



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 327 643**

51 Int. Cl.:
C07K 14/045 (2006.01)
C12N 15/86 (2006.01)
C12N 7/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **04777706 .5**
96 Fecha de presentación : **08.07.2004**
97 Número de publicación de la solicitud: **1651666**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **03.05.2006**

54 Título: **Vacunas contra citomegalovirus basadas en alfavirus.**

30 Prioridad: **11.07.2003 US 486501 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
02.11.2009

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
02.11.2009

73 Titular/es: **Alphavax, Inc.**
P.O. Box 110307, 2 Triangle Drive
Research Triangle Park
North Carolina 27709-0307, US

72 Inventor/es: **Chulay, Jeffrey D.;**
Dryga, Sergey;
Reap, Elizabeth A.;
Olmsted, Robert A. y
Morris, John S.

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 327 643 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 contra citomegalovirus basadas en alfavirus.

5 Antecedentes de la invención

El citomegalovirus humano (HCMV) es un herpesvirus que causa infección extensa y que se encuentra en todas las localizaciones geográficas y grupos socioeconómicos, con hasta el 85% de adultos infectados para la edad de 40 años en los Estados Unidos. Para las personas más sanas que adquieren el virus después del nacimiento no hay consecuencias a largo plazo. Sin embargo, el riesgo de infección por HCMV es significativo para varios grupos de alto riesgo incluidos: (i) niños nonatos, (ii) adultos que trabajan con niños, y (iii) personas inmunocomprometidas. La prevalencia de estos grupos de riesgo subyace la importancia del desarrollo de una vacuna segura y eficaz.

El HCMV es secretado típicamente por una serie de líquidos biológicos, por ejemplo, saliva, orina y semen. Por consiguiente, la transmisión del virus entre las personas puede producirse por contacto sexual o no sexual. Un individuo puede contraer el HCMV a través de la sangre o de transplantes de órganos, y una madre puede transmitirlo a su feto nonato.

El virus demuestra una latencia durante toda la vida, pero es más comúnmente no sintomático en los individuos sanos. Algunas veces puede causar una enfermedad con síntomas similares a los asociados con la mononucleosis. Sin embargo, puede causar enfermedad grave en individuos inmunocomprometidos, por ejemplo, receptores de transplantes o en individuos con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), además de los efectos graves, debilitadores en nonatos cuyos sistemas inmunes aún no han madurado.

En el caso de los transplantes, los receptores de transplantes de médula ósea muestran una incidencia relativamente alta de neumonía inducida por HCMV, con la consiguiente elevada mortalidad entre estos pacientes. En los pacientes con transplantes de órganos sólidos, las enfermedades provocadas por el HCMV pueden incluir un síndrome de HCMV (constituido por fiebre y leucopenia), hepatitis, colitis y neumonía. La enfermedad inducida por HCMV en estos receptores de transplantes está causada por los efectos inmunosupresores de los fármacos necesarios para la aceptación del transplante y la inducción de la enfermedad de injerto frente al huésped (GVHD). El efecto de la GVHD es más grave en los casos donde el donante del órgano/médula es seropositivo para HCMV y el receptor es seronegativo para HCMV.

Para los pacientes con SIDA, el HCMV es la infección oportunista más común, en gran parte por el hecho de que más del 90% de los individuos infectados por VIH están infectados también con HCMV. En estos pacientes, la infección se manifiesta más comúnmente como retinitis, y se presenta usualmente cuando los recuentos de células CD4+ son inferiores a 50/ μ l. Antes de la adopción de los protocolos antirretrovirales altamente activos (HAART), del 20 al 44% de los pacientes con SIDA desarrollaban enfermedad por HCMV. Mientras que el uso de los HAART ha dado también lugar a la reducción de la enfermedad por HCMV, la falta de disponibilidad de HAART para muchos pacientes con SIDA, así como la incapacidad de muchos pacientes para tolerar los HAART durante períodos de tiempo prolongados, hacen que la posibilidad de enfermedad por HCMV sea una preocupación continua.

El HCMV congénito, un resultado de la transmisión de la madre al feto, se produce en una tasa general de aproximadamente 1%, pero las tasas son mucho más altas y la enfermedad sintomática es más común cuando la madre tiene una infección primaria. Las mujeres pueden infectarse a través del contacto sexual, ya que la propagación del virus desde el cérvix y en el semen es común. Los niños infectados pueden permanecer virémicos durante hasta cinco años después del nacimiento, convirtiéndose en una fuente importante de infección en las guarderías.

El HCMV congénito puede tener manifestaciones horribles en los niños. Puede desarrollarse una enfermedad fulminante de inclusión citomegálica, caracterizada por ictericia, sarpullido petequeal, hepatoesplenomegalia, microcefalia y coriorretinitis. Con frecuencia se produce pérdida progresiva de la audición y retraso mental, que puede ser grave. Los costes estimados para la sociedad en términos de cuidados para las víctimas del HCMV congénito son de aproximadamente cuatro mil millones de dólares.

Por consiguiente, sigue existiendo una clara necesidad de una vacuna segura y eficaz para combatir la infección por HCMV, tanto de manera profiláctica (por ejemplo, en adolescentes y en mujeres con capacidad para procrear para prevenir la infección congénita o en candidatos a transplantes no infectados por HCMV) como de manera terapéutica (por ejemplo, en pacientes de transplantes infectados por HCMV antes y después del transplante de un órgano o de médula ósea).

Se proporcionan revisiones del desarrollo de diversas vacunas contra el citomegalovirus por Gonczol and Plotkin (Expert Opinion of Biological Therapy, 2001, 1(3) 401-412) y por Temperton (International Journal of Antimicrobial Agents; 2002, 19(3) 169-172).

McCue and Anders (Protein Expression and Purification, 1998, 13(3) 301-312) describen el uso del sistema de expresión del virus Semliki Forest para expresar una serie de genes de citomegalovirus en células de mamífero.

Rayner y col. (Reviews in Medical Virology, 2002, 12(5) 279-296) y Schlesinger and Dubensky (Current Opinion in Biotechnology, 1999, 10(5) 434-439) describen el uso de vectores de replicones de alfavirus para vacunación.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 es un diagrama del vector de replicón VRP-pp65/IE1/Tr-gB.

La Figura 2 muestra los resultados de un ensayo de neutralización de CMV tras la inmunización de ratones con diversas vacunas de CMV-VRP.

Las Figuras 3A-B muestran los resultados de un ensayo ELISPOT de IFN- γ tras la inmunización de ratones con vacunas de CMV-VRP. La Figura 3A muestra los resultados obtenidos usando el péptido pp65 N° 3 y una combinación de péptidos pp65 para evaluar las respuestas inmunes celulares. La Figura 3B muestra los resultados obtenidos usando el péptido IE1 N° 50 y una combinación de péptidos IE1 para evaluar las respuestas inmunes celulares.

Resumen de la invención

La presente invención proporciona una población de partículas de replicones de alfavirus en la que dichas partículas comprenden ARN de replicones de alfavirus, en la que un primer ARN del replicón comprende el ácido nucleico que codifica una proteína de fusión de citomegalovirus pp65 y las proteínas IE1 o sus epítomos, y un segundo ARN del replicón comprende el ácido nucleico que codifica la proteína gB del citomegalovirus o uno de sus epítomos, y en la que cada uno del primer y segundo ARN del replicón está contenido dentro de una partícula de replicón de alfavirus separada.

Además, en el presente documento se proporciona una población de partículas de replicones de alfavirus en la que dichas partículas comprenden un ARN del replicón que comprende una casete reguladora que dirige la transcripción y la traducción de un ácido nucleico que codifica una proteína de fusión de citomegalovirus pp65 y las proteínas IE1, o sus epítomos.

En el presente documento también se proporcionan usos de las poblaciones de esta invención en la fabricación de un medicamento para inducir una respuesta inmune para el CMV en un sujeto.

También se proporciona el uso de un primer componente de inmunización seleccionado del grupo constituido por una población de partículas de replicones de alfavirus que codifican inmunógenos de CMV, inmunógenos de CMV, moléculas de ácido nucleico que codifican inmunógenos de CMV, un vector viral no alfaviral que codifica inmunógenos de CMV, y cualquiera de sus combinaciones en la fabricación de un medicamento para cebar una respuesta inmune para el CMV, previo a estimular la respuesta de cebado por medio de la administración de un segundo componente de inmunización seleccionado del grupo constituido por una población de partículas de replicones de alfavirus que codifican inmunógenos de CMV, inmunógenos de CMV, moléculas de ácido nucleico que codifican inmunógenos de CMV, un vector viral no alfaviral que codifica inmunógenos de CMV, y cualquier combinación, en el que el primer componente de inmunización es diferente del segundo componente de inmunización y en el que al menos el primer componente de inmunización o el segundo componente de inmunización es una población según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.

También se proporciona el uso de un segundo componente de inmunización seleccionado del grupo constituido por una población de partículas de replicones de alfavirus que codifican inmunógenos de CMV, inmunógenos de CMV, moléculas de ácido nucleico que codifican inmunógenos de CMV, un vector viral no alfaviral que codifica inmunógenos de CMV, y cualquiera de sus combinaciones en la fabricación de un medicamento para estimular una respuesta inmune para el CMV, tras la respuesta de cebado de la administración de un primer componente de inmunización seleccionado del grupo constituido por una población de partículas de replicones de alfavirus que codifican inmunógenos de CMV, inmunógenos de CMV, moléculas de ácido nucleico que codifican inmunógenos de CMV, un vector viral no alfaviral que codifica inmunógenos de CMV, y cualquier combinación, en el que el primer componente de inmunización es diferente del segundo componente de inmunización y en el que al menos el primer componente de inmunización o el segundo componente de inmunización es una población según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.

Descripción detallada de la invención

Según se usa en el presente documento, “un”, “una”, o “el”, “la” pueden significar uno o más de uno. Por ejemplo, “una célula” puede significar una célula o una pluralidad de células.

“Alfavirus” significa un género de virus, que son todos miembros de la familia Togaviridae. Los alfavirus conocidos incluyen el virus de la encefalitis equina oriental (EEE), el virus de la encefalitis equina venezolana (VEE), el virus de Everglades, el virus Mucambo, el virus Pixuna, el virus de la encefalitis equina occidental (WEE), el virus Sindbis, el arbovirus 86 Sudafricano (S.A.AR86), el virus Semliki Forest, el virus Middleburg, el virus Chikungunya, el virus O'nyong-nyong, el virus Ross River, el virus Barmah Forest, el virus Getah, el virus Sagiyama, el virus Bebaru, el virus Mayaro, el virus Una, el virus Aura, el virus Whataroa, el virus Babanki, el virus Kyzylgach, el virus Highlands J, el virus Fort Morgan, el virus Ndumu y el virus Buggy Creek. El genoma alfaviral es un ARN mensajero codificador

monocatenario, modificado en el extremo 5' con un casquete metilado y en el extremo 3' con una extensión de poli (A) de longitud variable. Las subunidades estructurales que contienen una sola proteína viral, cápside, se asocian con el genoma de ARN en una nucleocápside icosaédrica. En el virión, la cápside está rodeada por una cubierta lipídica cubierta con una matriz regular de espículas de proteínas transmembranarias, cada una de las cuales está constituida por un complejo heterodimérico de dos glicoproteínas, E1 y E2. Véase Pedersen y col., J. Virol. 14:40 (1974). Se considera que los virus Sindbis y Semliki Forest son los alfavirus prototípicos, y se han estudiado de manera extensa. Véase Schlessinger, The Togaviridae and Flaviviridae, Plenum Publishing Corp., Nueva York (1986). Los alfavirus de preferencia usados en las construcciones y procedimientos de la invención reivindicada son VEE, S.A.AR86, Sindbis (por ejemplo, TR339, véase la Patente de EEUU N° 6.008.035) y el virus Semliki Forest.

Dentro de cada uno de los alfavirus nombrados, se conocen cepas y/o subtipos. Por ejemplo, se conocen varias cepas del virus de la encefalitis equina venezolana (VEE). Dentro de las cepas conocidas del VEE, se han reconocido subtipos. Por ejemplo, la cepa Trinidad Donkey es un subtipo IA/B, y los subtipos relacionados incluyen IC e IE. Se han aislado cepas virulentas del VEE durante la encefalitis epizootica transmitida por mosquitos en équidos en áreas tropicales y subtropicales del Nuevo Mundo. La cepa Trinidad Donkey es una de las cepas virulentas, epizooticas, y se ha pasado en serie en cultivo de tejidos para crear una cepa viva, atenuada (Berge y col. Amer. J. Hyg. 73: 209-218 (1961)) conocida como TC-83. Esta cepa, que contiene múltiples mutaciones de atenuación (véase a continuación, y Kinney y col. 1989 Virology 170: 19-30 (1989); con corrección informada en Kinney y col. J Virol 67(3): 1269-1277 (1993)) provoca la generación de anticuerpos neutralizantes específicos de VEE en la mayoría de los seres humanos y equinos y se ha usado exitosamente como una vacuna en ambas especies (por ejemplo, Pittman y col. Vaccine 14 (4): 337-343 (1996)). Por consiguiente, la cepa TC-83 de VEE puede también servir como la base genética para un sistema vector de replicones de alfavirus como se describe en el presente documento.

Los términos “replicón de ARN del alfavirus”, “ARN replicón de alfavirus”, “vector de replicón de alfavirus” y “replicón vector de ARN de alfavirus” se usan indistintamente para referirse a una molécula de ARN que expresa genes de proteínas no estructurales de manera tal que es capaz de dirigir su propia replicación (amplificación) y comprende, como mínimo, las secuencias 5' y 3' de reconocimiento de la replicación del alfavirus, secuencias codificadoras para proteínas no estructurales de alfavirus, y una extensión de poliadenosina. Puede contener además una casete reguladora y un ácido nucleico heterólogo de interés que se expresa a partir de la casete reguladora. Puede construirse también para que exprese una y no todas las proteínas estructurales del alfavirus.

Las formas de realización de los replicones de ARN del alfavirus utilizadas en la invención reivindicada pueden contener una o más “mutaciones de atenuación”, siendo una mutación de atenuación una delección, adición o sustitución de nucleótidos, o una mutación que comprende construcciones quiméricas o reorganizaciones que dan lugar a la pérdida de virulencia en un virus vivo que contiene la mutación comparado con el alfavirus de tipo salvaje adecuado. Previamente se han descrito varios ejemplos de mutaciones de atenuación en las Patentes de EEUU N° 5.639.650, 5.792.462 y 6.15.558. Las mutaciones de atenuación específicas para la glicoproteína E1 del VEE pueden incluir una mutación de atenuación en cualquiera de las posiciones de los aminoácidos 81, 272 y/o 253 de E1. Las partículas de alfavirus obtenidas a partir del mutante VEE-3042 contienen una sustitución de isoleucina en la posición 81 de E1, y las partículas de virus obtenidas a partir del mutante VEE-3040 contienen una mutación de atenuación en la posición 253 de E1. Las mutaciones de atenuación específicas para la glicoproteína E2 del VEE pueden incluir una mutación de atenuación en cualquiera de las posiciones de los aminoácidos 76, 120 y/o 209 de E2. Las partículas de alfavirus obtenidas a partir del mutante VEE-3014 contienen mutaciones de atenuación en las posiciones 272 de E1 y 209 de E2 (véase la Patente de EEUU N° 5.792.492). Una mutación de atenuación específica para la glicoproteína E3 del VEE incluye una mutación de atenuación constituida por una delección de los aminoácidos 56-59 de E3. Las partículas de virus obtenidas a partir del mutante VEE-3526, que actualmente se están desarrollando como una cepa de vacuna, contienen esta delección en E3 (aa56-59) así como una segunda mutación de atenuación en la posición 253 de E1.

Las mutaciones de atenuación específicas para la glicoproteína E2 de S.A.AR86 incluyen una mutación de atenuación en una cualquiera de las posiciones de los aminoácidos 304, 314, 372 y/o 376 de E2 (véase la Patente de EEUU N° 5.639.650). Como alternativa, la mutación de atenuación puede ser una sustitución, delección y/o inserción de un aminoácido en la glicoproteína E2, por ejemplo, en una cualquiera o más de las siguientes posiciones de aminoácidos en cualquier combinación: 158, 159, 160, 161 y/o 162 (véase Polo y col., Publicación PCT N° WO 00/61772).

Las mutaciones de atenuación pueden también estar presentes en las proteínas no estructurales del alfavirus, nsp1-nsp4. Las mutaciones de atenuación ejemplares en las proteínas no estructurales para S.A.AR86 incluyen, pero no se limitan a; codones que especifican un aminoácido de atenuación en una cualquiera o más de las siguientes: posición de aminoácido 538 de nsp1, posición de aminoácido 96 de nsp2, posición de aminoácido 372 de nsp2, posición de aminoácido 529 de nsp2, posición de aminoácido 571 de nsp2, posición de aminoácido 682 de nsp2, posición de aminoácido 804 de nsp2, posición de aminoácido 22 de nsp3, y en combinación, codones en las posiciones 529, 571, 682 y 804 de nsp2 y en la posición de aminoácido en nsp3. Otras mutaciones de atenuación ilustrativas para S.A.AR86 incluyen las descritas en la Solicitud de PCT N° PCT/US01/27644.

Otro tipo de mutación de atenuación de esta invención puede ser una o más mutaciones de atenuación en las regiones no traducidas del genoma del alfavirus que causan una pérdida de virulencia en un virus vivo que contiene tales mutaciones (por ejemplo, véase Niesters and Strauss “Defined mutations in the 5' non-translated sequence of Sindbis virus RNA” J. Virol 64: 4162-4168 (1990)). Un ejemplo de una de tales mutaciones es en el nucleótido 3 del ARN genómico de VEE, es decir, el tercer nucleótido después del casquete metilado 5' (véase, por ejemplo,

la Patente de EEUU N° 5.643.576, que describe una mutación G→C en el nucleótido 3; y White y col. "Role of alpha/beta interferon in Venezuelan Equine Encephalitis virus pathogenesis: effect of an attenuating mutation in the 5' untranslated region" J. Virol. 75:2706-2718 (2000)). La mutación puede ser una G→A, U o C, pero la mutación G→A resulta de preferencia para algunas formas de realización.

El término "proteína/proteínas estructural(es) de alfavirus" se refiere a una o a una combinación de las proteínas estructurales codificadas por un alfavirus: Éstas son producidas por el virus como una poliproteína y se representan generalmente en la bibliografía como C-E3-E2-6k-E1. E3 y 6k sirven como señales de translocación/transporte de membrana para las dos glicoproteínas, E2 y E1. Por consiguiente, el uso del término E1 puede referirse en el presente documento a E1, E3-E1, 6k-E1, o E3-6k-E1, y el uso del término E2 puede referirse en el presente documento a E2, PE2, E3-E2, 6k-E2, o E3-6k-E2. Como se analizó anteriormente para el replicón, las formas de realización específicas de las proteínas estructurales del alfavirus utilizadas en la invención reivindicada pueden contener una o más mutaciones de atenuación, siendo una mutación de atenuación una delección, adición y/o sustitución de nucleótidos de uno o más nucleótidos, o una mutación que comprende reorganización o construcción quimérica que da como resultado una pérdida de virulencia en un virus vivo que contiene la mutación en comparación con el alfavirus de tipo salvaje adecuado.

