcgatttggttgttccaaaaccaatccctc
 cgccctctgctgcgcgacactgttgccgctgcccgattctctggctgctccggcttctgccccacgtga
 agctcgtaaaacgtaaatcaccgcctccggetcgtgctccccctgggtggcgccccctagacccccctaaaa
 aatcccgctgcogatgcccctagacctgctgctgctccccccgctgggtgctgctccccccgctccccct
 actccccccccacgcccacctcgtcccgcctgcccctcacacgcgctcctgctgagggaccgatccaca
 agggcgctggcgtagacaacctcctggcccctcccatacaccggcaccatctgcgcctgctttggagg
 cttactgtgctcctcgtgctgtggctgaactcaccgatcatccgctggtccctgctccctggcgtccc
 gccctcatggttcgatcctagagctttggcttccctggccgctcgttgtgctgccccctccccctggcgg
 tgcctccggctgctttcggctcctctccgtgctctggctccactccgcgcgtgcccctgctggatgagac
 aagttcccgaacctgaggatggttagagttgtgatcttgtaactcgccttgctggcgaggatttgccc
 gctggtagagctggcgggtggccccctcctgaatggtctgctgaaactgggtggtttgtcttgcttgtt
 ggccgcctgggaaacctctgtgtggctcctgctactgctgcttgggctggaaactggactggcgtc
 ccgatgtttctgctctcgggtgctcaaggagttttgctgctctctactcgtgacttggcattcctgga
 gctgttgaattcctgggactcctggctggccttgtgataggagactcatcgtcgtaaaactgctgag
 agctgcogattggcctgcccgatggtcctggtgtgctcgtcaacacgcttacttggcttgtgaagtgt
 tgcccgtgctccaatgtgctgttccgtggcctgctgctcgtgatctgaggcgtactgttctggtagt
 ggtcgtggttttcggacctgggtgttttcgctcgtgtcgaagctgctcacgctagactgtaccccgatgc
 cccaccctccgtttggtgctgaggagcaaacgttcgctaccgtgctcgtactcgtttcggaccogata
 ctctggttccaatgtcccctcgtgaataccgctcgtgctgttctgcctgcccctcgatggacgtgctgcc
 gcttctggcgtggtgacgctatggctcctggcgcctccggacttctgtgaggatgaggtcactcaca
 tcgtgctgctgcccgcctggggactgggcgctccattgaggcctgtatacgtggcactggcccgtgatg
 ctggttagaggcggaccocgctgaattgagaggccctcgtcgtgaattctgtgctagggctctgctcga
 cccgatggagatgctcctcctttggctactccgtgacgacgcogctgctggtcctccccacaaattcg
 ctgggctagtgctgctggacgtgctggctactgtattggctgctgctggcgggtggcgttgaagttgtt
 gtactgcccgtggactcgtacacctccccccgctgaacctgtagacatggatgctgaactcgaggat
 gatgacgaaggattgttcggagag

SEQ ID NO: 129 = RS1.8

atgagtgccgaacagcgtaaaaagaaaaaacaccaccaccacgacccaaggacgtggagctgaagttgc
 tatggcggatgaggatggaggccgcttgagagctgctgctgagactactggaggacctggatcaccgg
 accctgcccgatggacccccccctacaccaaaccocgatcgtagaccgctgctagacctggattcgg
 tggcatggaggaccocgaggaaaacgaggacgaggcggacgaccccctgcccacgcccacgcccgatga
 ggctgcccctgcttctggagaggcggtagacgaacctgctgcccgatggagttgttagccctaggcaat
 tggctttgttggcgagcatggtagacgaggtgtgagaacaatcccttcccctccccctgaaactgat
 ggagcacaagaggaggcggctaggagtcctcaccacccccgtacaccttctatgagagcggattacgg
 cgaggaaaacgacgacgacgacgatgatgatgacgacgatgatcgtgatgcccggacgctgggttaggg