Los términos "partículas de replicón de alfavirus (ARP)", "partículas de replicón de virus", y "partículas de alfavirus recombinantes", usadas indistintamente en el presente documento, significan un complejo estructural análogo al virión que incorpora un ARN de replicón de alfavirus que expresa una o más secuencias de ARN heterólogo. Típicamente, el complejo estructural análogo al virión incluye una o más proteínas estructurales de alfavirus incluidas en una envoltura lipídica que encierra una nucleocápside que a su vez encierra el ARN. La envoltura lipídica deriva típicamente de la membrana plasmática de la célula en la que se producen las partículas. De preferencia, el ARN de replicón de alfavirus está rodeado por una estructura de nucleocápside que comprende la proteína de cápside del alfavirus, y las glicoproteínas del alfavirus están incluidas en la envoltura lipídica derivada de la célula. Las ARP son infecciosas pero defectuosas para la propagación, es decir, el ARN de replicón no puede propagarse más allá de la célula huésped dentro de la que las partículas infectan inicialmente, en ausencia del(los) ácido(s) nucleico(s) ayudantes que codifica(n) las proteínas estructurales del alfavirus. Las proteínas estructurales y el ARN de replicón de las ARP pueden derivar mismo o de diferentes alfavirus. En una forma de realización, el ARN de replicón y las proteínas estructurales derivan ambos del VEE, y tales partículas se denominan algunas veces en el presente documento "VRP" o "VRPs". En otra forma de realización, el ARN de replicón deriva del VEE y las proteínas estructurales derivan del virus Sindbis (véase, por ejemplo, Dubensky y col., Patente de EEUU N° 6.376.236).

El término "ayudante(s)" se refiere a una o más moléculas de ácido nucleico capaces de expresarse para producir una o más proteínas estructurales del alfavirus. Los ayudantes pueden ser moléculas de ARN o ADN. En una forma de realización, el ayudante es una molécula de ADN que comprende un promotor capaz de dirigir la expresión del ácido nucleico que codifica todas las proteínas estructurales del alfavirus. En otra forma de realización, el ayudante comprende dos moléculas de ARN que expresan juntas el ácido nucleico que codifica todas las proteínas estructurales del alfavirus. Estas dos moléculas de ARN pueden producirse *in vitro*, o pueden generarse a partir de un único ayudante de ADN que se resuelve a sí mismo en dos moléculas separadas *in vivo*. En el caso de las construcciones de ayudantes de ADN que no utilizan señales de reconocimiento alfavirales para la replicación y la transcripción, la frecuencia teórica de recombinación es inferior que los sistemas ayudantes de ARN bipartitos que utilizan tales señales.

Los términos "célula ayudante" y "célula empaquetadora" se usan indistintamente en el presente documento y se refieren a la célula en la que se producen las partículas de replicón de alfavirus. La célula ayudante comprende una serie de ayudantes que codifican una o más proteínas estructurales del alfavirus. Según se divulga en el presente documento, los ayudantes pueden ser ARN o ADN. La célula puede ser cualquier célula que sea permisiva para el alfavirus, es decir, células que son capaces de producir partículas de alfavirus tras la introducción de un transcrito de ARN viral. Las células permisivas para el alfavirus incluyen, pero no se limitan a, células Vero, células de riñón de cría de hámster (BHK), células 293, 293T, células de fibroblastos de embrión de pollo (CEF), y células de ovario de hámster chino (CHO). En ciertas formas de realización de la invención reivindicada, la célula ayudante o empaquetadora puede incluir además una polimerasa de ARN dependiente de ARN y/o una proteasa específica de secuencia.

El término "fragmento inmunogénico" significa un fragmento (por ejemplo, un péptido) de una proteína de CMV que puede estimular respuestas inmunes humores o celulares en el huésped.

Para estimular la rama humoral del sistema inmune, es decir, la producción de anticuerpos específicos de antígeno, un fragmento inmunogénico puede incluir al menos aproximadamente 5-10 residuos de aminoácidos contiguos de la molécula de longitud total, de preferencia al menos aproximadamente 15-25 residuos de aminoácidos contiguos de la molécula de longitud total, y de más preferencia al menos aproximadamente 20-50 o más residuos de aminoácidos contiguos de la molécula de longitud total, que definen un epítipo, o cualquier número entero entre cinco aminoácidos y la secuencia de longitud total, a condición de que el fragmento en cuestión conserve actividad inmunogénica, según se mide por medio de cualquiera de los ensayos conocidos en la técnica, tales como los que se describen en el presente documento.

Las regiones de un polipéptido dado que incluyen un epítipo pueden identificarse usando cualquier serie de técnicas de mapeo de epítopos, bien conocidas en la técnica. (Véase, por ejemplo, Epitopen Mapping Protocols in Methods

in Molecular Biology, Vol. 66, Glenn E. Morris, Ed., 1996, Humana Press, Totowa, N.J.). Por ejemplo, los epítomos lineales pueden determinarse, por ejemplo, sintetizando al mismo tiempo grandes cantidades de péptidos en soportes sólidos, correspondiendo los péptidos a porciones de la molécula de proteína, y haciendo reaccionar los péptidos con anticuerpos mientras los péptidos están aún unidos a los soportes. Tales técnicas son conocidas en la técnica y se describen en, por ejemplo, la Patente de EEUU N° 4.708.871; Geysen y col. (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81: 3998-4002; Geysen y col. (1986) Molec. Immunol. 23: 709-715.

De manera similar, los epítomos conformacionales se identifican fácilmente determinando la configuración espacial de los aminoácidos tal como, por ejemplo, por medio de cristalografía de rayos x y resonancia magnética nuclear bidimensional. Véase, por ejemplo, Epitope Mapping Protocols, *supra*. Las regiones antigénicas de las proteínas pueden identificarse también usando gráficos de antigenicidad e hidropatía convencionales, tales como los calculados usando, por ejemplo, el programa informático Omega versión 1.0 disponible del Oxford Molecular Group. Este programa informático utiliza el método de Hopp/Woods (Hopp y col., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1981) 78: 3824-3828) para determinar los perfiles de antigenicidad y la técnica de Kyte-Doolittle (Kyte y col., J. Mol. Biol. (1982) 157: 105-132) para los gráficos de perfil hidropático.

Por lo general, los epítomos de células T que están involucradas en el estímulo de la rama celular del sistema inmune de un sujeto son péptidos cortos de aproximadamente 8-25 aminoácidos, y éstos no se predicen típicamente por medio de los procedimientos descritos anteriormente para identificar epítomos humorales. Una manera común para identificar los epítomos de células T es usar péptidos sintéticos de superposición y analizar combinaciones de estos péptidos, o los individuales, que son reconocidos por las células T de animales que son inmunes al antígeno de interés, usando, por ejemplo un ensayo de inmunotransferencia ligado a enzimas (ELISPOT). Estos péptidos de superposición pueden también usarse en otros ensayos tales como la estimulación de la liberación o secreción de citocinas, o pueden evaluarse construyendo tetrameros del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) que contienen el péptido. Tales fragmentos inmunogénicos pueden identificarse también basándose en su capacidad para estimular la proliferación de linfocitos en respuesta al estímulo por diversos fragmentos del antígeno de interés.

El término “epítomo”, según se usa en el presente documento, se refiere a una secuencia de al menos aproximadamente 3 a 5, de preferencia aproximadamente 5 a 10 ó 15, y no más de aproximadamente 1.000 aminoácidos (o cualquier número entero incluido en el intervalo), que define una secuencia que por sí misma o como parte de una secuencia mayor, se une a un anticuerpo generado en respuesta a tal secuencia o estimula una respuesta inmune celular. No hay un límite superior crítico para la longitud del fragmento, que puede comprender prácticamente la longitud total de la secuencia de la proteína, o incluso una proteína de fusión que comprende dos o más epítomos de una única o de múltiples proteínas de CMV. Un epítomo para uso en el sujeto de la invención no está limitado a un polipéptido que tiene la secuencia exacta de la porción de la proteína original de la que deriva. De hecho, hay muchas cepas o aislamientos conocidos de CMV y el virus conserva la capacidad para continuar la adaptación, y hay varios dominios variables en el virus que exhiben grados relativamente elevados de variabilidad entre los aislamientos. Por consiguiente, el término “epítomo” abarca secuencias idénticas a la secuencia nativa, así como modificaciones a la secuencia nativa, tales como delecciones, adiciones y sustituciones (por lo general, pero no siempre, conservadoras en la naturaleza).

El término “casete reguladora” significa una secuencia de ácido nucleico que codifica uno o más elementos necesarios para dirigir la transcripción y/o traducción de un ácido nucleico que codifica uno o más polipéptidos. En una forma de realización, la casete reguladora comprende sólo un promotor subgenómico del alfavirus para dirigir la transcripción de un ARN localizado en el citoplasma que a continuación se remata, y el extremo rematado del ARN dirige la traducción del ARN subgenómico. En otra forma de realización, la casete reguladora comprende un sitio interno de entrada de ribosomas, o IRES, que dirige la traducción de una región codificadora secuencia abajo. En otra forma de realización, la casete reguladora comprende un promotor subgenómico del alfavirus y un IRES, y se construye para permitir que el promotor subgenómico dirija la transcripción (y por consiguiente, la amplificación) de la secuencia de ARN secuencia abajo del promotor y para permitir que el IRES dirija la traducción del ARN subgenómico.

“IRES” significa un sitio interno de entrada de ribosomas. Se han encontrado secuencias de IRES en numerosos transcritos de virus que infectan células de vertebrados e invertebrados así como en transcritos de genes de vertebrados e invertebrados. Los ejemplos de elementos IRES adecuados para uso en esta invención incluyen: elementos IRES virales de Picornavirus, por ejemplo, poliovirus (PV), virus de encefalimiocarditis (EMCV), virus de la fiebre aftosa (FMDV), de Flavivirus, por ejemplo, virus de hepatitis C (VHC), de Pestivirus, por ejemplo, virus de la peste porcina clásica (CSFV), de Retrovirus, por ejemplo, virus de la leucemia murina (MLV), de Lentivirus, por ejemplo, virus de inmunodeficiencia en simios (VIS), o elementos celulares IRES de ARNm tales como los de los factores de iniciación de la traducción, por ejemplo, eIF4G o DAP5, de factores de transcripción, por ejemplo, c-Myc (Yang and Sarnow, Nucleic Acids Research 25: 2800-2807, 1997) o factor represor de NF- κ B (NRF), de factores de crecimiento, por ejemplo, factor vascular de crecimiento endotelial (VEGF), factor de crecimiento de fibroblastos (FGF-2), factor B de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF B), de genes homeóticos, por ejemplo, *Antennapedia*, de proteínas de supervivencia, por ejemplo, inhibidor de la apoptosis ligado a X (XIAP) o Apaf-1, o chaperones, por ejemplo, la proteína BiP de unión a cadenas pesadas de inmunoglobulinas (revisado en Martinez-Salas y col., Journal of General Virology 82: 973-984 (2001)).

Las secuencias de IRES de preferencia que pueden usarse en estas formas de realización derivan de: virus de encefalomiocarditis (EMCV, ATCC N° de acceso NC001479), virus de la parálisis del grillo (N° de acceso AF218039), virus de Drosophila C ATCC N° de acceso AF014388, virus intestinal de *Plautia stali* (ATCC N° de acceso AB006531),

virus de *Rhopalosiphum padi* (ATCC N° de acceso AF022937), virus Himetobi P (ATCC N° de acceso AB017037), virus de la parálisis aguda de las abejas (ATCC N° de acceso AF150629), virus de la celda real negra (ATCC N° de acceso AF183905), virus de *Triatoma* (ATCC N° de acceso AF178440), virus *Acyrtosiphon pisum* (ATCC N° de acceso AF024514), virus infeccioso de flacherie (ATCC N° de acceso AB000906), y virus Sacbrood (ATCC N° de acceso AF092924). Además de los elementos IRES que se presentan en la naturaleza presentados anteriormente, pueden usarse también secuencias sintéticas de IRES, diseñadas para imitar la función de las secuencias de IRES que se presentan en la naturaleza. Cuando se usa más de un IRES en una construcción de replicón, los elementos IRES pueden ser iguales o diferentes.

“Estímulo” o “Estimulador” significa una segunda inmunización, tras una inmunización inicial (o “cebadora”) que aumenta la respuesta inmune en el huésped. En una forma de realización, la invención proporciona específicamente una composición que produce una respuesta anamnésica contra un herpesvirus, por ejemplo, infección por CMV, en un sujeto sensibilizado, por ejemplo, un caballo, una vaca, o un ser humano, que comprende una cantidad inductora de respuesta anamnésica de un componente inmunizador de un herpesvirus, por ejemplo, CMV. Según se utiliza en el presente documento, la expresión “respuesta anamnésica” significa una respuesta inmune secundaria “estimuladora” en un sujeto sensibilizado. Por “sujeto sensibilizado” se entiende un sujeto que ha estado previamente en contacto con antígenos de un herpesvirus, por ejemplo, CMV, ya sea por exposición natural al virus o por vacunación (inmunización primaria) con componentes inmunizadores del herpesvirus, por ejemplo, partículas de replicón de alfavirus que expresan CMV.

Con 230 pares de kilobases de ADN de doble cadena, el genoma del citomegalovirus es el β -herpesvirus más grande conocido que infecta a los seres humanos. Tiene más de 200 marcos de lectura abiertos responsables de la codificación de al menos 165 genes; estos están organizados en dos segmentos, denominados largo único (U_L) y corto único (U_S), que están separados por secuencias de nucleótidos inversas repetitivas. Por consiguiente, la elección de potenciales antígenos para usar en una vacuna es muy grande.

Pueden obtenerse algunas sugerencias con respecto a enfoques de vacunas de respuestas de individuos sanos, seropositivos. En estos individuos, el 92% tienen células T “CTL” presentes que tienen como diana el antígeno pp65, el 76% tiene CTL para el antígeno IE1, el 33% para el antígeno gB, y el 30% para el antígeno pp150 (Gyulaj y col., 2000 J. Infectious Diseases 181: 1537). En contraste, cuando se suprime esta inmunidad mediada por células, las manifestaciones de la enfermedad por HCMV son más graves. Además, el número reproductor (número de células infectadas por virus liberados de una célula infectada) está reducido 2 a 7 veces en huéspedes que experimentaron contacto con HCMV. La replicación del HCMV en huéspedes inmunocomprometidos que experimentan contacto con HCMV está retrasada en comparación con los huéspedes que no tuvieron contacto con HCMV (tiempo de duplicación de 0,38 días y 1,12 días, respectivamente). Como conclusión, se ha demostrado también que las respuestas celulares para pp65 e IE1 protegen de la infección por CMV en modelos animales usando los homólogos de los genes de HCMV que codifican pp65 e IE1 (véase Morello y col., J. Virol. 2000 Vol. 74: 3696). Finalmente, la transferencia adoptiva de CTL específicas para pp65 a los receptores de trasplante de médula ósea los protege de la enfermedad por CMV (Greenberg, P., Keystone Symposium, abril de 2001; véase también Walter y col., N. Engl. J. Med. 1995, 333: 1038).

También están presentes anticuerpos para la glicoproteína B (gB) en individuos infectados por HCMV; estos anticuerpos son neutralizantes y se han implicado en la protección de neonatos frente a la infección primaria en modelos animales (Bourne y col., 2001 J. Infectious Diseases 183: 59; Chatterjee y col., 2001 J. Infectious Diseases 183: 1547). Por consiguiente, se espera que una vacuna de preferencia para seres humanos proporcione tanto inmunidad celular como humoral para que resulte eficaz. Se han usado las vacunas de virus vivos, atenuados, usando la cepa Towne de HCMV en pacientes de trasplantes para reducir la gravedad del CMV inducido por el trasplante en los receptores seronegativos que recibieron un riñón seropositivo (Plotkin 1994, Transplantation 58: 1176). Sin embargo, por la preocupación en lo que respecta a la seguridad de las vacunas de virus vivos, atenuados, derivados de un virus que causa una infección crónica, persistente que puede transmitirse al feto, y que puede reactivarse durante periodos de inmunosupresión, resultan de preferencia los enfoques alternativos.

El sistema de vectores de replicón de alfavirus proporciona la oportunidad para inducir una potente inmunidad humoral y celular en los seres humanos. El sistema de vectores de replicón se basa en la maquinaria de replicación de un alfavirus, constituida por un vector ARN de replicón y uno o más ácidos nucleicos ayudantes (revisado en Rayner y col. (2002) Rev. Med. Virol. 12: 279-296; véanse también las Patentes de EEUU N° 5.792.462; 6.156.558; Pushko y col. (1997) Virology 239: 389-401; Publicación de Patente de EEUU N° 20020141975; Publicación PCT N° WO 03/023026). El ARN del replicón contiene secuencias necesarias para la replicación y el empaquetamiento del ARN en una partícula análoga al virus. Éste expresa las proteínas no estructurales necesarias para la replicación del genoma y la transcripción del ARN subgenómico (si se utilizan tales construcciones), pero carece de los genes de proteínas estructurales necesarias para la formación de las partículas virales. El replicón se construye de manera que una casete reguladora pueda dirigir la expresión de un ácido nucleico de interés, en esta invención, uno o más ácidos nucleicos que codifican polipéptidos de CMV o sus fragmentos inmunogénicos. Uno o más ácidos nucleicos ayudantes codifican la cápside y las glicoproteínas del alfavirus. Cuando se introduce el vector de ARN del replicón y el o los ácidos nucleicos ayudantes en una célula permisiva para el alfavirus, el ARN del replicón se empaqueta en las partículas análogas al virus, que se recogen y se purifican para producir un inmunógeno, es decir, una composición de vacuna.

En una forma de realización, se usa un replicón basado en el virus de la encefalitis equina venezolana (VEE) como el vector para los polipéptidos del CMV. Los ácidos nucleicos que codifican las proteínas de CMV gB (por ejemplo, de la cepa Towne), IE1 y pp65 (por ejemplo, de la cepa AD169) pueden clonarse en el vector del alfavirus, por ejemplo, el vector de VEE, individualmente o en diversas combinaciones. Tales combinaciones abarcan secuencias de ácidos nucleicos que codifican una proteína de fusión o IE1 y pp65 (o sus epítomos) o pueden abarcar múltiples casetes reguladoras dentro de un único replicón, en el que cada casete dirige una única secuencia codificadora o una secuencia de ácido nucleico que codifica una proteína de fusión de dos o más polipéptidos de CMV, o sus fragmentos inmunogénicos.