gacctgaaaccacttctgctgtccgtggagcataccccgatcctatggcgagtttgagccctagacca
 cctgccccgaggagacaccaccaccaccaccatcataggcgtagacgtgctcctagacgtcgttctgc
 cgtagtgactcttccaaatctggctcttcttcatctgctcttccgcttcatcttcggcctcatcgt
 cctcttcggcatccgcttcgagtagtgatgatgatgatgacgacgacgctgctagagccccgcttct
 gctgocgaccacgctgctggcggaactttgggagccgacgacgaggaggcgggagttcctgctcgtgc
 cccgggagctgctccgaggccttctccaccocgtgctgaacctgctccggctagaacaccggccgcta
 ctgctggtagactggagcgtagacgtgcccgtgctgctgtggctggtagagatgctactggcccttc
 actgctggccgtcctagacgtgttgaactggacgcgatgctgcttctgggtgcttctacgccctta
 ccgtgatggttacgtgtctggtagaaccttggcctggcgtggccacctccgccggacgtgtactct
 accgtggattggcgattctccgctgtctggggcgtccggaggctgaggaggctagagccct
 ttogaggettctggtagccctgctcctgtttgggctcctgaattggcgacgctgctcaacaatacgc
 cctcatcacacgcttctgttacactcccgacgcggaggctatgggatggctccaaaacctagagttg
 cccctggtagattgctctggatcaggcttgttccgctatctccggcgtgctcgttaactcttctcg
 ttcatctccggttctgtggctagagctgtgctcacttgggatccgcatggccgctggacgttccg
 ctgggactggctcatgttctgctgcccgtgtagcaatgtctagacgctacgaccgtgctcaaaaaggat
 tcttctcactgctcactgaggcgtgcttacgcccccttgggtggcccgtaaaaacgctgcctcactggc
 gcccgtagccccgatgacggtggcgacgccaaccgccacgatggtagatgctagaggcaaacccgc
 tggcgtgctgctccttgcctctgcccgccttcccctgccgatgaacgtgctgttctgcccgtt
 accgtgcccgtgggtgttggctgcttgggacgcttgagtgctgccccggtagtgccccgctgg
 gccgatgacgatgacgatgacgatggtagctggcgaggcggtagcgtgctgaggctggacg
 tgttctgttgaatgcctggctgctgtagaggaatctggaggctctggccgagggtctgacggag
 acttggcgctgtaccgggactggcgggagcaggcctgccgctccacctcgcggcgtcctgctgg
 gctgcccgtcctcctcatgcgacgctcctagactccgtgcttggctccgtgaaactccgttctgctg
 tgacgcttgggtctgatgagactgagaggcacttgagagtggtggaggatccgaggctgctgtg
 ctgctgctccgtgctgttcttgggtgctggtagcttgggcccctgcttggccgagatctcccgtt
 ttgtogagtgcgcgcgctgctgcccgcgatttgttgttccaaaaccaatccctccgcccctctgctcgc
 cgacactgttgcgcgtgcccattctctggctgctccggcttctacaccggcaccatctgcccgtgctt
 tggaggcttactgtgctcctcgtgctgtggctgaaactcaccgatcatccgctgttccctgctccctgg
 cgtcccgcctcatgttcgatcctagagcttggcttccctggccgctcgttgtgctgccccctcccc
 tggcggtgctccggctgcttccgctcctcctccgtgctcctggtccactccgcgctgcccgtgctgga
 tgagacaagtcccgaccctgaggatgttagagttgtgatcttactcgccttgcctggcgaggat
 ttggccgctggtagagctggcggtggccccctcctgaatggctgctgacgctgggtggttgtcttg
 cttgttggccgcctgggaaacgctctgtgtggctcctgctactgctgcttgggtggaaactggactg
 gcgctcccgatgttctgctctcgggtgctcaaggagttttggctgctctctactcgtgacttggcattc
 gctggagctgttgaattcctgggactcttggctggcgttgtgataggagactcatcgtcgtaaacgc
 tgtgagagctgcccattggcctgcccgatggctcctgttgtgtctcgtcaaacgcttacttggcttgtg
 aagtgttcccgtgtccaatgtgctgttccgtggcctgctgctcgtgatctgaggcgtactgttctg
 gctagtggtcgtgttctcggacctgggtgttctcgtcgtgtogaagctgctcaocgtagactgtacc
 cgatgccccaccctccgttctgtgctgtggagcaaacgttcgctaccgtgtccgtactcgttccggac

ccgatactctggttccaatgtcccctcgtgaataccgctcgtgctggttctgectgccctcgatggacgt
gctgccgcttctggcgctggtgacgctatggctcctggcgctccggacttctgtgaggatgaggctca
ctcacatcgtgcctgtgcccgctggggactgggcgctccattgaggcctgtatacgtggcactgggccc
gtgatgctggttagagggcgaccgctgaattgagaggccctcgtcgtgaattctgtgctagggctctg
ctcgaaccgatggagatgctcctcctttggtaactccgtgacgacgcccgatgctggtcctccccaca
aatcgcctgggctagtgctgctggacgtgctggtaactgtattggtgctgctgctggcggtggcgttgaag
ttggtggtactgccgctggactcgtacacctccccgcgtgaacctgtagacatggatgctgaactc
gaggatgatgacgacggattggtcggagag

SEQ ID NO: 130 = marca de His

5 HHHHHH

SEQ ID NO: 131 = Marca
MSYHHHHHHH

10 SEQ ID NO: 132 = Señal de Secreción
MKFLVNVLFVFMVVYISYIYA

SEQ ID NO: 133 = UL49.5

15 ATGTCGTA CTACCATCACCATCACCATCACATGACGGGGAAAACCCGCAAGACTGGGCCGCTGGGTGGT
GCTGTTGTTTCGTCGCGCTCGTCGCGGGCGTGCCCGGGGAGCCGCGAACCGCGCAGGCGCACGCGCGC
TTATCGGGGACGCGCAATGCCGGGGCGACAGCGCCGGTGTGGTGTCCGTCCCGGGGGTCCCTGGTGCC
TTTTATCTAGGCATGACCTCGATGGGCGTATGTATGATCGCGCACGTGTATCAGATATGCCAGCGGGC
ACTGGCCGCCGGGT CAGCCTGA

SEQ ID NO: 134 = UL10

ATGGGACGCCGGGCCCCCAGGGGATCCCCCGAGGCCGCGCCGGGCGCCGACGTCGCGCCCCGGGGCGCG
GGCGGCGTGGTGGGTCTGGTGTGTGCAGGTGGCGACGTTTCATCGTCTCGGCCATCTGCGTCTGGGGC
TCCTGGTGCTGGCCTCTGTGTTCCGGGACAGGTTTCCCTGCCTTTACGCCCCCGCGACCTCTTATGCG
AAGGCGAACGCCACGGTCGAGGTGCGCGGGGGTGTAGCCGTCCCCCTCCGGTTGGACACGCAGAGCCT
GCTGGCCACGTACGCAATTACGTCTACGCTGTTGCTGGCGGCGCCGTGTACGCCGCGGTGGGGCGCG
TGACCTCGCGCTACGAGCGCGCGCTGGATGCGGCCCGTCGCCTGGCGGCGGCCCGTATGGCGATGCCA
CACGCCACGCTAATCGCCGAAACGTCTGCGCGTGGCTGTTGCAGATCACAGTCTGCTGCTGGCCCA

CCGCATCAGCCAGCTGGCCCACCTTATCTACGTCCCTGCACCTTGGCGTGCCTCGTGTATCTCGCGGCC
ATTTTTGCACCAGGGGGTCTGAGCGGGACGTACCTGCGTCAGGTTACGGCCTGATTGACCCGGCG
CCGACGCACCATCGTATCGTCCGGTCCGGTGCGGGCAGTAATGACAAACGCCCTTATTACTGGGCACCCT
CCTGTGCACGGCCGCCCGCGGGTCTCGTTGAACACGATCGCCGCCCTGAACTTCAACTTTCCGCC
CGAGCATGCTCATCTGCCTGACGACGCTGTTCCGCCCTGCTTGTCTGTGCGCTGTTGTTGGTGGTTCGAG
GGGGTGTGTGTCACTACGTGCGCGTGTGGTGGGGCCCCACCTCGGGGCCATCGCCGCCACCGGCAT
CGTCGGCCTGGCCTGCGAGCACTACCACACCGGTGGTTACTACGTGGTGGAGCAGCAGTGGCCGGGG
CCCAGACGGGAGTCCGCGTCCGCCCTGGCGCTCGTCGCCGCCTTTGGCCTCGCCATGGCCGTGCTTCGG
TGCAOOGGCGCCTACCTGTATCACCGGCGACACCACACTAAATTTTTCGTGCATGCGCGACACCCG
GCACCGCGCCCATTCGGCGCTTCGACCGGTACGCAGCTCCATGCGCGTTCTAGGCGTGGCGGGCCGC
CCGGAGACCCGGGCTACGCGAAAACCCCTACGCGAGCGTGTCCCACCACGCCGAGATCGACCGGTAT
GGGGATTCCGACGGGGACCCGATCTACGACGAAGTGGCCCCGACCACGAGGCCGAGCTCTACGCCG
AGTGCAACGCCCCGGGCTGTGCCCGACGCCGAGCCCATTTACGACACCGTGGAGGGGTATGCGCCAA
GGTCCGCGGGGAGCCGGTGTACAGCACCGTTCGGCGATGGTAG