Cada inmunógeno deseado (es decir, un polipéptido de CMV o uno de sus fragmentos inmunogénicos) puede estar codificado por el ácido nucleico expresado en una partícula de replicón de alfavirus separada, y las mezclas de dos o más ARP, que comprenden cada una un ácido nucleico que codifica un único inmunógeno de CMV, pueden prepararse y administrarse a un sujeto. Pueden generarse composiciones que comprenden poblaciones de una, dos o tres (o más) ARP diferentes, aunque las composiciones según la reivindicación 1 tienen dos ARP diferentes. Por ejemplo, en el caso de tres ARP diferentes, cada ARP codifica un único polipéptido de CMV, por ejemplo, IE1, pp65 y gB (o sus fragmentos inmunogénicos) y cada ARP no codifica los otros polipéptidos de CMV. En el caso de dos ARP diferentes, una ARP puede expresar dos polipéptidos de CMV, por ejemplo, IE1 y pp65, ya sea como proteínas de fusión o bajo el control de casetes reguladoras separadas, como se describió anteriormente, y la segunda ARP puede expresar un polipéptido de CMV que es diferente, por ejemplo, gB. Como alternativa, una primera ARP puede expresar IE1 y una segunda ARP puede expresar pp65. En otra forma de realización de una composición que comprende dos ARP diferentes, una primera ARP puede expresar pp65 y la segunda ARP puede expresar gB. En una forma de realización que utiliza una única ARP, el vector del replicón puede incluir una casete reguladora que dirige la expresión de un ácido nucleico que codifica una proteína de fusión que comprende al menos pp65 e IE1, y en una forma de realización específica, que además comprende el ácido nucleico que codifica gB. En otra forma de realización de ARP única, una casete reguladora puede dirigir la expresión del ácido nucleico que codifica gB, una segunda casete reguladora puede dirigir la expresión del ácido nucleico que codifica IE1, y una tercera casete reguladora puede dirigir la expresión del ácido nucleico que codifica pp65. Los componentes del ácido nucleico que codifican la casete reguladora (RC) pueden estar en cualquier orden, por ejemplo, RC-gB/RC-IE1/RC-pp65, y/o RC-pp65/RC-IE1/RC-gB. En otra forma de realización de ARP única, una primera casete reguladora puede dirigir la expresión de un ácido nucleico que codifica una proteína de fusión pp65-IE1, y una segunda RC puede dirigir la expresión del ácido nucleico que codifica gB. En todas las formas de realización descritas en el presente documento, el uso de los términos “pp65”, “IE1” y “gB” tienen la intención de abarcar los péptidos de longitud total, los fragmentos inmunogénicos y/o sus epítomos. Pueden clonarse las secuencias de ácidos nucleicos de cepas conocidas de virus CMV, por ejemplo, Towne y AD 169, y/o pueden ser secuencias sintéticas que representan secuencias de consenso de las secuencias de CMV o epítomos de uno o más polipéptidos de CMV, o secuencias quiméricas incluidos fragmentos o epítomos de diferentes cepas de CMV.

Por consiguiente, en ciertas formas de realización, la presente invención proporciona una población de partículas de replicón de alfavirus en las que dichas partículas comprenden ARN del replicón de alfavirus, en las que un primer ARN de replicón comprende el ácido nucleico que codifica una proteína de fusión de las proteínas pp65 e IE1 de citomegalovirus o sus epítomos, y un segundo ARN de replicón comprende el ácido nucleico que codifica la proteína gB de citomegalovirus o uno de sus epítomos, y en las que cada uno del primer y segundo ARN de replicón está contenido dentro de una partícula de replicón de alfavirus separada. En ciertas formas de realización, los ARN de replicón de las partículas de esta población puede codificar además una proteína gB de CMV, y/o sus fragmentos inmunogénicos y la producción de la proteína gB de CMV puede estar bajo el control de una tercera casete reguladora, separada.

En el presente documento se proporciona además una población de partículas de replicón de alfavirus en la que las partículas comprenden un ARN de replicón que comprende una casete reguladora que dirige la transcripción y la traducción de un ácido nucleico que codifica una proteína de fusión de las proteínas pp65 e IE1 de citomegalovirus, o sus epítomos.

En formas de realización de esta invención en las que los ARN del replicón dirigen la expresión del ácido nucleico que codifica las proteínas de CMV y/o sus fragmentos inmunogénicos de esta invención a partir de casetes reguladoras separadas (por ejemplo, una, dos o tres casetes reguladoras presentes en el mismo ARN de replicón o en ARN de replicón separados de partículas separadas en una población), las casetes reguladoras pueden ser todas iguales, las casetes reguladoras pueden ser todas diferentes y/o las casetes reguladoras pueden estar presentes en cualquier combinación (por ejemplo, dos son iguales y una es diferente).

En algunas formas de realización, la casete reguladora de la invención puede ser un promotor subgenómico del alfavirus. En otras formas de realización, la casete reguladora de esta invención puede comprender (i) un promotor subgenómico del alfavirus para dirigir la transcripción, y (ii) un elemento IRES para dirigir la traducción.

Según la invención en la que el ácido nucleico que codifica la proteína pp65 de CMV y el ácido nucleico que codifica la proteína IE1 de CMV están presentes en el mismo replicón, el ácido nucleico está presente como una secuencia codificadora que produce una proteína de fusión de pp65 e IE1. Un ejemplo no limitante de un ácido nucleico que codifica una proteína de fusión pp65/IE1 se proporciona como SEC ID N°: 3 y otro ejemplo no limitante de una secuencia de aminoácidos de una proteína de fusión pp65/IE1 se proporciona en el presente documento como

SEC ID N°: 4. Un experto en la técnica podría determinar fácilmente otros ácidos nucleicos que codifican la proteína de fusión pp65/IE1 de esta invención y variaría basándose, por ejemplo, en sustituciones conservadoras de aminoácidos, así como en deleciones y/o adiciones que tengan un efecto neutro o nominal en las características funcionales de la proteína de fusión.

En aquellas formas de realización de esta invención en las que el ARN de replicón comprende un ácido nucleico que codifica la proteína gB de CMV o uno de sus fragmentos inmunogénicos, el dominio transmembranario de la proteína gB o uno de sus fragmentos inmunogénicos puede estar presente o puede estar delecionado. Un ejemplo no limitante de un ácido nucleico que codifica una proteína gB de CMV que se ha truncado para deleccionar el dominio transmembranario se proporciona en el presente documento como SEC ID N°: 1. Un ejemplo no limitante de una secuencia de aminoácidos de una proteína gB de CMV truncada se proporciona en el presente documento como SEC ID N°: 2. Un experto en la técnica podrá determinar fácilmente otros ácidos nucleicos que codifican la proteína gB de esta invención y variarán basándose en la redundancia del código del ADN. Un experto en la técnica podrá determinar fácilmente otras secuencias de aminoácidos que tienen las características funcionales de la proteína gB de esta invención y variarán basándose, por ejemplo, en sustituciones conservadoras de aminoácidos, así como en deleciones y/o adiciones que tienen un efecto neutro o nominal sobre las características funcionales de la proteína gB.

Un experto en la técnica podrá identificar fácilmente los fragmentos inmunogénicos de las proteínas de CMV de esta invención según procedimientos convencionales para identificar regiones de inmunogenicidad en una secuencia de aminoácidos. Los ejemplos no limitantes de fragmentos inmunogénicos de esta invención se proporcionan en el Listado de Secuencias incluido en el presente documento e identificados como SEC ID N°: 5-262. Estos fragmentos inmunogénicos pueden utilizarse en cualquier combinación y en cualquier proporción relativa uno al otro en las composiciones y procedimientos en la técnica (véase, por ejemplo, Maecker y col. "Use of overlapping peptide mixtures as antigens for cytokine flow cytometry" Journal of Immunological Methods 255: 27-40 (2001)) y pueden utilizarse para evaluar la respuesta inmune en sujetos infectados con HCMV o inmunizados con vacunas de HCMV para identificar fragmentos inmunogénicos.

Las ARP que expresan CMV de esta invención se formulan para uso como formulaciones farmacéuticas, vacunas o composiciones inmunogénicas, para profilaxis y/o tratamiento. Estas formulaciones farmacéuticas comprenden una composición de esta invención (por ejemplo, ARP defectuosas para la propagación, infección) en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Por consiguiente, en ciertas formas de realización, la presente invención proporciona una composición que comprende una partícula de alfavirus de esta invención en un vehículo farmacéuticamente aceptable. Las composiciones que se describen en el presente documento pueden formularse para administración en un vehículo farmacéutico de acuerdo con técnicas conocidas. Véase, por ejemplo, Remington, The Science And Practice of Pharmacy (última edición). En la fabricación de una composición farmacéutica según las formas de realización de la presente invención, la composición de esta invención se mezcla típicamente con, *inter alia*, un vehículo farmacéuticamente aceptable. Por "vehículo farmacéuticamente aceptable" se entiende un vehículo que es compatible con otros componentes en la composición farmacéutica y que no es dañino ni perjudicial para el sujeto. El vehículo puede ser un sólido o un líquido, o ambos, y se formula de preferencia con la composición de esta invención como una formulación monodosis. Las formulaciones farmacéuticas se preparan por medio de cualquiera de las técnicas de farmacia bien conocidas incluida, pero no limitado a, la mezcla de los componentes, incluyendo opcionalmente uno o más componentes accesorios. Los vehículos farmacéuticamente aceptables ejemplares incluyen, pero no se limitan a, agua estéril libre de pirógenos y disolución salina fisiológica estéril libre de pirógenos. Tales vehículos pueden incluir proteínas (por ejemplo, albúmina sérica) y azúcar (sacarosa, sorbitol, glucosa, etc.).

Las composiciones farmacéuticas de esta invención incluyen las adecuadas para administración oral, rectal, tópica, por inhalación (por ejemplo, por medio de aerosol), bucal (por ejemplo, sublingual), vaginal, parenteral (por ejemplo, subcutánea, intramuscular, intraarticular, intrapleural, intraperitoneal, intracerebral, intraarterial o intravenosa), tópica (es decir, piel y superficies mucosas, incluidas superficies de las vías aéreas) y transdérmica. Las composiciones del presente documento pueden administrarse también a través de un procedimiento de escarificación de la piel, o por vía transdérmica a través de un parche o líquido. Las composiciones pueden administrarse por vía subdérmica en la forma de un material biodegradable que libera las composiciones durante un período de tiempo. La vía más adecuada en cualquier caso dado dependerá, como se sabe bien en la técnica, de factores tales como la especie, la edad, el género y la condición general del sujeto, la naturaleza y gravedad de la afección a tratar y/o de la naturaleza de la composición particular (es decir, dosificación, formulación) que se va a administrar.

Las ARP pueden también estar presentes en una formulación de esta invención en una cantidad inmunogénica. Una "cantidad inmunogénica" es una cantidad de las partículas de replicón de alfavirus infeccioso que es suficiente para provocar una respuesta inmune en el sujeto al que se administra la formulación farmacéutica. Puede administrarse a un sujeto una cantidad desde aproximadamente 10^4 hasta aproximadamente 10^{10} , de preferencia 10^5 hasta 10^9 , y en particular 10^6 hasta 10^8 unidades infecciosas (UI., según se miden por medio de un ensayo de inmunofluorescencia indirecta), o ARP, por dosis, dependiendo de la edad y especie del sujeto que se está tratando.

Los sujetos a quienes se administra cantidades eficaces y/o inmunogénicas de las composiciones de la presente invención incluyen seres humanos y animales (por ejemplo, ratón, mono, cobaya).

Las composiciones de vacuna de esta invención comprenden además combinaciones de ARP que expresan polipéptidos de CMV con otros sistemas que expresan polipéptidos de CMV para proporcionar las más amplias respuestas celulares y humorales posibles (es decir, todos los aspectos de la respuesta inmune, incluidas las características descritas anteriormente en el presente documento). En ciertas formas de realización, esto puede incluir el uso de estrategias de estímulo primario heterólogo, en las que se usan las composiciones de ARP en combinación con uno o más de los siguientes: polipéptidos purificados de CMV, producidos de manera recombinante (o sus fragmentos inmunogénicos), ácidos nucleicos desnudos que codifican uno o más polipéptidos de CMV, fragmentos o epítomos inmunogénicos, tales ácidos nucleicos formulados con restos que contienen lípidos, vectores no alfavirales (por ejemplo, vectores de pox, vectores adenovirales, vectores de herpes, vectores del virus de la estomatitis vesicular, vectores paramixovirales, vectores de parvovirus, vectores de papovavirus, vectores de virus asociados a adenovirus y vectores retrovirales) que expresan uno o más inmunógenos de CMV, y otros vectores de alfavirus que expresan uno o más inmunógenos de CMV. Los vectores virales pueden ser partículas análogas a virus o ácidos nucleicos. Los vectores de alfavirus pueden ser partículas que contienen replicones, vectores que contienen replicones basados en ADN (denominados algunas veces como sistema “ELVIS”, véase, por ejemplo, la Patente de EEUU N° 5.814.482) y/o vectores de ARN desnudo.

Tales composiciones de vacuna pueden usarse en un procedimiento para inducir una respuesta inmune para el CMV en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de las poblaciones, partículas y/o composiciones de esta invención, o en un procedimiento para prevenir o tratar una infección por CMV en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de una población, partícula y/o composición de esta invención.

Según se usa en el presente documento, una “cantidad eficaz” se refiere a una cantidad de un compuesto o composición que es suficiente para producir un efecto deseado, que puede ser un efecto terapéutico, profiláctico y/o beneficioso.

También, según se usa en el presente documento, los términos “tratar” y “tratamiento” incluyen cualquier tipo de mecanismo, acción o actividad que da como resultado un cambio en el estado médico de un sujeto, incluida una mejora en la condición del sujeto (por ejemplo, cambio o mejora en uno o más de los síntomas y/o parámetros clínicos), retraso en la progresión de la afección, prevención o retraso del inicio de una enfermedad o afección, etc.

Las composiciones pueden usarse también en un procedimiento para inducir en un sujeto una respuesta inmune para el CMV, que comprende: a) cebar el sistema inmune del sujeto administrando al sujeto una cantidad eficaz de un primer componente inmunizador seleccionado del grupo constituido por: una población de partículas de replicones de alfavirus que codifican inmunógenos de CMV, inmunógenos de CMV, moléculas de ácido nucleico que codifican inmunógenos de CMV, un vector viral no alfaviral que codifica inmunógenos de CMV, y cualquiera de sus combinaciones; y b) estimular la respuesta primaria del sujeto administrando al sujeto una cantidad eficaz de un segundo componente inmunizador seleccionado del grupo constituido por: una población de partículas de replicones de alfavirus que codifican inmunógenos de CMV, inmunógenos de CMV, moléculas de ácido nucleico que codifican inmunógenos de CMV, un vector viral no alfaviral que codifica inmunógenos de CMV, y cualquiera de sus combinaciones, en el que el primer componente inmunizador es diferente del segundo componente inmunizador y en el que al menos el primer componente inmunizador o el segundo componente inmunizador es una población según la reivindicación 1.

En los procedimientos descritos anteriormente, el primer componente inmunizador puede ser una primera partícula de replicones de alfavirus y el segundo componente inmunizador puede ser una segunda partícula de replicones de alfavirus, con la condición de que la primera y la segunda partículas de alfavirus se obtengan de diferentes alfavirus.

En otras formas de realización, el primer componente inmunizador puede comprender partículas de replicones de alfavirus que codifican las proteínas pp65, IE1 y gB del citomegalovirus o sus fragmentos inmunogénicos, y el segundo componente inmunizador puede comprender una o más proteínas de CMV y/o sus fragmentos inmunogénicos.

En los procedimientos, los componentes inmunizadores pueden administrarse una vez o más de una vez (es decir, múltiples veces). Por ejemplo, puede administrarse un primer componente inmunizador de esta invención y/o un segundo componente inmunizador de esta invención una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve o diez veces en cualquier intervalo de tiempo (por ejemplo, horas, días, semanas, meses, años, etc.) y en cualquiera de las cantidades descritas en el presente documento, que pueden ser la misma cantidad cada vez o diferentes cantidades en diferentes tiempos de administración en cualquier combinación. En otras formas de realización, la administración del primer y segundo componentes inmunizadores puede combinarse u organizarse en cualquier orden (por ejemplo, puede administrarse el primer y el segundo componente en una secuencia alternada o en cualquier otro orden).

En algunas formas de realización de la presente invención, el primer y/o segundo componente inmunizador puede administrarse con un adyuvante. Según se usa en el presente documento, “adyuvante” describe a una sustancia, que puede ser cualquier sustancia inmunomoduladora que tiene la capacidad de combinarse con la vacuna de polipéptido o ácido nucleico para potenciar, mejorar o de otra manera modular una respuesta inmune en un sujeto sin causar efectos perjudiciales en el sujeto.

Un adyuvante de esta invención puede ser, pero no está limitado a, una citocina inmunoestimuladora (incluidas, pero no limitadas a, GM-CSF, interleucina 2, interleucina 12, interferón gamma, interleucina 4, factor de necrosis tumoral alfa, interleucina 1, factor hematopoyético fll3L, CD40L, moléculas coestimuladoras B7.1 y moléculas coestimuladoras B7.2), formulación adyuvante SYNTEX 1 (SAF-1) compuesta de escualeno (DASF, Parsippany, N.J.) al 5 por ciento (peso/volumen), Pluronic al 2,5 por ciento, polímero L121 (Aldrich Chemical, Milwaukee), y polisorbato

(Tween 80, Sigma) al 0,2 por ciento en disolución salina tamponada de fosfato. Los adyuvantes adecuados incluyen también aceite en agua, saponina, una sal de aluminio tal como gel de hidróxido de aluminio (alum), fosfato de aluminio, o alganmulin, pero pueden ser también una sal de calcio, hierro o cinc, o pueden ser una suspensión insoluble de tirosina acilada, o azúcares acetilados, polisacáridos derivados de manera catiónica o aniónica, o polifosfacenos.

En la técnica se conocen otros adyuvantes e incluyen QS-21, adyuvante de Freund (completo e incompleto), hidróxido de aluminio, N-acetil-muramil-L-treonil-D-isoglutamina (thr-MDP), N-acetil-normuramil-L-alanil-D-isoglutamina (CGP 11637, denominado nor-MDP), N-acetilmuramil-L-alanil-D-isoglutaminil-L-alanina-2-(1'-2'-dipalmitoil-s-n-glicero-3-hidroxifosforiloxi)-etilamina (CGP 19835A, denominado MTP-PE) y RIBI, que contiene tres componentes extraídos de bacterias, monofosforil lípido A, dimicolato de trehalosa y esqueleto de la pared celular (MPL + TDM + CWS) en emulsión de escualeno al 2%/Tween 80.

Otros adyuvantes pueden incluir, por ejemplo, una combinación de monofosforil lípido A, de preferencia monofosforil lípido A 3-de-O-acilado (3D-MPL) junto con una sal de aluminio. Un sistema adyuvante mejorado incluye la combinación de un monofosforil lípido A y un derivado de saponina, en particular la combinación de QS21 y 3D-MPL según se divulga en la publicación PCV número WO 94/00153, o una composición menos reactogénica en la que el QS21 se extingue con colesterol según se divulga en la publicación PCT número WO 96/33739 (cuyo contenido completo se incorpora en el presente documento por referencia). Una formulación de adyuvante particularmente potente que incluye QS21, 3D-MPL y tocoferol en una emulsión de aceite en agua se describe en la publicación PCT número WO 95/17210 (cuyo contenido completo se incorpora en el presente documento por referencia). Además, el ácido nucleico de esta invención puede incluir una secuencia de nucleótidos que proporciona una señal inmunoestimuladora y/o una función adyuvante, tales como las secuencias CpG. Tales secuencias CpG, o motivos, son bien conocidos en la técnica.

Un adyuvante de esta invención, tal como, por ejemplo, una citocina inmunoestimuladora, puede administrarse a un sujeto antes, a la vez, y/o dentro de unas pocas horas, varias horas, y/o 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y/o 10 días antes o después de la administración de una composición de esta invención.

Además, cualquier combinación de adyuvantes, tales como citocinas inmunoestimuladoras, pueden administrarse conjuntamente al sujeto antes, después o a la vez con la administración de una composición de esta invención. Por ejemplo, las combinaciones de citocinas inmunoestimuladoras, pueden estar constituidas por dos o más citocinas inmunoestimuladoras de esta invención, tales como GM-CSF, interleucina 2, interleucina 12, interferón gamma, interleucina 4, factor de necrosis tumoral alfa, interleucina 1, factor hematopoyético fcl3L, CD40L, moléculas coestimuladoras B7.1 y moléculas coestimuladoras B7.2. La eficacia de una adyuvante o combinación de adyuvantes puede determinarse midiendo la respuesta inmune dirigida producida en respuesta a la administración de una composición de esta invención a un sujeto con o sin el adyuvante o la combinación de adyuvantes, usando procedimientos convencionales, según se describe en el presente documento y según se conoce en la técnica.

En diversas formas de realización de esta invención que comprenden un vector viral no alfaviral, el vector viral no alfaviral puede ser, pero no está limitado a, un vector retroviral, un vector adenoviral, un vector de poxvirus, un vector del virus de la estomatitis vesicular (VSV) o un vector de picornavirus, así como cualquier otro vector viral no alfaviral conocido ahora o identificado posteriormente.

Las partículas de alfavirus utilizadas en los procedimientos de esta invención pueden ser partículas derivadas de cualquier alfavirus, tales como, por ejemplo, el virus de la encefalitis equina venezolana, el virus S.A.AR86, el virus Semliki Forest, el virus Sindbis, el virus Ross River y cualquiera de sus combinaciones. Las partículas de alfavirus de esta invención pueden comprender también elementos (por ejemplo, proteínas estructurales/ARN de replicón) de dos o más alfavirus diferentes para producir partículas quiméricas de alfavirus (por ejemplo, una partícula que comprende un ARN de replicón del virus Sindbis y proteínas estructurales del VEE). La producción y el análisis de tales partículas quiméricas son bien conocidos en la técnica.

Ejemplos

Ejemplo 1

Clonación de genes de CMV en el replicón de VEE (Figura 1)

Se utilizaron técnicas convencionales de biología molecular en la clonación de todas las construcciones y sus análisis. El vector de replicón de VEE (Rayner y col.) se modificó para introducir sitios de restricción adicionales para la transcripción de tipo run-off y para facilitar la clonación. Los genes de CMV que codifican pp65 (UL83, cepa AD169 (American Type Culture Collection N° VR-538)), el gen Inmediato Temprano 1 (IE1, UL123, cepa AD169), la glicoproteína B de longitud total (gB, UL55, cepa Towne (American Type Culture Collection N° VR-977)) o gB truncada en el extremo C terminal (aminoácidos 1-692, excluye el dominio transmembranario previsto) se clonaron bajo el control de un promotor 26S subgenómico ("SG") para generar replicones con genes de CMV únicos o múltiples. Además, se generó una construcción de fusión de pp65-IE1, que se clonó en este vector de VEE modificado de una manera similar. La Tabla 1 identifica las diversas construcciones que se realizaron y analizaron. En algunas formas de realización, se introdujo un sitio de restricción de Csp45I en el replicón para linealizar el vector, ya que se identificó un

sitio de NotI en la secuencia codificadora de pp65 y se usó NotI para linealizar este vector para otros usos, basándose en un sitio de restricción de NotI en la secuencia del replicón. En otras formas de realización, la secuencia codificadora de pp65 se modifica para eliminar el sitio de restricción de NotI.

5 Ejemplo 2

Producción de partículas de replicones de VEE que expresan genes de CMV

10 Se obtuvieron partículas de replicones de VEE (VRP) empaquetadas tras la electroporación de células CHO o Vero con replicón transcripto *in vitro* y ARN ayudantes. Las células se mantuvieron en medio EMEM (Vero) o F12-K (CHO) suplementado con FBS al 10% en una atmósfera de CO₂ al 5% a 37°C. Para la electroporación, se trataron las células con tripsina y se lavaron con disolución salina tamponada de fosfato (PBS). La electroporación se llevó a cabo usando un GenePulser Electroporator (Bio-Rad; Hercules, CA) y cubetas de 0,4 cm. Tras la electroporación, se resuspendieron las células en medio de cultivo, se sembraron en matraces de cultivo tisular que contenían medio de cultivo y se incubaron durante la noche. Se recogió el medio de cultivo que contenía las VRP liberada, se filtró y se analizó para confirmar la ausencia del virus competente para la replicación. Posteriormente se purificaron las VRP por cromatografía de afinidad en columnas HP con heparina HiTrap® (Amersham, Piscataway, NJ), que son agarosa altamente reticulada (6%), activadas con N-hidroxisuccinimida y que contienen heparina porcina como ligando. Las VRP se formularon con seroalbúmina humana al 1% y sacarosa al 5% en disolución salina tamponada de fosfato.

Ejemplo 3

25 *Expresión de proteínas desde VRP que expresan CMV*

Se analizó la expresión de los ácidos nucleicos para producir proteínas de CMV por medio de SDS-PAGE seguido por tinción con plata (Invitrogen Inc., Carlsbad, CA) o análisis de transferencia western con anticuerpos monoclonales (Rumbaugh-Goodwin Institute) o policlonales de cabra específicos para el gen. Los anticuerpos policlonales de cabra se generaron por inmunización con proteínas purificadas de CMV.

35 Las células se infectaron con las VRP especificadas a una multiplicidad de infección (moi) de 10 UI/célula y se incubaron durante 18-22 horas. Los lisados celulares en SDS al 0,5%, NP-40 al 0,5%, Tris-HCl 50 mM, pH 7,5, NaCl 0,1M, EDTA 1 mM se normalizaron por contenido proteico y se resolvió 1 µg de proteína total por carril en SDS-PAGE en gradiente al 4-12% (Invitrogen Inc., Carlsbad, CA). Las proteínas se visualizaron por medio de tinción con plata según lo recomendado por el fabricante (Invitrogen Inc., Carlsbad, CA). La tinción con plata reveló bandas prominentes del peso molecular esperado para los productos de los genes de CMV.

40 Los lisados celulares preparados según se describe se analizaron por medio de transferencia western con anticuerpos monoclonales o policlonales mono-específicos de cabra específicos para la proteína gB en condiciones reductoras o no reductoras. El análisis de transferencia western reveló bandas prominentes del peso molecular esperado para los productos de los genes de CMV.

45 Ejemplo 4

Inmunogenicidad de las partículas de replicones de VEE que expresan genes de CMV

50 Se inyectaron grupos de ratones BALB/c hembra de 6 semanas de edad (Charles River Laboratories, Raleigh, NC) por vía subcutánea en ambas patas traseras un total de 10⁶ UI de VRP en las semanas 0, 3 y 8. Se recogieron muestras de suero por sangrado retroorbital en el día -1 (toma de muestra de sangre previa) y en las semanas 4 y 9. Se recogieron los bazo en la semana 15.

55 Algunos grupos de 12 ratones BALB/c hembra se cebaron y estimularon con gB-VRP o gB truncada-VRP en los días 1 y 22. Para la tercera inoculación administrada en el día 51, se separaron los animales de estos grupos por la mitad. Seis de los animales en cada grupo (Grupos 3A y 4A) recibieron una tercera inoculación de VRP (la misma VRP que recibieron para el cebado y la estimulación) y los seis animales restantes (Grupos 3B y 4B) recibieron la proteína gB truncada con el adyuvante RIBI (Corixa Corporation, Seattle, WA) y endotoxina bacteriana preparada en disolución salina como su tercera inoculación. Las VRP se administraron en una dosis de inoculación de 1 x 10⁶ UI en las patas traseras por vía subcutánea. Para las inoculaciones de proteína gB, se administraron 50 µg de proteína en adyuvante por inyección intraperitoneal.

A. Inducción de la inmunidad humoral

65 Se usó un ensayo de neutralización del CMV para evaluar la respuesta inmune humoral para gB de CMV. Se determinó el valor de neutralización de CMV inoculando diluciones en serie de suero inactivado por calor con una concentración conocida de CMV (cepa Towne) en presencia de complemento de cobaya al 5% (CerdLane Laboratories,

Hornby, Ontario, Canada). La reducción de la infección por CMV se determinó usando un ensayo de neutralización viral, como se lo conoce convencionalmente en la técnica. El valor de neutralización VN₅₀) se definió como el 50% de reducción en la DO₅₇₀ comparado con el control de sólo CMV.

La inmunización de los ratones con VRP que expresan ácido nucleico que codifica la glicoproteína gB (de longitud total o truncada) dio como resultado la inducción de anticuerpos neutralizantes para el virus (Figura 2). Los valores de anticuerpos neutralizantes aumentaron significativamente tras la segunda estimulación. Se observaron valores más altos de anticuerpos neutralizantes en los Grupos 3B y 4B con la adición de proteína y adyuvante comparado con los grupos (Grupos 3A y 4A) que tuvieron una tercera dosis de VRP en lugar de proteína y adyuvante (Véase Figura 2, Día 63).

B. Inducción de la inmunidad celular

Se usó un ensayo ELISPOT de IFN- γ para evaluar la respuesta inmune celular para pp65 e IE1. Se prepararon linfocitos esplénicos usando centrifugación en gradiente Lympholyte M después de la lisis de los glóbulos rojos. Se recubrieron placas ELISPOT IP de 96 pocillos (Millipore, Bedford, MA) con 1 μ g de anticuerpo monoclonal anti IFN- γ de ratón (MabTech, Mariemont, OH)/pocillo y se bloquearon con FCS al 10% en RPMI-1640 (incluidos los suplementos). Se plaquearon 10⁶ linfocitos/pocillo solos o tras mezclar con Con A (4 μ g/ml) o péptido (10 μ g/ml). En todos los casos, se probó cada péptido frente a linfocitos positivos y negativos conocidos y se probó cada preparación de linfocitos contra péptidos positivos y negativos conocidos. Para la detección, se añadieron 0,1 μ g de anticuerpo anti IFN- γ de ratón biotinilado (MabTech) a cada pocillo, seguido por la incubación con complejo avidina-peroxidasa (Vector Laboratories, Burlingame, CA), y desarrollo de color con sustrato AEC. Las manchas fueron cuantificadas por Zallnet, Inc. (Nueva York, NY) usando un lector ELISPOT Zeiss.

La respuesta inmune celular de los ratones para las VRP que expresan CMV se midió por medio del ensayo ELISPOT según se describió anteriormente. Todas las construcciones indujeron una respuesta inmune potente para las proteínas pp65 e IE1 (Figura 3).

Ejemplo 5

“Desafío” de vacuna en receptores de trasplantes de órganos sólidos

Puede probarse una vacuna de la invención en estudios de “desafío” en seres humanos sometidos a cirugías de trasplante de órganos sólidos. Se inmunizaron pacientes seronegativos para CMV en lista de espera para órgano/médula ósea y a continuación se sometieron a la cirugía de trasplante de dos semanas a varios años después de la inmunización. El “desafío” surge del trasplante mismo, ya que la mayoría de los órganos transplantados en los Estados Unidos (> 60%) provienen de donantes seropositivos, y el virus CMV se transmite a través del órgano. Además, a estos receptores seronegativos para CMV de órganos seropositivos para CMV se les administran dosis de estímulo de la vacuna después de la cirugía de trasplante para mantener un nivel de inmunidad suficiente para prevenir la enfermedad por CMV. Las dosis de estímulo se administran inicialmente en intervalos de una vez cada mes hasta cada seis meses. Los pacientes se controlan y evalúan durante al menos un año, en intervalos mensuales o trimestrales, y/o después del tratamiento por signos o síntomas de enfermedad por CMV.

Ejemplo 6

Vacunación de receptores de trasplante de médula ósea

Puede administrarse una vacuna de la invención a receptores de médula ósea para reducir o eliminar la transmisión de HCMV a través de la médula ósea del donante. El riesgo de enfermedad de tal transmisión de HCMV es particularmente alto en los pacientes seronegativos quienes reciben una médula ósea seropositiva. En un protocolo de vacunación, se vacuna el donante de médula ósea con una vacuna de la invención en una o más de una vez, por ejemplo, seis o dos semanas antes del realizar la donación; el receptor de TMO se vacuna en intervalos (por ejemplo, cada uno a seis meses) comenzando aproximadamente cuatro semanas hasta aproximadamente seis meses tras recibir la médula ósea transplantada. Se controla la aparición de CMV en el paciente de trasplante.

Ejemplo 7

“Desafío” de vacuna en mujeres embarazadas

Una vacuna de la invención puede probarse además en mujeres con capacidad de procrear seronegativas para HCMV. Los protocolos de inmunización incluirán típicamente una inmunización de cebado seguida por una o dos inmunizaciones de “estímulo”. Se controla en estas mujeres el resultado del embarazo, incluyendo las tasas de infección con CMV, enfermedad sintomática y secuelas retrasadas en los neonatos.

ES 2 327 643 T3

Aunque el presente procedimiento se ha descrito con referencia a detalles específicos de algunas de sus formas de realización, no es la intención que tales detalles sean considerados como limitaciones sobre el ámbito de la invención, excepto en y hasta el alcance en que se incluyen en las reivindicaciones adjuntas.

TABLA 1

Organización de los genes de CMV en candidatos de vacunas de CMV-VRP

Nº	Denominación	Promotor SG Nº 1	Promotor SG Nº 2	Promotor SG Nº 3
1	VRP-pp65	pp65		
2	VRP-IE1	IE1		
3	VRP-gB	gB		
4	VRP-Tr-gB	Tr-gB		
5	VRP-pp65/IE1	pp65	IE1	
9	VRP-pp65/gB	pp65	gB	
6	VRP-IE1/pp65	IE1	pp65	
11	VRP-pp65/IE1/gB	pp65	IE1	gB
10	VRP-pp65/IE1/Tr-gB	pp65	IE1	Tr-gB
7	VRP-fusión pp65-IE1	fusión pp65-IE1		
8	VRP-fusión pp65-IE1/Tr-gB	fusión pp65-IE1	Tr-gB	

REIVINDICACIONES

1. Una población de partículas de replicones de alfavirus en la que dichas partículas comprenden ARN de repli-
5 cones de alfavirus, en la que un primer ARN de replicón comprende el ácido nucleico que codifica una proteína de fusión de las proteínas pp65 e IE1 del citomegalovirus o sus epítomos, y un segundo ARN de replicón que comprende el ácido nucleico que codifica la proteína gB del citomegalovirus o uno de sus epítomos, y en la que cada uno del primer y segundo ARN está contenido dentro de una partícula de replicón de alfavirus separada.
- 10 2. Una población de partículas de replicones de alfavirus en la que dichas partículas comprenden un ARN de replicón que comprende una casete reguladora que dirige la transcripción y la traducción de un ácido nucleico que codifica una proteína de fusión de las proteínas pp65 e IE1 del citomegalovirus, o sus epítomos.
- 15 3. La población de la reivindicación 2, en la que la casete reguladora es un promotor subgenómico del alfavirus.
4. La población de la reivindicación 1, en la que el ácido nucleico que codifica la proteína gB del citomegalovirus o uno de sus epítomos codifica una proteína gB de CMV o uno de sus epítomos, en el que se ha delecionado el dominio transmembranario.
- 20 5. Una composición que comprende la población de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 en un vehículo farmacéuticamente aceptable.
6. Uso de la población de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 en la fabricación de un medicamento para inducir una respuesta inmune para CMV en un sujeto.
- 25 7. El uso de la reivindicación 6, en el que la población se administra múltiples veces.
8. Uso de un primer componente de inmunización seleccionado del grupo constituido por una población de partículas de replicones de alfavirus que codifican inmunógenos de CMV, inmunógenos de CMV, moléculas de ácido
30 nucleico que codifican inmunógenos de CMV, un vector viral no alfaviral que codifica inmunógenos de CMV, y cualquiera de sus combinaciones en la fabricación de un medicamento para cebar una respuesta inmune para el CMV, previo a estimular la respuesta de cebado por medio de la administración de un segundo componente de inmunización seleccionado del grupo constituido por una población de partículas de replicones de alfavirus que codifican inmunógenos de CMV, inmunógenos de CMV, moléculas de ácido nucleico que codifican inmunógenos de CMV, un vector
35 viral no alfaviral que codifica inmunógenos de CMV, y cualquier combinación, en el que el primer componente de inmunización es diferente del segundo componente de inmunización y en el que al menos el primer componente de inmunización o el segundo componente de inmunización es una población según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.
- 40 9. Uso de un segundo componente de inmunización seleccionado del grupo constituido por una población de partículas de replicones de alfavirus que codifican inmunógenos de CMV, inmunógenos de CMV, moléculas de ácido nucleico que codifican inmunógenos de CMV, un vector viral no alfaviral que codifica inmunógenos de CMV, y cualquiera de sus combinaciones en la fabricación de un medicamento para estimular una respuesta inmune para el CMV, tras la respuesta de cebado de la administración de un primer componente de inmunización seleccionado del
45 grupo constituido por una población de partículas de replicones de alfavirus que codifican inmunógenos de CMV, inmunógenos de CMV, moléculas de ácido nucleico que codifican inmunógenos de CMV, un vector viral no alfaviral que codifica inmunógenos de CMV, y cualquier combinación, en el que el primer componente de inmunización es diferente del segundo componente de inmunización y en el que al menos el primer componente de inmunización o el segundo componente de inmunización es una población según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.
- 50 10. El uso de la reivindicación 8 o reivindicación 9 en el que el primer componente de inmunización es una primera población de partículas de replicones de alfavirus y el segundo componente de inmunización es una segunda población de partículas de replicones de alfavirus, con la condición de que las partículas de replicones de alfavirus del primer componente de inmunización y las partículas de replicones de alfavirus del segundo componente de inmunización
55 deriven de diferentes alfavirus.
11. El uso de la reivindicación 8 o reivindicación 9, en el que el primer y/o el segundo componente(s) de inmunización se administra(n) múltiples veces.
- 60 12. El uso de la reivindicación 8 o reivindicación 9, en el que el primer componente de inmunización o el segundo componente de inmunización comprende inmunógenos de CMV que comprenden una o más proteínas de CMV y/o sus epítomos.
13. El uso de la reivindicación 8 ó 9, en el que la proteína gB de CMV del primer o segundo componente de
65 inmunización es una proteína gB truncada.
14. El uso de la reivindicación 8 ó 9, en el que el primer y/o el segundo componente(s) de inmunización se administra(n) con un adyuvante.

ES 2 327 643 T3

15. El uso de la reivindicación 14 en el que el adyuvante se selecciona del grupo constituido por sales de aluminio, aceite en agua, saponina, citocinas, oligonucleótidos que codifican señales inmunoestimuladoras y cualquiera de sus combinaciones.

5 16. El uso de la reivindicación 8 o reivindicación 9, en el que el primer o el segundo componente de inmunización es un vector viral no alfaviral y se selecciona del grupo constituido por un vector retroviral, un vector adenoviral, un vector de poxvirus, un vector del virus de la estomatitis vesicular (VSV) o un vector de picornavirus.

10 17. El uso de la reivindicación 8 o reivindicación 9, en el que el primer o el segundo componente de inmunización comprende una partícula de replicón de alfavirus seleccionada del grupo constituido por una partícula derivada del virus de la encefalitis equina venezolana, el virus S.A.AR86, el virus Semliki Forest, el virus Sindbis, el virus Ross River y cualquiera de sus combinaciones.

15 18. El uso de la reivindicación 17 en el que la partícula de replicón de alfavirus comprende elementos de dos o más alfavirus.