REIVINDICACIONES

1. Una formulación de vacuna que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un primer polipéptido inmunogénico que consiste en:
- 5 (a) una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos un 90 % con la SEQ ID NO: 2;
 (b) una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos un 90 % con la SEQ ID NO: 2 y que carece de 1-20 aminoácidos desde el extremo N-terminal, C-terminal, o desde los extremos tanto N-terminal como C-terminal de la SEQ ID NO: 2; o
 10 (c) una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2 y que carece de 1-20 aminoácidos desde el extremo N-terminal, C-terminal, o desde los extremos tanto N-terminal como C-terminal de la SEQ ID NO: 2.
2. La formulación de vacuna de la reivindicación 1, en la que el primer polipéptido consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2.
- 15 3. La formulación de vacuna de la reivindicación 1, que además comprende un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 que tiene una delección interna de 8-24 restos de aminoácido contiguos seleccionados entre los restos de aminoácido 340-363 de la SEQ ID NO: 5.
- 20 4. La formulación de vacuna de la reivindicación 3, en la que el segundo polipéptido consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 que tiene una delección interna de 8-24 restos de aminoácido contiguos seleccionados entre los restos de aminoácido 340-363 de la SEQ ID NO: 5.
- 25 5. La formulación de vacuna de la reivindicación 1, que además comprende un segundo polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos un 90 % con la SEQ ID NO: 4.
6. La formulación de vacuna de la reivindicación 1, que además comprende un segundo polipéptido que consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos un 90 % con la SEQ ID NO: 4.
- 30 7. La formulación de vacuna de la reivindicación 1, que además comprende un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos un 90 % con la SEQ ID NO: 4 y que carece de 1-20 restos de aminoácido desde el extremo N-terminal, C-terminal, o desde los extremos tanto N-terminal como C-terminal de la SEQ ID NO: 4.
- 35 8. La formulación de vacuna de una cualquiera de las reivindicaciones 3-7, que además comprende un tercer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 o un fragmento inmunogénico que comprende al menos 8 restos de aminoácido contiguos de la SEQ ID NO: 3.
- 40 9. La formulación de vacuna de la reivindicación 8, en la que el tercer polipéptido consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 o un fragmento inmunogénico que consiste en al menos 20 restos de aminoácido consecutivos seleccionados entre los restos 1-224 de la SEQ ID NO: 3.
- 45 10. La formulación de vacuna de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que el primer polipéptido comprende la SEQ ID NO: 2 que tiene una delección de 1-20 restos de aminoácido en el extremo N-terminal, C-terminal, o ambos, de la SEQ ID NO: 2.
- 50 11. La formulación de vacuna de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que el primer polipéptido consiste en la SEQ ID NO: 2 que tiene una delección de 1-20 restos de aminoácido en el extremo N-terminal, C-terminal, o ambos, de la SEQ ID NO: 2.
- 55 12. La formulación de vacuna de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que el primer polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos un 90 % con la SEQ ID NO: 2.
13. La formulación de vacuna de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que el primer polipéptido consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de al menos un 90 % con la SEQ ID NO: 2.
14. La formulación de vacuna de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que además comprende un adyuvante que comprende una o más fracciones purificadas de saponinas de quillaja.
- 60 15. La formulación de vacuna de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes para su uso en un método de tratamiento profiláctico y/o terapéutico del herpes VHS-1 o VHS-2.
- 65 16. La formulación de vacuna de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que la formulación de vacuna tiene una o más de las siguientes características:
- (i) inhibe síntomas del VHS-2, en particular reduce el número de lesiones herpéticas o reduce el número de días

que un sujeto experimenta lesiones herpéticas;

(ii) inhibe la infección por VHS-2 en un sujeto sin infectar, en particular aumenta el título de IgG frente a uno o más antígenos del VHS-2, aumenta la respuesta de linfocitos T frente a uno o más antígenos del VHS-2, o reduce el número de lesiones herpéticas al inicio de la infección por VHS-2; y

5 (iii) inhibe síntomas del VHS-2 o inhibe la infección por VHS-2 en tres dosis o menos.

17. La formulación de vacuna de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que dicha formulación de vacuna tiene una o más de las siguientes características:

10 (i) provoca una secreción de IFN- γ por linfocitos T en sujetos que están expuestos pero son seronegativos o infectados pero son asintomáticos al menos 2,3 veces más elevada que por linfocitos T en sujetos que experimentan al menos 4 brotes recurrentes de síntomas del VHS al año, opcionalmente en la que dichos linfocitos T son linfocitos T CD4⁺ o linfocitos T CD8⁺;

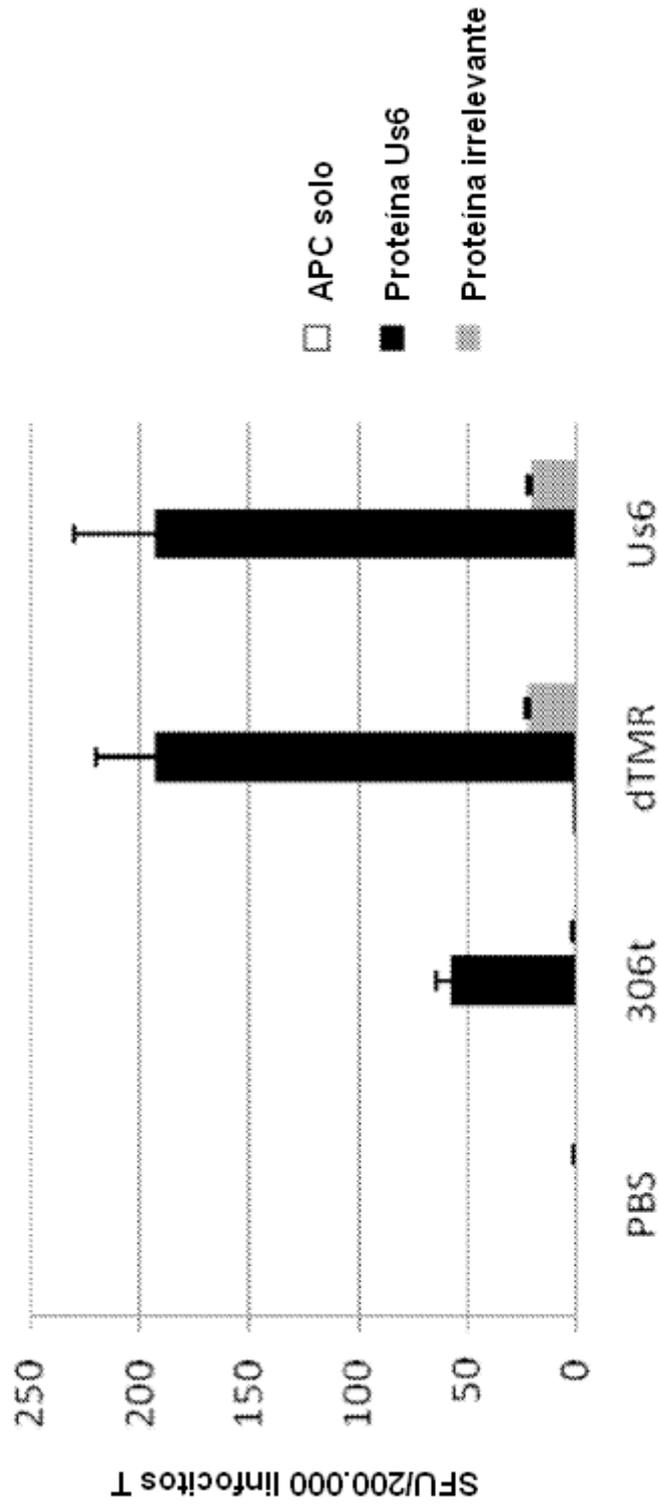
15 (ii) reduce uno o más síntomas de la infección por VHS-2 en un sujeto, en el que los síntomas de infección por VHS-2 comprenden uno o más de formación de lesiones, dolor, irritación, picor, fiebre, malestar general, dolor de cabeza, efusión viral, y pródromo; y

(iii) inhibe el inicio de la infección por VHS-2, inhibe el desarrollo de una infección por VHS-2 latente en un sujeto, reduce la efusión viral en un sujeto infectado con el VHS-2, o reduce la recurrencia de brotes en un sujeto infectado con el VHS-2.