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

Fig. 1

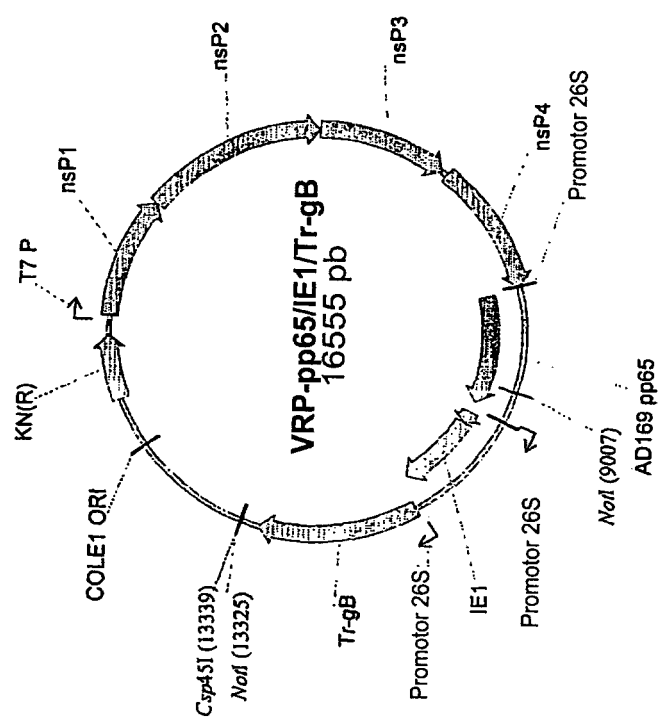
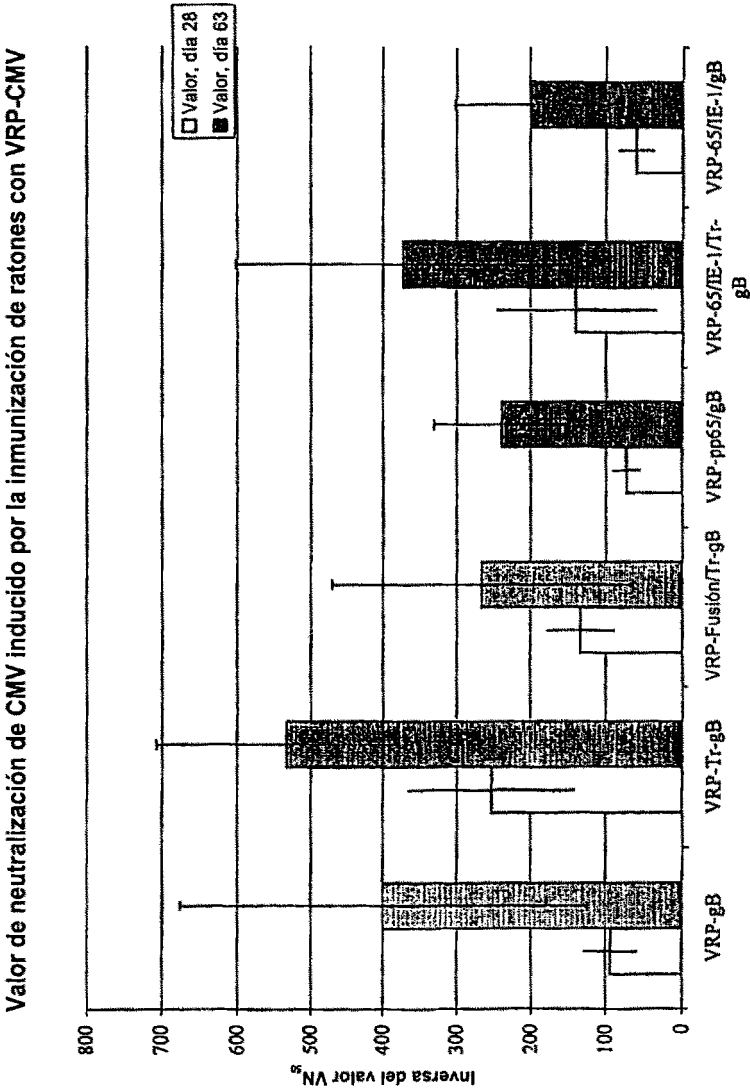
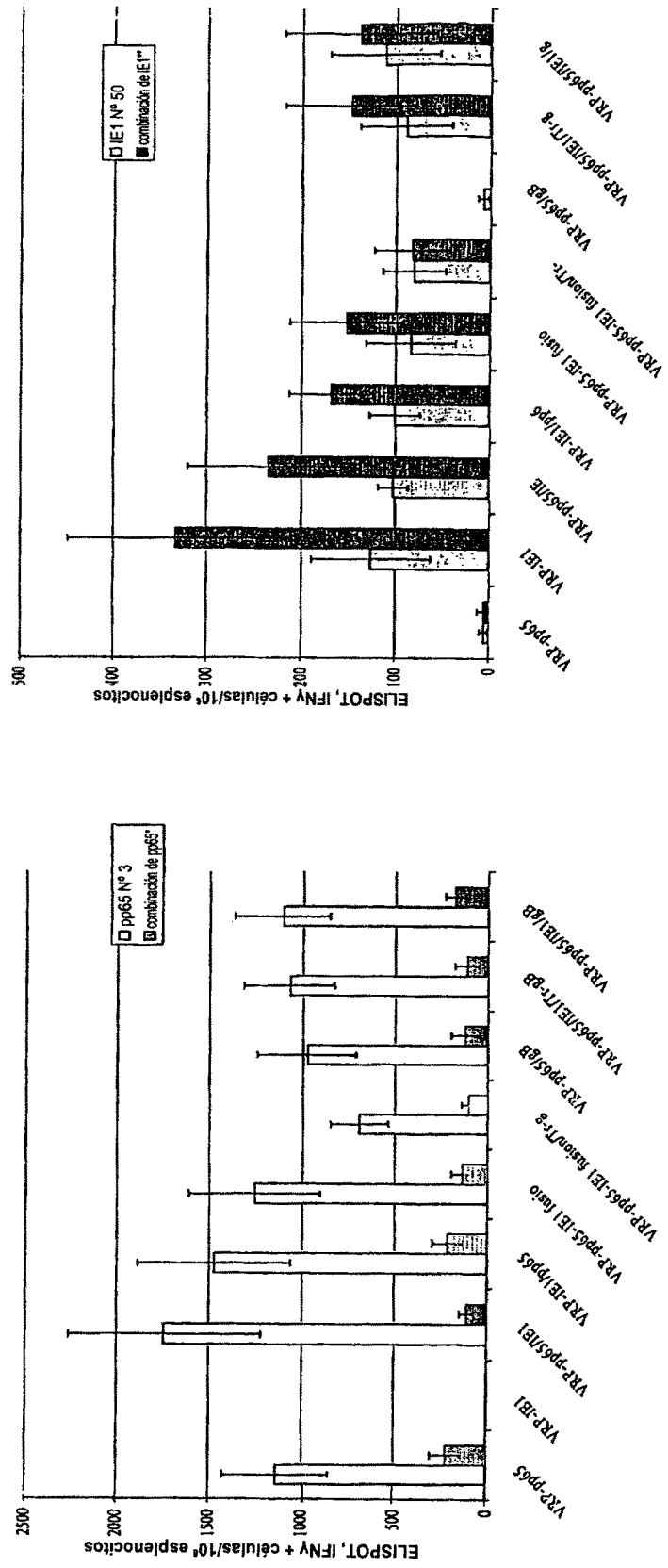


Fig. 2



Figs. 3A-B



ES 2 327 643 T3

LISTA DE SECUENCIAS

<110> Alphavax, Inc.
 Chulay, Jeffrey D.
 5 Dryga, Sergey A.
 Reap, Elizabeth A.
 Morris, John S.
 Olmsted, Robert A.

10 <120> VACUNAS CONTRA CITOMEGALOVIRUS BASADAS EN ALFAVIRUS
 <130> 9368-7WO

15 <150> US 60/486,501
 <151> 11-07-2003

20 <160> 262
 <170> PatentIn version 3.2

<210> 1
 25 <211> 2079
 <212> ADN
 <213> Citomegalovirus humano

30 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(2076)
 35 <223> gB truncada

<400> 1

40	atg gaa tcc agg atc tgg tgc ctg gta gtc tgc gtt aac ttg tgt atc	48
	Met Glu Ser Arg Ile Trp Cys Leu Val Val Cys Val Asn Leu Cys Ile	
	1 5 10 15	
45	gtc tgt ctg ggt gct gcg gtt tcc tca tct tct act cgt gga act tct	96
	Val Cys Leu Gly Ala Ala Val Ser Ser Ser Ser Thr Arg Gly Thr Ser	
	20 25 30	
50	gct act cac agt cac cat tcc tct cat acg acg tct gct gct cat tct	144
	Ala Thr His Ser His His Ser Ser His Thr Thr Ser Ala Ala His Ser	
	35 40 45	
55	cga tcc ggt tca gtc tct caa cgc gta act tct tcc caa acg gtc agc	192
	Arg Ser Gly Ser Val Ser Gln Arg Val Thr Ser Ser Gln Thr Val Ser	
	50 55 60	
60	cat ggt gtt aac gag acc atc tac aac act acc ctc aag tac gga gat	240
	His Gly Val Asn Glu Thr Ile Tyr Asn Thr Thr Leu Lys Tyr Gly Asp	
	65 70 75 80	
65	gtg gtg ggg gtc aac acc acc aag tac ccc tat cgc gtg tgt tct atg	288
	Val Val Gly Val Asn Thr Thr Lys Tyr Pro Tyr Arg Val Cys Ser Met	
	85 90 95	
65	gca cag ggt acg gat ctt att cgc ttt gaa cgt aat atc gtc tgc acc	336

ES 2 327 643 T3

	Ala	Gln	Gly	Thr	Asp	Leu	Ile	Arg	Phe	Glu	Arg	Asn	Ile	Val	Cys	Thr	
				100					105					110			
5	tcg	atg	aag	ccc	atc	aat	gaa	gac	ctg	gac	gag	ggc	atc	atg	gtg	gtc	384
	Ser	Met	Lys	Pro	Ile	Asn	Glu	Asp	Leu	Asp	Glu	Gly	Ile	Met	Val	Val	
			115					120					125				
10	tac	aaa	cgc	aac	atc	gtc	gcg	cac	acc	ttt	aag	gta	cga	gtc	tac	cag	432
	Tyr	Lys	Arg	Asn	Ile	Val	Ala	His	Thr	Phe	Lys	Val	Arg	Val	Tyr	Gln	
		130					135					140					
15	aag	gtt	ttg	acg	ttt	cgt	cgt	agc	tac	gct	tac	gtc	cac	acc	act	tat	480
	Lys	Val	Leu	Thr	Phe	Arg	Arg	Ser	Tyr	Ala	Tyr	Val	His	Thr	Thr	Tyr	
	145					150					155					160	
20	ctg	ctg	ggc	agc	aac	acg	gaa	tac	gtg	gcg	cct	cct	atg	tgg	gag	att	528
	Leu	Leu	Gly	Ser	Asn	Thr	Glu	Tyr	Val	Ala	Pro	Pro	Met	Trp	Glu	Ile	
				165						170					175		
25	cat	cat	atc	aac	agt	cac	agt	cag	tgc	tac	agt	tcc	tac	agc	cgc	gtt	576
	His	His	Ile	Asn	Ser	His	Ser	Gln	Cys	Tyr	Ser	Ser	Tyr	Ser	Arg	Val	
			180						185					190			
30	ata	gca	ggc	acg	gtt	ttc	gtg	gct	tat	cat	agg	gac	agc	tat	gaa	aac	624
	Ile	Ala	Gly	Thr	Val	Phe	Val	Ala	Tyr	His	Arg	Asp	Ser	Tyr	Glu	Asn	
			195					200					205				
35	aaa	acc	atg	caa	tta	atg	ccc	gac	gat	tat	tcc	aac	acc	cac	agt	acc	672
	Lys	Thr	Met	Gln	Leu	Met	Pro	Asp	Asp	Tyr	Ser	Asn	Thr	His	Ser	Thr	
		210					215					220					
40	cgt	tac	gtg	acg	gtc	aag	gat	caa	tgg	cac	agc	cgc	ggc	agc	acc	tgg	720
	Arg	Tyr	Val	Thr	Val	Lys	Asp	Gln	Trp	His	Ser	Arg	Gly	Ser	Thr	Trp	
	225					230					235					240	
45	ctc	tat	cgt	gag	acc	tgt	aat	ctg	aat	tgt	atg	gtg	acc	atc	act	act	768
	Leu	Tyr	Arg	Glu	Thr	Cys	Asn	Leu	Asn	Cys	Met	Val	Thr	Ile	Thr	Thr	
				245						250					255		
50	gcg	cgc	tcc	aag	tat	ccc	tat	cat	ttt	ttc	gca	act	tcc	acg	ggt	gat	816
	Ala	Arg	Ser	Lys	Tyr	Pro	Tyr	His	Phe	Phe	Ala	Thr	Ser	Thr	Gly	Asp	
			260						265					270			
55	gtg	gtt	gac	att	tct	cct	ttc	tac	aac	gga	act	aat	cgc	aat	gcc	agc	864
	Val	Val	Asp	Ile	Ser	Pro	Phe	Tyr	Asn	Gly	Thr	Asn	Arg	Asn	Ala	Ser	
			275					280					285				
60	tat	ttt	gga	gaa	aac	gcc	gac	aag	ttt	ttc	att	ttt	ccg	aac	tac	act	912
	Tyr	Phe	Gly	Glu	Asn	Ala	Asp	Lys	Phe	Phe	Ile	Phe	Pro	Asn	Tyr	Thr	
		290				295						300					
65	atc	gtc	tcc	gac	ttt	gga	aga	ccg	aat	tct	gcg	tta	gag	acc	cac	agg	960
	Ile	Val	Ser	Asp	Phe	Gly	Arg	Pro	Asn	Ser	Ala	Leu	Glu	Thr	His	Arg	
	305					310					315					320	
60	ttg	gtg	gct	ttt	ctt	gaa	cgt	gcg	gac	tca	gtg	atc	tcc	tgg	gat	ata	1008
	Leu	Val	Ala	Phe	Leu	Glu	Arg	Ala	Asp	Ser	Val	Ile	Ser	Trp	Asp	Ile	

ES 2 327 643 T3

	325	330	335	
5	cag gac gag aag aat gtt act tgt caa ctc act ttc tgg gaa gcc tcg Gln Asp Glu Lys Asn Val Thr Cys Gln Leu Thr Phe Trp Glu Ala Ser 340 345 350			1056
10	gaa cgc acc att cgt tcc gaa gcc gag gac tcg tat cac ttt tct tct Glu Arg Thr Ile Arg Ser Glu Ala Glu Asp Ser Tyr His Phe Ser Ser 355 360 365			1104
15	gcc aaa atg acc gcc act ttc tta tct aag aag caa gag gtg aac atg Ala Lys Met Thr Ala Thr Phe Leu Ser Lys Lys Gln Glu Val Asn Met 370 375 380			1152
20	tcc gac tct gcg ctg gac tgt gta cgt gat gag gcc ata aat aag tta Ser Asp Ser Ala Leu Asp Cys Val Arg Asp Glu Ala Ile Asn Lys Leu 385 390 395 400			1200
25	cag cag att ttc aat act tca tac aat caa aca tat gaa aaa tat gga Gln Gln Ile Phe Asn Thr Ser Tyr Asn Gln Thr Tyr Glu Lys Tyr Gly 405 410 415			1248
30	aac gtg tcc gtc ttt gaa acc act ggt ggt ttg gtg gtg ttc tgg caa Asn Val Ser Val Phe Glu Thr Thr Gly Gly Leu Val Val Phe Trp Gln 420 425 430			1296
35	ggt atc aag caa aaa tct ctg gtg gaa ctc gaa cgt ttg gcc aac cgc Gly Ile Lys Gln Lys Ser Leu Val Glu Leu Glu Arg Leu Ala Asn Arg 435 440 445			1344
40	tcc agt ctg aat ctt act cat aat aga acc aaa aga agt aca gat ggc Ser Ser Leu Asn Leu Thr His Asn Arg Thr Lys Arg Ser Thr Asp Gly 450 455 460			1392
45	aac aat gca act cat tta tcc aac atg gag tcg gtg cac aat ctg gtc Asn Asn Ala Thr His Leu Ser Asn Met Glu Ser Val His Asn Leu Val 465 470 475 480			1440
50	tac gcc cag ctg cag ttc acc tat gac acg ttg cgc ggt tac atc aac Tyr Ala Gln Leu Gln Phe Thr Tyr Asp Thr Leu Arg Gly Tyr Ile Asn 485 490 495			1488
55	cgg gcg ctg gcg caa atc gca gaa gcc tgg tgt gtg gat caa cgg cgc Arg Ala Leu Ala Gln Ile Ala Glu Ala Trp Cys Val Asp Gln Arg Arg 500 505 510			1536
60	acc cta gag gtc ttc aag gaa ctt agc aag atc aac ccg tca gct att Thr Leu Glu Val Phe Lys Glu Leu Ser Lys Ile Asn Pro Ser Ala Ile 515 520 525			1584
65	ctc tcg gcc atc tac aac aaa ccg att gcc gcg cgt ttc atg ggc gat Leu Ser Ala Ile Tyr Asn Lys Pro Ile Ala Ala Arg Phe Met Gly Asp 530 535 540			1632
	gtc ctg ggt ctg gcc agc tgc gtg acc att aac caa acc agc gtc aag Val Leu Gly Leu Ala Ser Cys Val Thr Ile Asn Gln Thr Ser Val Lys 545 550 555 560			1680

ES 2 327 643 T3

[illegible]

40 <210> 2
<211> 692
<212> PRT
45 <213> Citomegalovirus humano
<400> 2

50 Met Glu Ser Arg Ile Trp Cys Leu Val Val Cys Val Asn Leu Cys Ile
1 5 10 15

55 Val Cys Leu Gly Ala Ala Val Ser Ser Ser Ser Thr Arg Gly Thr Ser
20 25 30

60 Ala Thr His Ser His His Ser Ser His Thr Thr Ser Ala Ala His Ser
35 40 45

ES 2 327 643 T3

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

ES 2 327 643 T3

	275	280	285
5	Tyr Phe Gly Glu Asn Ala Asp Lys Phe Phe Ile Phe Pro Asn Tyr Thr 290 295 300		
10	Ile Val Ser Asp Phe Gly Arg Pro Asn Ser Ala Leu Glu Thr His Arg 305 310 315 320		
15	Leu Val Ala Phe Leu Glu Arg Ala Asp Ser Val Ile Ser Trp Asp Ile 325 330 335		
20	Gln Asp Glu Lys Asn Val Thr Cys Gln Leu Thr Phe Trp Glu Ala Ser 340 345 350		
25	Glu Arg Thr Ile Arg Ser Glu Ala Glu Asp Ser Tyr His Phe Ser Ser 355 360 365		
30	Ala Lys Met Thr Ala Thr Phe Leu Ser Lys Lys Gln Glu Val Asn Met 370 375 380		
35	Ser Asp Ser Ala Leu Asp Cys Val Arg Asp Glu Ala Ile Asn Lys Leu 385 390 395 400		
40	Gln Gln Ile Phe Asn Thr Ser Tyr Asn Gln Thr Tyr Glu Lys Tyr Gly 405 410 415		
45	Asn Val Ser Val Phe Glu Thr Thr Gly Gly Leu Val Val Phe Trp Gln 420 425 430		
50	Gly Ile Lys Gln Lys Ser Leu Val Glu Leu Glu Arg Leu Ala Asn Arg 435 440 445		
55	Ser Ser Leu Asn Leu Thr His Asn Arg Thr Lys Arg Ser Thr Asp Gly 450 455 460		
60	Asn Asn Ala Thr His Leu Ser Asn Met Glu Ser Val His Asn Leu Val 465 470 475 480		
65	Tyr Ala Gln Leu Gln Phe Thr Tyr Asp Thr Leu Arg Gly Tyr Ile Asn 485 490 495		
	Arg Ala Leu Ala Gln Ile Ala Glu Ala Trp Cys Val Asp Gln Arg Arg 500 505 510		

ES 2 327 643 T3

	Thr	Leu	Glu	Val	Phe	Lys	Glu	Leu	Ser	Lys	Ile	Asn	Pro	Ser	Ala	Ile	
			515					520					525				
5	Leu	Ser	Ala	Ile	Tyr	Asn	Lys	Pro	Ile	Ala	Ala	Arg	Phe	Met	Gly	Asp	
			530				535					540					
10	Val	Leu	Gly	Leu	Ala	Ser	Cys	Val	Thr	Ile	Asn	Gln	Thr	Ser	Val	Lys	
			545				550				555					560	
15	Val	Leu	Arg	Asp	Met	Asn	Val	Lys	Glu	Ser	Pro	Gly	Arg	Cys	Tyr	Ser	
					565					570					575		
20	Arg	Pro	Val	Val	Ile	Phe	Asn	Phe	Ala	Asn	Ser	Ser	Tyr	Val	Gln	Tyr	
				580					585					590			
25	Gly	Gln	Leu	Gly	Glu	Asp	Asn	Glu	Ile	Leu	Leu	Gly	Asn	His	Arg	Thr	
			595					600					605				
30	Glu	Glu	Cys	Gln	Leu	Pro	Ser	Leu	Lys	Ile	Phe	Ile	Ala	Gly	Asn	Ser	
			610				615					620					
35	Ala	Tyr	Glu	Tyr	Val	Asp	Tyr	Leu	Phe	Lys	Arg	Met	Ile	Asp	Leu	Ser	
			625			630					635				640		
40	Ser	Ile	Ser	Thr	Val	Asp	Ser	Met	Ile	Ala	Leu	Asp	Ile	Asp	Pro	Leu	
					645					650					655		
45	Glu	Asn	Thr	Asp	Phe	Arg	Val	Leu	Glu	Leu	Tyr	Ser	Gln	Lys	Glu	Leu	
				660					665					670			
50	Arg	Ser	Ser	Asn	Val	Phe	Asp	Leu	Glu	Glu	Ile	Met	Arg	Glu	Phe	Asn	
			675					680					685				
	Ser	Tyr	Lys	Gln													
			690														

<210> 3
 <211> 3156
 55 <212> ADN
 <213> Artificial

 <220>
 60 <223> fusión de pp65-IE1 de hCMV
 <220>

 <221> CDS
 65 <222> (1)..(3153)

ES 2 327 643 T3

<400> 3

5	atg gag tcg cgc ggt cgc cgt tgt ccc gaa atg ata tcc gta ctg ggt Met Glu Ser Arg Gly Arg Arg Cys Pro Glu Met Ile Ser Val Leu Gly 1 5 10 15	48
10	ccc att tcg ggg cac gtg ctg aaa gcc gtg ttt agt cgc ggc gat acg Pro Ile Ser Gly His Val Leu Lys Ala Val Phe Ser Arg Gly Asp Thr 20 25 30	96
15	ccg gtg ctg ccg cac gag acg cga ctc ctg cag acg ggt atc cac gta Pro Val Leu Pro His Glu Thr Arg Leu Leu Gln Thr Gly Ile His Val 35 40 45	144
20	cgc gtg agc cag ccc tcg ctg atc ttg gta tcg cag tac acg ccc gac Arg Val Ser Gln Pro Ser Leu Ile Leu Val Ser Gln Tyr Thr Pro Asp 50 55 60	192
25	tcg acg cca tgc cac cgc ggc gac aat cag ctg cag gtg cag cac acg Ser Thr Pro Cys His Arg Gly Asp Asn Gln Leu Gln Val Gln His Thr 65 70 75 80	240
30	tac ttt acg ggc agc gag gtg gag aac gtg tcg gtc aac gtg cac aac Tyr Phe Thr Gly Ser Glu Val Glu Asn Val Ser Val Asn Val His Asn 85 90 95	288
35	ccc acg ggc cga agc atc tgc ccc agc cag gag ccc atg tcg atc tat Pro Thr Gly Arg Ser Ile Cys Pro Ser Gln Glu Pro Met Ser Ile Tyr 100 105 110	336
40	gtg tac gcg ctg ccg ctc aag atg ctg aac atc ccc agc atc aac gtg Val Tyr Ala Leu Pro Leu Lys Met Leu Asn Ile Pro Ser Ile Asn Val 115 120 125	384
45	cac cac tac ccg tcg gcg gcc gag cgc aaa cac cga cac ctg ccc gta His His Tyr Pro Ser Ala Ala Glu Arg Lys His Arg His Leu Pro Val 130 135 140	432
50	gct gac gct gtg att cac gcg tcg ggc aag cag atg tgg cag gcg cgt Ala Asp Ala Val Ile His Ala Ser Gly Lys Gln Met Trp Gln Ala Arg 145 150 155 160	480
55	ctc acg gtc tcg gga ctg gcc tgg acg cgt cag cag aac cag tgg aaa Leu Thr Val Ser Gly Leu Ala Trp Thr Arg Gln Gln Asn Gln Trp Lys 165 170 175	528
60	gag ccc gac gtc tac tac acg tca gcg ttc gtg ttt ccc acc aag gac Glu Pro Asp Val Tyr Tyr Thr Ser Ala Phe Val Phe Pro Thr Lys Asp 180 185 190	576
65	gtg gca ctg cgg cac gtg gtg tgc gcg cac gag ctg gtt tgc tcc atg Val Ala Leu Arg His Val Val Cys Ala His Glu Leu Val Cys Ser Met	624

ES 2 327 643 T3

	195	200	205	
5	gag aac acg cgc gca acc aag atg cag gtg ata ggt gac cag tac gtc Glu Asn Thr Arg Ala Thr Lys Met Gln Val Ile Gly Asp Gln Tyr Val 210 215 220			672
10	aag gtg tac ctg gag tcc ttc tgc gag gac gtg ccc tcc ggc aag ctc Lys Val Tyr Leu Glu Ser Phe Cys Glu Asp Val Pro Ser Gly Lys Leu 225 230 235 240			720
15	ttt atg cac gtc acg ctg ggc tct gac gtg gaa gag gac ctg acg atg Phe Met His Val Thr Leu Gly Ser Asp Val Glu Glu Asp Leu Thr Met 245 250 255			768
20	acc cgc aac ccg caa ccc ttc atg cgc ccc cac gag cgc aac ggc ttt Thr Arg Asn Pro Gln Pro Phe Met Arg Pro His Glu Arg Asn Gly Phe 260 265 270			816
25	acg gtg ttg tgt ccc aaa aat atg ata atc aaa ccg ggc aag atc tcg Thr Val Leu Cys Pro Lys Asn Met Ile Ile Lys Pro Gly Lys Ile Ser 275 280 285			864
30	cac atc atg ctg gat gtg gct ttt acc tca cac gag cat ttt ggg ctg His Ile Met Leu Asp Val Ala Phe Thr Ser His Glu His Phe Gly Leu 290 295 300			912
35	ctg tgt ccc aag agc atc ccg ggc ctg agc atc tca ggt aac ctg ttg Leu Cys Pro Lys Ser Ile Pro Gly Leu Ser Ile Ser Gly Asn Leu Leu 305 310 315 320			960
40	atg aac ggg cag cag atc ttc ctg gag gta caa gcc ata cgc gag acc Met Asn Gly Gln Gln Ile Phe Leu Glu Val Gln Ala Ile Arg Glu Thr 325 330 335			1008
45	gtg gaa ctg cgt cag tac gat ccc gtg gct gcg ctc ttc ttt ttc gat Val Glu Leu Arg Gln Tyr Asp Pro Val Ala Ala Leu Phe Phe Phe Asp 340 345 350			1056
50	atc gac ttg ctg ctg cag cgc ggg cct cag tac agc gag cac ccc acc Ile Asp Leu Leu Leu Gln Arg Gly Pro Gln Tyr Ser Glu His Pro Thr 355 360 365			1104
55	ttc acc agc cag tat cgc atc cag ggc aag ctt gag tac cga cac acc Phe Thr Ser Gln Tyr Arg Ile Gln Gly Lys Leu Glu Tyr Arg His Thr 370 375 380			1152
60	tgg gac cgg cac gac gag ggt gcc gcc cag ggc gac gac gac gtc tgg Trp Asp Arg His Asp Glu Gly Ala Ala Gln Gly Asp Asp Asp Val Trp 385 390 395 400			1200
65	acc agc gga tcg gac tcc gac gaa gaa ctc gta acc acc gag cgc aag Thr Ser Gly Ser Asp Ser Asp Glu Glu Leu Val Thr Thr Glu Arg Lys 405 410 415			1248
70	acg ccc cgc gtc acc ggc ggc ggc gcc atg gcg ggc gcc tcc act tcc Thr Pro Arg Val Thr Gly Gly Gly Ala Met Ala Gly Ala Ser Thr Ser 420 425 430			1296

ES 2 327 643 T3

5	gcg ggc cgc aaa cgc aaa tca gca tcc tcg gcg acg gcg tgc acg tcg Ala Gly Arg Lys Arg Lys Ser Ala Ser Ser Ala Thr Ala Cys Thr Ser 435 440 445	1344
10	ggc gtt atg aca cgc ggc cgc ctt aag gcc gag tcc acc gtc gcg ccc Gly Val Met Thr Arg Gly Arg Leu Lys Ala Glu Ser Thr Val Ala Pro 450 455 460	1392
15	gaa gag gac acc gac gag gat tcc gac aac gaa atc cac aat ccg gcc Glu Glu Asp Thr Asp Glu Asp Ser Asp Asn Glu Ile His Asn Pro Ala 465 470 475 480	1440
20	gtg ttc acc tgg ccg ccc tgg cag gcc ggc atc ctg gcc cgc aac ctg Val Phe Thr Trp Pro Pro Trp Gln Ala Gly Ile Leu Ala Arg Asn Leu 485 490 495	1488
25	gtg ccc atg gtg gct acg gtt cag ggt cag aat ctg aag tac cag gaa Val Pro Met Val Ala Thr Val Gln Gly Gln Asn Leu Lys Tyr Gln Glu 500 505 510	1536
30	ttc ttc tgg gac gcc aac gac atc tac cgc atc ttc gcc gaa ttg gaa Phe Phe Trp Asp Ala Asn Asp Ile Tyr Arg Ile Phe Ala Glu Leu Glu 515 520 525	1584
35	ggc gta tgg cag ccc gct gcg caa ccc aaa cgt cgc cgc cac cgg caa Gly Val Trp Gln Pro Ala Ala Gln Pro Lys Arg Arg Arg His Arg Gln 530 535 540	1632
40	gac gcc ttg ccc ggg cca tgc atc gcc tcg acg ccc aaa aag cac cga Asp Ala Leu Pro Gly Pro Cys Ile Ala Ser Thr Thr Pro Lys Lys His Arg 545 550 555 560	1680
45	ggt gag tcc tct gcc aag aga aag atg gac cct gat aat cct gac gag Gly Glu Ser Ser Ala Lys Arg Lys Met Asp Pro Asp Asn Pro Asp Glu 565 570 575	1728
50	ggc cct tcc tcc aag gtg cca cgg ccc gag aca ccc gtg acc aag gcc Gly Pro Ser Ser Lys Val Pro Arg Pro Glu Thr Pro Val Thr Lys Ala 580 585 590	1776
55	acg acg ttc ctg cag act atg ttg agg aag gag gtt aac agt cag ctg Thr Thr Phe Leu Gln Thr Met Leu Arg Lys Glu Val Asn Ser Gln Leu 595 600 605	1824
60	agt ctg gga gac ccg ctg ttt cca gag ttg gcc gaa gaa tcc ctc aaa Ser Leu Gly Asp Pro Leu Phe Pro Glu Leu Ala Glu Glu Ser Leu Lys 610 615 620	1872
65	act ttt gaa caa gtg acc gag gat tgc aac gag aac ccc gag aaa gat Thr Phe Glu Gln Val Thr Glu Asp Cys Asn Glu Asn Pro Glu Lys Asp 625 630 635 640	1920
70	gtc ctg gca gaa ctc gtc aaa cag att aag gtt cga gtg gac atg gtg Val Leu Ala Glu Leu Val Lys Gln Ile Lys Val Arg Val Asp Met Val 645 650 655	1968

ES 2 327 643 T3

	cgg	cat	aga	atc	aag	gag	cac	atg	ctg	aaa	aaa	tat	acc	cag	acg	gaa	2016
	Arg	His	Arg	Ile	Lys	Glu	His	Met	Leu	Lys	Lys	Tyr	Thr	Gln	Thr	Glu	
				660					665					670			
5	gag	aaa	ttc	act	ggc	gcc	ttt	aat	atg	atg	gga	gga	tgt	ttg	cag	aat	2064
	Glu	Lys	Phe	Thr	Gly	Ala	Phe	Asn	Met	Met	Gly	Gly	Cys	Leu	Gln	Asn	
			675					680					685				
10	gcc	tta	gat	atc	tta	gat	aag	gtt	cat	gag	cct	ttc	gag	gag	atg	aag	2112
	Ala	Leu	Asp	Ile	Leu	Asp	Lys	Val	His	Glu	Pro	Phe	Glu	Glu	Met	Lys	
			690				695					700					
15	tgt	att	ggg	cta	act	atg	cag	agc	atg	tat	gag	aac	tac	att	gta	cct	2160
	Cys	Ile	Gly	Leu	Thr	Met	Gln	Ser	Met	Tyr	Glu	Asn	Tyr	Ile	Val	Pro	
	705					710					715					720	
20	gag	gat	aag	cgg	gag	atg	tgg	atg	gct	tgt	att	aag	gag	ctg	cat	gat	2208
	Glu	Asp	Lys	Arg	Glu	Met	Trp	Met	Ala	Cys	Ile	Lys	Glu	Leu	His	Asp	
				725						730					735		
25	gtg	agc	aag	ggc	gcc	gct	aac	aag	ttg	ggg	ggg	gca	ctg	cag	gct	aag	2256
	Val	Ser	Lys	Gly	Ala	Ala	Asn	Lys	Leu	Gly	Gly	Ala	Leu	Gln	Ala	Lys	
				740					745					750			
30	gcc	cgt	gct	aaa	aag	gat	gaa	ctt	agg	aga	aag	atg	atg	tat	atg	tgc	2304
	Ala	Arg	Ala	Lys	Lys	Asp	Glu	Leu	Arg	Arg	Lys	Met	Met	Tyr	Met	Cys	
			755					760					765				
35	tac	agg	aat	ata	gag	ttc	ttt	acc	aag	aac	tca	gcc	ttc	cct	aag	acc	2352
	Tyr	Arg	Asn	Ile	Glu	Phe	Phe	Thr	Lys	Asn	Ser	Ala	Phe	Pro	Lys	Thr	
		770					775					780					
40	acc	aat	ggc	tgc	agt	cag	gcc	atg	gcg	gca	ctg	cag	aac	ttg	cct	cag	2400
	Thr	Asn	Gly	Cys	Ser	Gln	Ala	Met	Ala	Ala	Leu	Gln	Asn	Leu	Pro	Gln	
	785					790					795					800	
45	tgc	tcc	cct	gat	gag	att	atg	gct	tat	gcc	cag	aaa	ata	ttt	aag	att	2448
	Cys	Ser	Pro	Asp	Glu	Ile	Met	Ala	Tyr	Ala	Gln	Lys	Ile	Phe	Lys	Ile	
					805					810					815		
50	ttg	gat	gag	gag	aga	gac	aag	gtg	ctc	acg	cac	att	gat	cac	ata	ttt	2496
	Leu	Asp	Glu	Glu	Arg	Asp	Lys	Val	Leu	Thr	His	Ile	Asp	His	Ile	Phe	
				820					825					830			
55	atg	gat	atc	ctc	act	aca	tgt	gtg	gaa	aca	atg	tgt	aat	gag	tac	aag	2544
	Met	Asp	Ile	Leu	Thr	Thr	Cys	Val	Glu	Thr	Met	Cys	Asn	Glu	Tyr	Lys	
			835					840					845				
60	gtc	act	agt	gac	gct	tgt	atg	atg	acc	atg	tac	ggg	ggc	atc	tct	ctc	2592
	Val	Thr	Ser	Asp	Ala	Cys	Met	Met	Thr	Met	Tyr	Gly	Gly	Ile	Ser	Leu	
			850				855					860					
65	tta	agt	gag	ttc	tgt	cgg	gtg	ctg	tgc	tgc	tat	gtc	tta	gag	gag	act	2640
	Leu	Ser	Glu	Phe	Cys	Arg	Val	Leu	Cys	Cys	Tyr	Val	Leu	Glu	Glu	Thr	
	865					870					875					880	
70	agt	gtg	atg	ctg	gcc	aag	cgg	cct	ctg	ata	acc	aag	cct	gag	gtt	atc	2688

ES 2 327 643 T3

	Ser	Val	Met	Leu	Ala	Lys	Arg	Pro	Leu	Ile	Thr	Lys	Pro	Glu	Val	Ile	
					885					890					895		
5	agt	gta	atg	aag	cgc	cgc	att	gag	gag	atc	tgc	atg	aag	gtc	ttt	gcc	2736
	Ser	Val	Met	Lys	Arg	Arg	Ile	Glu	Glu	Ile	Cys	Met	Lys	Val	Phe	Ala	
				900					905					910			
10	cag	tac	att	ctg	ggg	gcc	gat	cct	ctg	aga	gtc	tgc	tct	cct	agt	gtg	2784
	Gln	Tyr	Ile	Leu	Gly	Ala	Asp	Pro	Leu	Arg	Val	Cys	Ser	Pro	Ser	Val	
				915				920					925				
15	gat	gac	cta	cgg	gcc	gtc	gcc	gag	gag	tca	gat	gag	gaa	gag	gct	att	2832
	Asp	Asp	Leu	Arg	Ala	Val	Ala	Glu	Glu	Ser	Asp	Glu	Glu	Glu	Ala	Ile	
		930					935					940					
20	gta	gcc	tac	act	ttg	gcc	acc	gct	ggg	gtc	agc	tcc	tct	gat	tct	ctg	2880
	Val	Ala	Tyr	Thr	Leu	Ala	Thr	Ala	Gly	Val	Ser	Ser	Ser	Asp	Ser	Leu	
		945				950				955						960	
25	gtg	tca	ccc	cca	gag	tcc	cct	gta	ccc	gcg	act	atc	cct	ctg	tcc	tca	2928
	Val	Ser	Pro	Pro	Glu	Ser	Pro	Val	Pro	Ala	Thr	Ile	Pro	Leu	Ser	Ser	
					965				970					975			
30	gta	att	gtg	gct	gag	aac	agt	gat	cag	gaa	gaa	agt	gag	cag	agt	gat	2976
	Val	Ile	Val	Ala	Glu	Asn	Ser	Asp	Gln	Glu	Glu	Ser	Glu	Gln	Ser	Asp	
				980				985					990				
35	gag	gaa	gag	gag	gag	ggg	gct	cag	gag	gag	cgg	gag	gac	act	gtg	tct	3024
	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Gly	Ala	Gln	Glu	Glu	Arg	Glu	Asp	Thr	Val	Ser	
				995				1000					1005				
40	gtc	aag	tct	gag	cca	gtg	tct	gag	ata	gag	gaa	gtt	gcc	cca	gag		3069
	Val	Lys	Ser	Glu	Pro	Val	Ser	Glu	Ile	Glu	Glu	Val	Ala	Pro	Glu		
		1010					1015					1020					
45	gaa	gag	gag	gat	ggg	gct	gag	gaa	ccc	acc	gcc	tct	gga	ggc	aag		3114
	Glu	Glu	Glu	Asp	Gly	Ala	Glu	Glu	Pro	Thr	Ala	Ser	Gly	Gly	Lys		
		1025					1030					1035					
50	agc	acc	cac	cct	atg	gtg	act	aga	agc	aag	gct	gac	cag	taa			3156
	Ser	Thr	His	Pro	Met	Val	Thr	Arg	Ser	Lys	Ala	Asp	Gln				
		1040					1045					1050					
55	<210> 4																
	<211> 1051																
	<212> PRT																
60	<213> Artificial																
	<220>																
	<223> fusión de pp65-IE1 de hCMV																
65																	