20

Fig. 1A

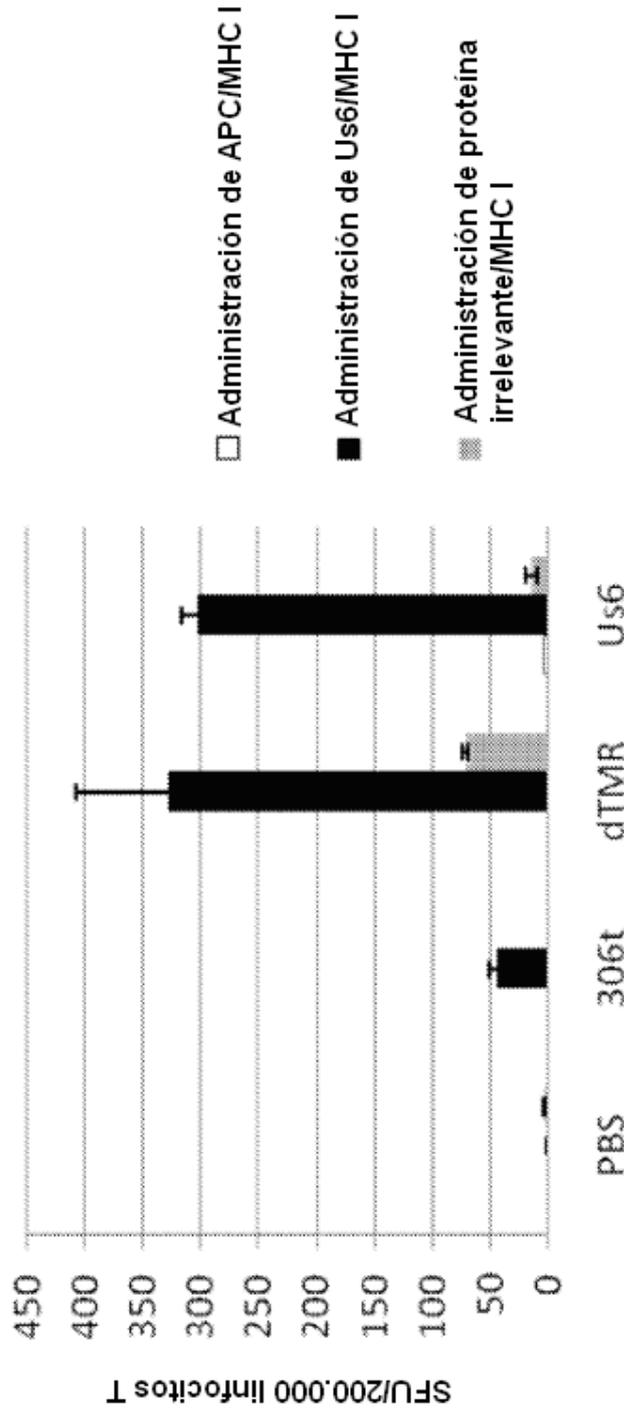
Respuestas de linfocitos T CD4 a diferentes formas de Us6