ES 2 327 643 T3

<400> 4

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

ES 2 327 643 T3

	Phe Met His Val Thr Leu Gly Ser Asp Val Glu Glu Asp Leu Thr Met	
	245	250 255
5	Thr Arg Asn Pro Gln Pro Phe Met Arg Pro His Glu Arg Asn Gly Phe	
	260	265 270
10	Thr Val Leu Cys Pro Lys Asn Met Ile Ile Lys Pro Gly Lys Ile Ser	
	275	280 285
15	His Ile Met Leu Asp Val Ala Phe Thr Ser His Glu His Phe Gly Leu	
	290	295 300
20	Leu Cys Pro Lys Ser Ile Pro Gly Leu Ser Ile Ser Gly Asn Leu Leu	
	305	310 315 320
25	Met Asn Gly Gln Gln Ile Phe Leu Glu Val Gln Ala Ile Arg Glu Thr	
	325	330 335
30	Val Glu Leu Arg Gln Tyr Asp Pro Val Ala Ala Leu Phe Phe Phe Asp	
	340	345 350
35	Ile Asp Leu Leu Leu Gln Arg Gly Pro Gln Tyr Ser Glu His Pro Thr	
	355	360 365
40	Phe Thr Ser Gln Tyr Arg Ile Gln Gly Lys Leu Glu Tyr Arg His Thr	
	370	375 380
45	Trp Asp Arg His Asp Glu Gly Ala Ala Gln Gly Asp Asp Asp Val Trp	
	385	390 395 400
50	Thr Ser Gly Ser Asp Ser Asp Glu Glu Leu Val Thr Thr Glu Arg Lys	
	405	410 415
55	Thr Pro Arg Val Thr Gly Gly Gly Ala Met Ala Gly Ala Ser Thr Ser	
	420	425 430
60	Ala Gly Arg Lys Arg Lys Ser Ala Ser Ser Ala Thr Ala Cys Thr Ser	
	435	440 445
65	Gly Val Met Thr Arg Gly Arg Leu Lys Ala Glu Ser Thr Val Ala Pro	
	450	455 460
	Glu Glu Asp Thr Asp Glu Asp Ser Asp Asn Glu Ile His Asn Pro Ala	

ES 2 327 643 T3

	465		470			475		480								
5	Val	Phe	Thr	Trp	Pro	Pro	Trp	Gln	Ala	Gly	Ile	Leu	Ala	Arg	Asn	Leu
					485					490					495	
10	Val	Pro	Met	Val	Ala	Thr	Val	Gln	Gly	Gln	Asn	Leu	Lys	Tyr	Gln	Glu
				500					505					510		
15	Phe	Phe	Trp	Asp	Ala	Asn	Asp	Ile	Tyr	Arg	Ile	Phe	Ala	Glu	Leu	Glu
			515					520					525			
20	Gly	Val	Trp	Gln	Pro	Ala	Ala	Gln	Pro	Lys	Arg	Arg	Arg	His	Arg	Gln
		530					535					540				
25	Asp	Ala	Leu	Pro	Gly	Pro	Cys	Ile	Ala	Ser	Thr	Pro	Lys	Lys	His	Arg
	545					550					555					560
30	Gly	Glu	Ser	Ser	Ala	Lys	Arg	Lys	Met	Asp	Pro	Asp	Asn	Pro	Asp	Glu
					565					570					575	
35	Gly	Pro	Ser	Ser	Lys	Val	Pro	Arg	Pro	Glu	Thr	Pro	Val	Thr	Lys	Ala
				580					585					590		
40	Thr	Thr	Phe	Leu	Gln	Thr	Met	Leu	Arg	Lys	Glu	Val	Asn	Ser	Gln	Leu
			595					600					605			
45	Ser	Leu	Gly	Asp	Pro	Leu	Phe	Pro	Glu	Leu	Ala	Glu	Glu	Ser	Leu	
		610					615					620				
50	Thr	Phe	Glu	Gln	Val	Thr	Glu	Asp	Cys	Asn	Glu	Asn	Pro	Glu	Lys	Asp
	625				630						635				640	
55	Val	Leu	Ala	Glu	Leu	Val	Lys	Gln	Ile	Lys	Val	Arg	Val	Asp	Met	Val
					645					650				655		
60	Arg	His	Arg	Ile	Lys	Glu	His	Met	Leu	Lys	Lys	Tyr	Thr	Gln	Thr	Glu
				660					665					670		
65	Glu	Lys	Phe	Thr	Gly	Ala	Phe	Asn	Met	Met	Gly	Gly	Cys	Leu	Gln	Asn
			675					680					685			
70	Ala	Leu	Asp	Ile	Leu	Asp	Lys	Val	His	Glu	Pro	Phe	Glu	Glu	Met	Lys
		690					695					700				

ES 2 327 643 T3

5 Cys Ile Gly Leu Thr Met Gln Ser Met Tyr Glu Asn Tyr Ile Val Pro
 705 710 715 720
 10 Glu Asp Lys Arg Glu Met Trp Met Ala Cys Ile Lys Glu Leu His Asp
 725 730 735
 15 Val Ser Lys Gly Ala Ala Asn Lys Leu Gly Gly Ala Leu Gln Ala Lys
 740 745 750
 20 Ala Arg Ala Lys Lys Asp Glu Leu Arg Arg Lys Met Met Tyr Met Cys
 755 760 765
 25 Tyr Arg Asn Ile Glu Phe Phe Thr Lys Asn Ser Ala Phe Pro Lys Thr
 770 775 780
 30 Thr Asn Gly Cys Ser Gln Ala Met Ala Ala Leu Gln Asn Leu Pro Gln
 785 790 795 800
 35 Cys Ser Pro Asp Glu Ile Met Ala Tyr Ala Gln Lys Ile Phe Lys Ile
 805 810 815
 40 Leu Asp Glu Glu Arg Asp Lys Val Leu Thr His Ile Asp His Ile Phe
 820 825 830
 45 Met Asp Ile Leu Thr Thr Cys Val Glu Thr Met Cys Asn Glu Tyr Lys
 835 840 845
 50 Val Thr Ser Asp Ala Cys Met Met Thr Met Tyr Gly Gly Ile Ser Leu
 850 855 860
 55 Leu Ser Glu Phe Cys Arg Val Leu Cys Cys Tyr Val Leu Glu Glu Thr
 865 870 875 880
 60 Ser Val Met Leu Ala Lys Arg Pro Leu Ile Thr Lys Pro Glu Val Ile
 885 890 895
 65 Ser Val Met Lys Arg Arg Ile Glu Glu Ile Cys Met Lys Val Phe Ala
 900 905 910
 70 Gln Tyr Ile Leu Gly Ala Asp Pro Leu Arg Val Cys Ser Pro Ser Val
 915 920 925

ES 2 327 643 T3

Asp Asp Leu Arg Ala Val Ala Glu Glu Ser Asp Glu Glu Glu Ala Ile
 930 935 940
 5
 Val Ala Tyr Thr Leu Ala Thr Ala Gly Val Ser Ser Ser Asp Ser Leu
 945 950 955 960
 10
 Val Ser Pro Pro Glu Ser Pro Val Pro Ala Thr Ile Pro Leu Ser Ser
 965 970 975
 15
 Val Ile Val Ala Glu Asn Ser Asp Gln Glu Glu Ser Glu Gln Ser Asp
 980 985 990
 20
 Glu Glu Glu Glu Glu Gly Ala Gln Glu Glu Arg Glu Asp Thr Val Ser
 995 1000 1005
 25
 Val Lys Ser Glu Pro Val Ser Glu Ile Glu Glu Val Ala Pro Glu
 1010 1015 1020
 30
 Glu Glu Glu Asp Gly Ala Glu Glu Pro Thr Ala Ser Gly Gly Lys
 1025 1030 1035
 35
 Ser Thr His Pro Met Val Thr Arg Ser Lys Ala Asp Gln
 1040 1045 1050
 <210> 5
 <211> 15
 <212> PRT
 40 <213> Citomegalovirus humano
 <400> 5
 45 Met Glu Ser Arg Gly Arg Arg Cys Pro Glu Met Ile Ser Val Leu
 1 5 10 15
 <210> 6
 50 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano
 55 <400> 6
 Gly Arg Arg Cys Pro Glu Met Ile Ser Val Leu Gly Pro Ile Ser
 1 5 10 15
 60
 <210> 7
 <211> 15
 <212> PRT
 65 <213> Citomegalovirus humano

ES 2 327 643 T3

<400> 7

Pro Glu Met Ile Ser Val Leu Gly Pro Ile Ser Gly His Val Leu
1 5 10 15

<210> 8

<211> 15

<212> PRT

10 <213> Citomegalovirus humano

<400> 8

Ser Val Leu Gly Pro Ile Ser Gly His Val Leu Lys Ala Val Phe
1 5 10 15

<210> 9

20 <211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

25 <400> 9

Pro Ile Ser Gly His Val Leu Lys Ala Val Phe Ser Arg Gly Asp
1 5 10 15

30 <210> 10

<211> 15

<212> PRT

35 <213> Citomegalovirus humano

<400> 10

His Val Leu Lys Ala Val Phe Ser Arg Gly Asp Thr Pro Val Leu
1 5 10 15

<210> 11

<211> 15

45 <212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 11

Ala Val Phe Ser Arg Gly Asp Thr Pro Val Leu Pro His Glu Thr
1 5 10 15

<210> 12

55 <211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

60 <400> 12

Arg Gly Asp Thr Pro Val Leu Pro His Glu Thr Arg Leu Leu Gln
1 5 10 15

65 <210> 13

<211> 15

ES 2 327 643 T3

<212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

5 <400> 13
 Pro Val Leu Pro His Glu Thr Arg Leu Leu Gln Thr Gly Ile His
 1 5 10 15

10 <210> 14
 <211> 15
 <212> PRT
 15 <213> Citomegalovirus humano
 <400> 14
 His Glu Thr Arg Leu Leu Gln Thr Gly Ile His Val Arg Val Ser
 1 5 10 15

20 <210> 15
 <211> 15
 25 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano
 <400> 15
 Leu Leu Gln Thr Gly Ile His Val Arg Val Ser Gln Pro Ser Leu
 1 5 10 15

30 <210> 16
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano
 40 <400> 16
 Gly Ile His Val Arg Val Ser Gln Pro Ser Leu Ile Leu Val Ser
 1 5 10 15

45 <210> 17
 <211> 15
 <212> PRT
 50 <213> Citomegalovirus humano
 <400> 17
 Arg Val Ser Gln Pro Ser Leu Ile Leu Val Ser Gln Tyr Thr Pro
 1 5 10 15

55 <210> 18
 60 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

65

ES 2 327 643 T3

<400> 18

Pro Ser Leu Ile Leu Val Ser Gln Tyr Thr Pro Asp Ser Thr Pro
1 5 10 15

<210> 19

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 19

Leu Val Ser Gln Tyr Thr Pro Asp Ser Thr Pro Cys His Arg Gly
1 5 10 15

<210> 20

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 20

Tyr Thr Pro Asp Ser Thr Pro Cys His Arg Gly Asp Asn Gln Leu
1 5 10 15

<210> 21

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 21

Ser Thr Pro Cys His Arg Gly Asp Asn Gln Leu Gln Val Gln His
1 5 10 15

<210> 22

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 22

His Arg Gly Asp Asn Gln Leu Gln Val Gln His Thr Tyr Phe Thr
1 5 10 15

<210> 23

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 23

Asn Gln Leu Gln Val Gln His Thr Tyr Phe Thr Gly Ser Glu Val
1 5 10 15

ES 2 327 643 T3

<210> 24
 <211> 15
 <212> PRT
 5 <213> Citomegalovirus humano

 <400> 24

 10 Val Gln His Thr Tyr Phe Thr Gly Ser Glu Val Glu Asn Val Ser
 1 5 10 15

 <210> 25
 <211> 15
 15 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

 <400> 25
 20 Tyr Phe Thr Gly Ser Glu Val Glu Asn Val Ser Val Asn Val His
 1 5 10 15

 25 <210> 26
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano
 30
 <400> 26

 35 Ser Glu Val Glu Asn Val Ser Val Asn Val His Asn Pro Thr Gly
 1 5 10 15

 <210> 27
 <211> 15
 40 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

 <400> 27
 45 Asn Val Ser Val Asn Val His Asn Pro Thr Gly Arg Ser Ile Cys
 1 5 10 15

 50 <210> 28
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano
 55
 <400> 28

 60 Asn Val His Asn Pro Thr Gly Arg Ser Ile Cys Pro Ser Gln Glu
 1 5 10 15

 65 <210> 29
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

ES 2 327 643 T3

<400> 29

	Pro	Thr	Gly	Arg	Ser	Ile	Cys	Pro	Ser	Gln	Glu	Pro	Met	Ser	Ile
5	1				5					10					15

<210> 30

<211> 15

<212> PRT

10 <213> Citomegalovirus humano

<400> 30

	Ser	Ile	Cys	Pro	Ser	Gln	Glu	Pro	Met	Ser	Ile	Tyr	Val	Tyr	Ala
15	1				5					10					15

<210> 31

<211> 15

20 <212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 31

	Ser	Gln	Glu	Pro	Met	Ser	Ile	Tyr	Val	Tyr	Ala	Leu	Pro	Leu	Lys
25	1				5					10					15

30 <210> 32

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

35

<400> 32

	Met	Ser	Ile	Tyr	Val	Tyr	Ala	Leu	Pro	Leu	Lys	Met	Leu	Asn	Ile
40	1				5					10					15

<210> 33

<211> 15

<212> PRT

45 <213> Citomegalovirus humano

<400> 33

	Val	Tyr	Ala	Leu	Pro	Leu	Lys	Met	Leu	Asn	Ile	Pro	Ser	Ile	Asn
50	1				5					10					15

<210> 34

55 <211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

60 <400> 34

	Pro	Leu	Lys	Met	Leu	Asn	Ile	Pro	Ser	Ile	Asn	Val	His	His	Tyr
	1				5					10					15

65 <210> 35

<211> 15

ES 2 327 643 T3

<212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

5 <400> 35
 Leu Asn Ile Pro Ser Ile Asn Val His His Tyr Pro Ser Ala Ala
 1 5 10 15

10 <210> 36
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

15 <400> 36
 Ser Ile Asn Val His His Tyr Pro Ser Ala Ala Glu Arg Lys His
 1 5 10 15

20 <210> 37
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

25 <400> 37
 His His Tyr Pro Ser Ala Ala Glu Arg Lys His Arg His Leu Pro
 1 5 10 15

30 <210> 38
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

35 <400> 38
 Ser Ala Ala Glu Arg Lys His Arg His Leu Pro Val Ala Asp Ala
 1 5 10 15

40 <210> 39
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

45 <400> 39
 Arg Lys His Arg His Leu Pro Val Ala Asp Ala Val Ile His Ala
 1 5 10 15

50 <210> 40
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

55 <400> 40
 Arg Lys His Arg His Leu Pro Val Ala Asp Ala Val Ile His Ala
 1 5 10 15

60 <210> 41
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

65 <400> 41
 Arg Lys His Arg His Leu Pro Val Ala Asp Ala Val Ile His Ala
 1 5 10 15

ES 2 327 643 T3

<400> 40

5 His Leu Pro Val Ala Asp Ala Val Ile His Ala Ser Gly Lys Gln
 1 5 10 15

<210> 41

<211> 15

10 <212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 41

15 Ala Asp Ala Val Ile His Ala Ser Gly Lys Gln Met Trp Gln Ala
 1 5 10 15

<210> 42

20 <211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

25 <400> 42

 Ile His Ala Ser Gly Lys Gln Met Trp Gln Ala Arg Leu Thr Val
 1 5 10 15

30

<210> 43

<211> 15

<212> PRT

35 <213> Citomegalovirus humano

<400> 43

40 Gly Lys Gln Met Trp Gln Ala Arg Leu Thr Val Ser Gly Leu Ala
 1 5 10 15

<210> 44

45 <211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

50 <400> 44

 Trp Gln Ala Arg Leu Thr Val Ser Gly Leu Ala Trp Thr Arg Gln
 1 5 10 15

55

<210> 45

<211> 15

<212> PRT

60 <213> Citomegalovirus humano

<400> 45

65 Leu Thr Val Ser Gly Leu Ala Trp Thr Arg Gln Gln Asn Gln Trp
 1 5 10 15

ES 2 327 643 T3

<210> 46
 <211> 15
 <212> PRT
 5 <213> Citomegalovirus humano

 <400> 46

 10 Gly Leu Ala Trp Thr Arg Gln Gln Asn Gln Trp Lys Glu Pro Asp
 1 5 10 15

 <210> 47
 15 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

 20 <400> 47

 Thr Arg Gln Gln Asn Gln Trp Lys Glu Pro Asp Val Tyr Tyr Thr
 1 5 10 15

 25 <210> 48
 <211> 15
 <212> PRT
 30 <213> Citomegalovirus humano

 <400> 48

 35 Asn Gln Trp Lys Glu Pro Asp Val Tyr Tyr Thr Ser Ala Phe Val
 1 5 10 15

 <210> 49
 40 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

 45 <400> 49

 Glu Pro Asp Val Tyr Tyr Thr Ser Ala Phe Val Phe Pro Thr Lys
 1 5 10 15

 50 <210> 50
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano
 55
 <400> 50

 Tyr Tyr Thr Ser Ala Phe Val Phe Pro Thr Lys Asp Val Ala Leu
 1 5 10 15
 60

 <210> 51
 <211> 15
 <212> PRT
 65 <213> Citomegalovirus humano

ES 2 327 643 T3

<400> 51

Ala Phe Val Phe Pro Thr Lys Asp Val Ala Leu Arg His Val Val
1 5 10 15

<210> 52

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 52

Pro Thr Lys Asp Val Ala Leu Arg His Val Val Cys Ala His Glu
1 5 10 15

<210> 53

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 53

Val Ala Leu Arg His Val Val Cys Ala His Glu Leu Val Cys Ser
1 5 10 15

<210> 54

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 54

His Val Val Cys Ala His Glu Leu Val Cys Ser Met Glu Asn Thr
1 5 10 15

<210> 55

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 55

Ala His Glu Leu Val Cys Ser Met Glu Asn Thr Arg Ala Thr Lys
1 5 10 15

<210> 56

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 56

Val Cys Ser Met Glu Asn Thr Arg Ala Thr Lys Met Gln Val Ile
1 5 10 15

ES 2 327 643 T3

<210> 57
 <211> 15
 <212> PRT
 5 <213> Citomegalovirus humano

 <400> 57

 10 Glu Asn Thr Arg Ala Thr Lys Met Gln Val Ile Gly Asp Gln Tyr
 1 5 10 15

 <210> 58
 15 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

 20 <400> 58

 Ala Thr Lys Met Gln Val Ile Gly Asp Gln Tyr Val Lys Val Tyr
 1 5 10 15
 25
 <210> 59
 <211> 15
 <212> PRT
 30 <213> Citomegalovirus humano