Inmunización con ADJ003

Fig. 1B

Respuestas de linfocitos T CD8 a diferentes formas de Us6



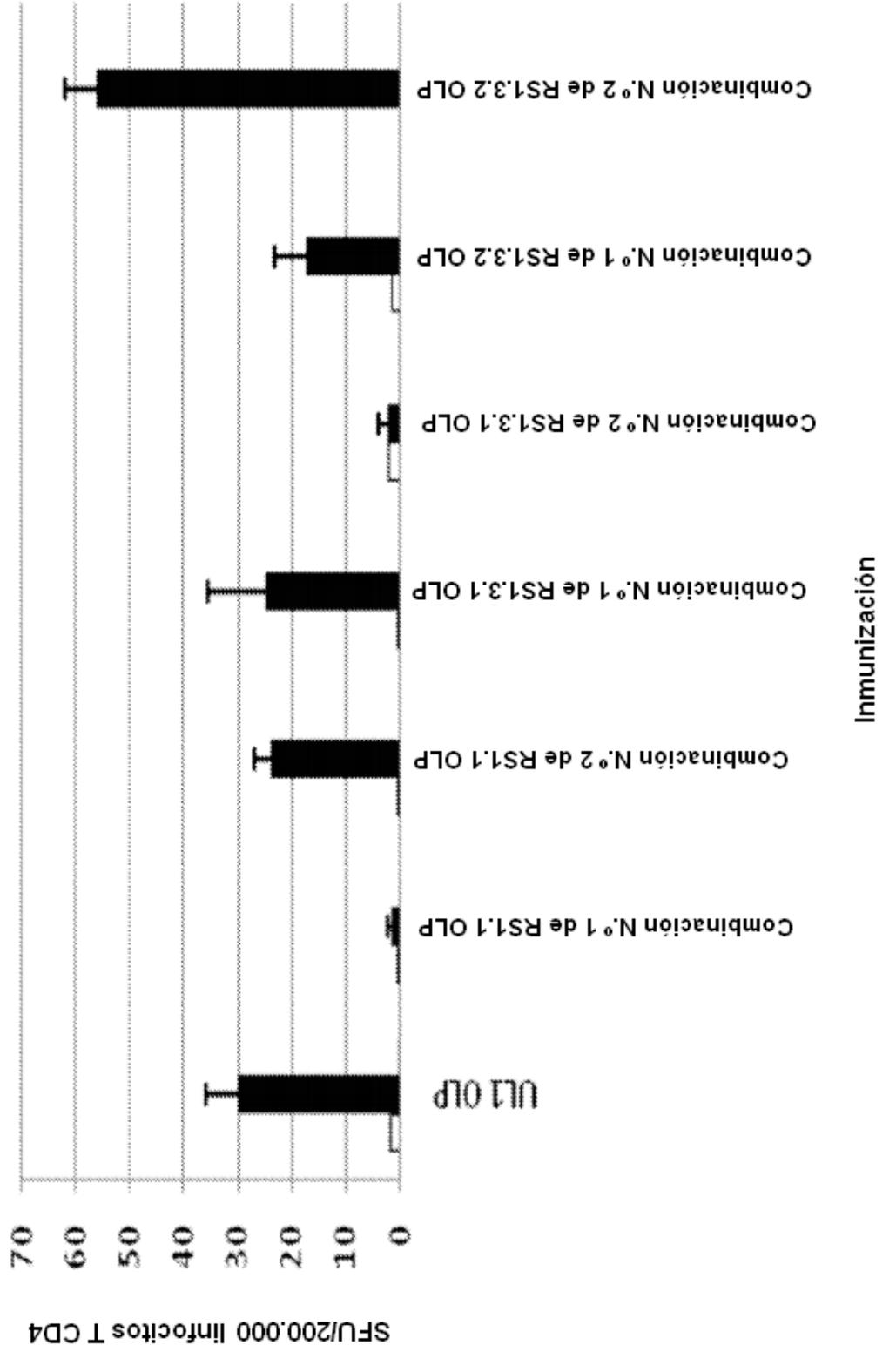
Inmunización con ADJ003

306t: Proteína Us6 sin región transmembrana (TMR) o citoplasmática
dTMR: Proteína Us6 sin región transmembrana (TMR)
Us6: Proteína Us6 de longitud completa

Todas las proteínas se expresaron en E. Coli

Los resultados son unidades formadoras de manchas de interferón-gamma por 200.000 linfocitos T (CD4+ o CD8+) sembrados por pocillo de placa Elipt

Fig. 2A
Linfocitos T CD4
 □ APC solo
 ■ Combinación de OLP de emparejamiento de inmunización
 ▨ Péptido irrelevante



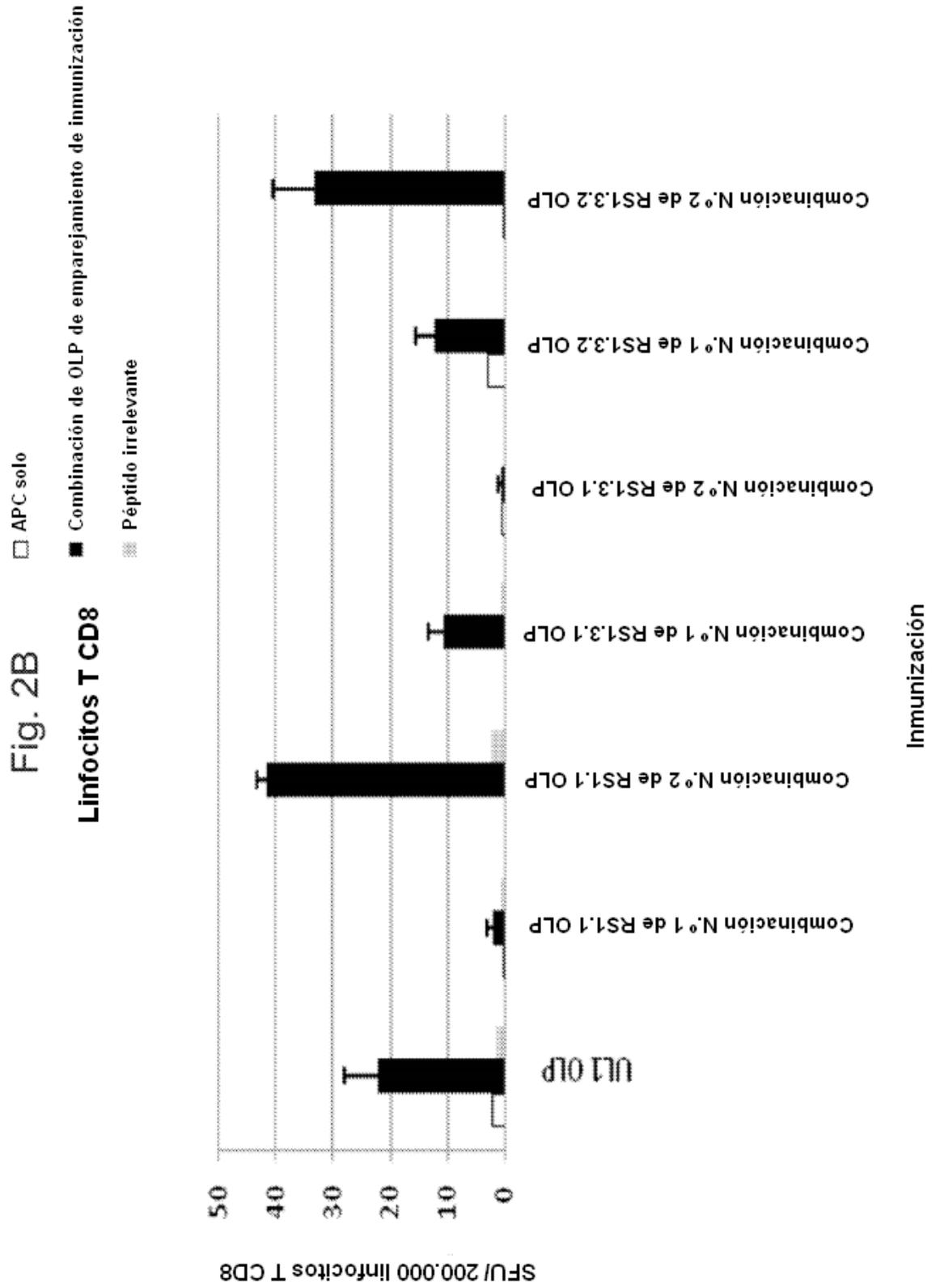


Fig. 3A

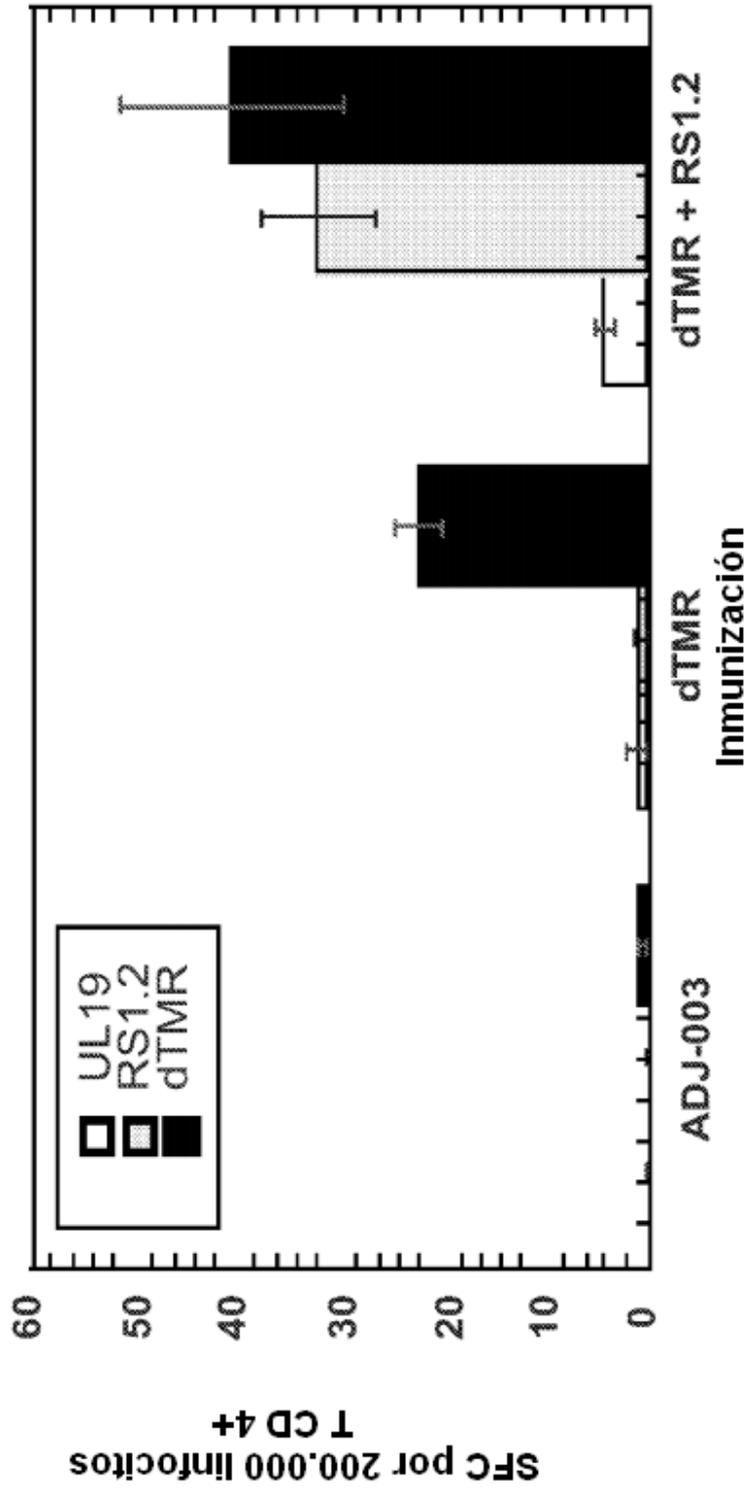


Fig. 3B