 <400> 59

 35 Gln Val Ile Gly Asp Gln Tyr Val Lys Val Tyr Leu Glu Ser Phe
 1 5 10 15

 <210> 60
 40 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

 45 <400> 60

 Asp Gln Tyr Val Lys Val Tyr Leu Glu Ser Phe Cys Glu Asp Val
 1 5 10 15
 50
 <210> 61
 <211> 15
 <212> PRT
 55 <213> Citomegalovirus humano

 <400> 61

 60 Lys Val Tyr Leu Glu Ser Phe Cys Glu Asp Val Pro Ser Gly Lys
 1 5 10 15

 <210> 62
 65 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

ES 2 327 643 T3

<400> 62

Glu Ser Phe Cys Glu Asp Val Pro Ser Gly Lys Leu Phe Met His
1 5 10 15

<210> 63

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 63

Glu Asp Val Pro Ser Gly Lys Leu Phe Met His Val Thr Leu Gly
1 5 10 15

<210> 64

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 64

Ser Gly Lys Leu Phe Met His Val Thr Leu Gly Ser Asp Val Glu
1 5 10 15

<210> 65

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 65

Phe Met His Val Thr Leu Gly Ser Asp Val Glu Glu Asp Leu Thr
1 5 10 15

<210> 66

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 66

Thr Leu Gly Ser Asp Val Glu Glu Asp Leu Thr Met Thr Arg Asn
1 5 10 15

<210> 67

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 67

Asp Val Glu Glu Asp Leu Thr Met Thr Arg Asn Pro Gln Pro Phe
1 5 10 15

ES 2 327 643 T3

<210> 68
 <211> 15
 <212> PRT
 5 <213> Citomegalovirus humano

 <400> 68

 10 Asp Leu Thr Met Thr Arg Asn Pro Gln Pro Phe Met Arg Pro His
 1 5 10 15

 <210> 69
 15 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

 20 <400> 69

 Thr Arg Asn Pro Gln Pro Phe Met Arg Pro His Glu Arg Asn Gly
 1 5 10 15

 25 <210> 70
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano
 30
 <400> 70

 Gln Pro Phe Met Arg Pro His Glu Arg Asn Gly Phe Thr Val Leu
 1 5 10 15
 35

 <210> 71
 <211> 15
 40 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

 <400> 71
 45
 Arg Pro His Glu Arg Asn Gly Phe Thr Val Leu Cys Pro Lys Asn
 1 5 10 15

 50 <210> 72
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano
 55
 <400> 72

 Arg Asn Gly Phe Thr Val Leu Cys Pro Lys Asn Met Ile Ile Lys
 1 5 10 15
 60

 <210> 73
 <211> 15
 <212> PRT
 65 <213> Citomegalovirus humano

ES 2 327 643 T3

<400> 73

Thr Val Leu Cys Pro Lys Asn Met Ile Ile Lys Pro Gly Lys Ile
1 5 10 15

<210> 74

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 74

Pro Lys Asn Met Ile Ile Lys Pro Gly Lys Ile Ser His Ile Met
1 5 10 15

<210> 75

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 75

Ile Ile Lys Pro Gly Lys Ile Ser His Ile Met Leu Asp Val Ala
1 5 10 15

<210> 76

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 76

Gly Lys Ile Ser His Ile Met Leu Asp Val Ala Phe Thr Ser His
1 5 10 15

<210> 77

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 77

His Ile Met Leu Asp Val Ala Phe Thr Ser His Glu His Phe Gly
1 5 10 15

<210> 78

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 78

Asp Val Ala Phe Thr Ser His Glu His Phe Gly Leu Leu Cys Pro
1 5 10 15

<210> 79

<211> 15

ES 2 327 643 T3

<212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

5 <400> 79
 Thr Ser His Glu His Phe Gly Leu Leu Cys Pro Lys Ser Ile Pro
 1 5 10 15

10 <210> 80
 <211> 15
 <212> PRT
 15 <213> Citomegalovirus humano
 <400> 80
 His Phe Gly Leu Leu Cys Pro Lys Ser Ile Pro Gly Leu Ser Ile
 1 5 10 15

20 <210> 81
 <211> 15
 <212> PRT
 25 <213> Citomegalovirus humano
 <400> 81
 Leu Cys Pro Lys Ser Ile Pro Gly Leu Ser Ile Ser Gly Asn Leu
 1 5 10 15

30 <210> 82
 <211> 15
 35 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano
 <400> 82
 Ser Ile Pro Gly Leu Ser Ile Ser Gly Asn Leu Leu Met Asn Gly
 1 5 10 15

40 <210> 83
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

45 <400> 83
 Leu Ser Ile Ser Gly Asn Leu Leu Met Asn Gly Gln Gln Ile Phe
 1 5 10 15

50 <210> 84
 <211> 15
 <212> PRT
 55 <213> Citomegalovirus humano
 <400> 84
 Gly Asn Leu Leu Met Asn Gly Gln Gln Ile Phe Leu Glu Val Gln
 1 5 10 15

60
 65

ES 2 327 643 T3

<210> 85

<211> 15

<212> PRT

5 <213> Citomegalovirus humano

<400> 85

10 Met Asn Gly Gln Gln Ile Phe Leu Glu Val Gln Ala Ile Arg Glu
1 5 10 15

<210> 86

<211> 15

15 <212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 86

20 Gln Ile Phe Leu Glu Val Gln Ala Ile Arg Glu Thr Val Glu Leu
1 5 10 15

<210> 87

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

30

<400> 87

Glu Val Gln Ala Ile Arg Glu Thr Val Glu Leu Arg Gln Tyr Asp
1 5 10 15

35

<210> 88

<211> 15

<212> PRT

40 <213> Citomegalovirus humano

<400> 88

45 Ile Arg Glu Thr Val Glu Leu Arg Gln Tyr Asp Pro Val Ala Ala
1 5 10 15

<210> 89

<211> 15

50 <212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 89

55 Val Glu Leu Arg Gln Tyr Asp Pro Val Ala Ala Leu Phe Phe Phe
1 5 10 15

<210> 90

60 <211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

65

ES 2 327 643 T3

<400> 90
 Gln Tyr Asp Pro Val Ala Ala Leu Phe Phe Phe Asp Ile Asp Leu
 1 5 10 15
 5 <210> 91
 <211> 15
 <212> PRT
 10 <213> Citomegalovirus humano
 <400> 91
 Val Ala Ala Leu Phe Phe Phe Asp Ile Asp Leu Leu Leu Gln Arg
 1 5 10 15
 <210> 92
 <211> 15
 20 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano
 <400> 92
 Phe Phe Phe Asp Ile Asp Leu Leu Leu Gln Arg Gly Pro Gln Tyr
 1 5 10 15
 <210> 93
 30 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano
 35 <400> 93
 Ile Asp Leu Leu Leu Gln Arg Gly Pro Gln Tyr Ser Glu His Pro
 1 5 10 15
 40 <210> 94
 <211> 15
 <212> PRT
 45 <213> Citomegalovirus humano
 <400> 94
 Leu Gln Arg Gly Pro Gln Tyr Ser Glu His Pro Thr Phe Thr Ser
 1 5 10 15
 50 <210> 95
 <211> 15
 <212> PRT
 55 <213> Citomegalovirus humano
 <400> 95
 Pro Gln Tyr Ser Glu His Pro Thr Phe Thr Ser Gln Tyr Arg Ile
 1 5 10 15
 60 <210> 96
 65 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

ES 2 327 643 T3

<400> 96

Glu His Pro Thr Phe Thr Ser Gln Tyr Arg Ile Gln Gly Lys Leu
1 5 10 15

<210> 97

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 97

Phe Thr Ser Gln Tyr Arg Ile Gln Gly Lys Leu Glu Tyr Arg His
1 5 10 15

<210> 98

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 98

Tyr Arg Ile Gln Gly Lys Leu Glu Tyr Arg His Thr Trp Asp Arg
1 5 10 15

<210> 99

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 99

Gly Lys Leu Glu Tyr Arg His Thr Trp Asp Arg His Asp Glu Gly
1 5 10 15

<210> 100

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 100

Tyr Arg His Thr Trp Asp Arg His Asp Glu Gly Ala Ala Gln Gly
1 5 10 15

<210> 101

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 101

Trp Asp Arg His Asp Glu Gly Ala Ala Gln Gly Asp Asp Asp Val
1 5 10 15

<210> 102

<211> 15

ES 2 327 643 T3

<212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano
 5 <400> 102
 Asp Glu Gly Ala Ala Gln Gly Asp Asp Asp Val Trp Thr Ser Gly
 1 5 10 15
 10 <210> 103
 <211> 15
 <212> PRT
 15 <213> Citomegalovirus humano
 <400> 103
 20 Ala Gln Gly Asp Asp Asp Val Trp Thr Ser Gly Ser Asp Ser Asp
 1 5 10 15
 <210> 104
 <211> 15
 25 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano
 <400> 104
 30 Asp Asp Val Trp Thr Ser Gly Ser Asp Ser Asp Glu Glu Leu Val
 1 5 10 15
 35 <210> 105
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano
 40 <400> 105
 Thr Ser Gly Ser Asp Ser Asp Glu Glu Leu Val Thr Thr Glu Arg
 45 1 5 10 15
 <210> 106
 <211> 15
 50 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano
 <400> 106
 55 Asp Ser Asp Glu Glu Leu Val Thr Thr Glu Arg Lys Thr Pro Arg
 1 5 10 15
 60 <210> 107
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano
 65

ES 2 327 643 T3

<400> 107

Glu	Leu	Val	Thr	Thr	Glu	Arg	Lys	Thr	Pro	Arg	Val	Thr	Gly	Gly
1				5					10					15

<210> 108

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 108

Thr	Glu	Arg	Lys	Thr	Pro	Arg	Val	Thr	Gly	Gly	Gly	Ala	Met	Ala
1				5					10					15

<210> 109

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 109

Thr	Pro	Arg	Val	Thr	Gly	Gly	Gly	Ala	Met	Ala	Gly	Ala	Ser	Thr
1				5					10					15

<210> 110

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 110

Thr	Gly	Gly	Gly	Ala	Met	Ala	Gly	Ala	Ser	Thr	Ser	Ala	Gly	Arg
1				5					10					15

<210> 111

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 111

Ala	Met	Ala	Gly	Ala	Ser	Thr	Ser	Ala	Gly	Arg	Lys	Arg	Lys	Ser
1				5					10					15

<210> 112

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 112

Ala	Ser	Thr	Ser	Ala	Gly	Arg	Lys	Arg	Lys	Ser	Ala	Ser	Ser	Ala
1				5					10					15

<210> 113

<211> 15

ES 2 327 643 T3

<212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano
 5 <400> 113
 Ala Gly Arg Lys Arg Lys Ser Ala Ser Ser Ala Thr Ala Cys Thr
 1 5 10 15
 10 <210> 114
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano
 15 <400> 114
 Arg Lys Ser Ala Ser Ser Ala Thr Ala Cys Thr Ser Gly Val Met
 1 5 10 15
 20 <210> 115
 <211> 15
 <212> PRT
 25 <213> Citomegalovirus humano
 <400> 115
 30 Ser Ser Ala Thr Ala Cys Thr Ser Gly Val Met Thr Arg Gly Arg
 1 5 10 15
 <210> 116
 35 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano
 40 <400> 116
 Ala Cys Thr Ser Gly Val Met Thr Arg Gly Arg Leu Lys Ala Glu
 1 5 10 15
 45 <210> 117
 <211> 15
 <212> PRT
 50 <213> Citomegalovirus humano
 <400> 117
 55 Gly Val Met Thr Arg Gly Arg Leu Lys Ala Glu Ser Thr Val Ala
 1 5 10 15
 <210> 118
 <211> 15
 60 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano
 <400> 118
 65 Arg Gly Arg Leu Lys Ala Glu Ser Thr Val Ala Pro Glu Glu Asp
 1 5 10 15

ES 2 327 643 T3

<210> 119
 <211> 15
 <212> PRT
 5 <213> Citomegalovirus humano

 <400> 119

 10 Lys Ala Glu Ser Thr Val Ala Pro Glu Glu Asp Thr Asp Glu Asp
 1 5 10 15

 <210> 120
 <211> 15
 15 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

 <400> 120
 20 Thr Val Ala Pro Glu Glu Asp Thr Asp Glu Asp Ser Asp Asn Glu
 1 5 10 15

 25 <210> 121
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano
 30
 <400> 121

 Glu Glu Asp Thr Asp Glu Asp Ser Asp Asn Glu Ile His Asn Pro
 35 1 5 10 15

 <210> 122
 <211> 15
 40 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

 <400> 122
 45 Asp Glu Asp Ser Asp Asn Glu Ile His Asn Pro Ala Val Phe Thr
 1 5 10 15

 <210> 123
 50 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

 55 <400> 123

 Asp Asn Glu Ile His Asn Pro Ala Val Phe Thr Trp Pro Pro Trp
 1 5 10 15

 60 <210> 124
 <211> 15
 <212> PRT
 65 <213> Citomegalovirus humano

ES 2 327 643 T3

```

<400> 124
      His Asn Pro Ala Val Phe Thr Trp Pro Pro Trp Gln Ala Gly Ile
      1          5          10          15
5
<210> 125
<211> 15
<212> PRT
10 <213> Citomegalovirus humano

<400> 125
      Val Phe Thr Trp Pro Pro Trp Gln Ala Gly Ile Leu Ala Arg Asn
      1          5          10          15
15

<210> 126
20 <211> 15
<212> PRT
<213> Citomegalovirus humano

25 <400> 126
      Pro Pro Trp Gln Ala Gly Ile Leu Ala Arg Asn Leu Val Pro Met
      1          5          10          15
30

<210> 127
30 <211> 15
<212> PRT
<213> Citomegalovirus humano

35 <400> 127
      Ala Gly Ile Leu Ala Arg Asn Leu Val Pro Met Val Ala Thr Val
      1          5          10          15
40

<210> 128
<211> 15
45 <212> PRT
<213> Citomegalovirus humano

<400> 128
50 Ala Arg Asn Leu Val Pro Met Val Ala Thr Val Gln Gly Gln Asn
      1          5          10          15

<210> 129
55 <211> 15
<212> PRT
<213> Citomegalovirus humano

60 <400> 129
      Val Pro Met Val Ala Thr Val Gln Gly Gln Asn Leu Lys Tyr Gln
      1          5          10          15
65

<210> 130
<211> 15

```

ES 2 327 643 T3

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

5 <400> 130

Ala	Thr	Val	Gln	Gly	Gln	Asn	Leu	Lys	Tyr	Gln	Glu	Phe	Phe	Trp
1				5				10					15	

10 <210> 131

<211> 15

<212> PRT

15 <213> Citomegalovirus humano

<400> 131

Gly	Gln	Asn	Leu	Lys	Tyr	Gln	Glu	Phe	Phe	Trp	Asp	Ala	Asn	Asp
1				5				10					15	

<210> 132

<211> 15

25 <212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 132

Lys	Tyr	Gln	Glu	Phe	Phe	Trp	Asp	Ala	Asn	Asp	Ile	Tyr	Arg	Ile
1				5				10					15	

35 <210> 133

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

40 <400> 133

Phe	Phe	Trp	Asp	Ala	Asn	Asp	Ile	Tyr	Arg	Ile	Phe	Ala	Glu	Leu
1				5				10					15	

45 <210> 134

<211> 15

<212> PRT

50 <213> Citomegalovirus humano

<400> 134

Ala	Asn	Asp	Ile	Tyr	Arg	Ile	Phe	Ala	Glu	Leu	Glu	Gly	Val	Trp
1				5				10					15	

<210> 135

<211> 15

60 <212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 135

Tyr	Arg	Ile	Phe	Ala	Glu	Leu	Glu	Gly	Val	Trp	Gln	Pro	Ala	Ala
1				5				10					15	

ES 2 327 643 T3

<210> 136
 <211> 15
 <212> PRT
 5 <213> Citomegalovirus humano

 <400> 136

 10 Ala Glu Leu Glu Gly Val Trp Gln Pro Ala Ala Gln Pro Lys Arg
 1 5 10 15

 <210> 137
 15 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

 20 <400> 137

 Gly Val Trp Gln Pro Ala Ala Gln Pro Lys Arg Arg Arg His Arg
 1 5 10 15

 25 <210> 138
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano
 30
 <400> 138

 Pro Ala Ala Gln Pro Lys Arg Arg Arg His Arg Gln Asp Ala Leu
 35 1 5 10 15

 <210> 139
 <211> 15
 40 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

 <400> 139

 45 Pro Lys Arg Arg Arg His Arg Gln Asp Ala Leu Pro Gly Pro Cys
 1 5 10 15

 <210> 140
 50 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

 55 <400> 140

 Arg His Arg Gln Asp Ala Leu Pro Gly Pro Cys Ile Ala Ser Thr
 60 1 5 10 15

 <210> 141
 <211> 15
 65 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

ES 2 327 643 T3

<400> 141

Asp Ala Leu Pro Gly Pro Cys Ile Ala Ser Thr Pro Lys Lys His
1 5 10 15

5 <210> 142

<211> 15

<212> PRT

10 <213> Citomegalovirus humano

<400> 142

Gly Pro Cys Ile Ala Ser Thr Pro Lys Lys His Arg Gly
1 5 10

15 <210> 143

<211> 15

<212> PRT

20 <213> Citomegalovirus humano

<400> 143

Met Glu Ser Ser Ala Lys Arg Lys Met Asp Pro Asp Asn Pro Asp
1 5 10 15

<210> 144

30 <211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

35 <400> 144

Ala Lys Arg Lys Met Asp Pro Asp Asn Pro Asp Glu Gly Pro Ser
1 5 10 15

40 <210> 145

<211> 15

<212> PRT

45 <213> Citomegalovirus humano

<400> 145

Met Asp Pro Asp Asn Pro Asp Glu Gly Pro Ser Ser Lys Val Pro
1 5 10 15

50 <210> 146

<211> 15

55 <212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 146

Asn Pro Asp Glu Gly Pro Ser Ser Lys Val Pro Arg Pro Glu Thr
1 5 10 15

60 <210> 147

<211> 15

65 <212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

ES 2 327 643 T3

<400> 147
 Gly Pro Ser Ser Lys Val Pro Arg Pro Glu Thr Pro Val Thr Lys
 1 5 10 15
 5
 <210> 148
 <211> 15
 <212> PRT
 10 <213> Citomegalovirus humano

 <400> 148
 15 Lys Val Pro Arg Pro Glu Thr Pro Val Thr Lys Ala Thr Thr Phe
 1 5 10 15

 <210> 149
 <211> 15
 20 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

 <400> 149
 25 Pro Glu Thr Pro Val Thr Lys Ala Thr Thr Phe Leu Gln Thr Met
 1 5 10 15

 30 <210> 150
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano
 35
 <400> 150
 Val Thr Lys Ala Thr Thr Phe Leu Gln Thr Met Leu Arg Lys Glu
 1 5 10 15
 40
 <210> 151
 <211> 15
 <212> PRT
 45 <213> Citomegalovirus humano

 <400> 151
 50 Thr Thr Phe Leu Gln Thr Met Leu Arg Lys Glu Val Asn Ser Gln
 1 5 10 15

 <210> 152
 55 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

 60 <400> 152
 Gln Thr Met Leu Arg Lys Glu Val Asn Ser Gln Leu Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 65
 <210> 153
 <211> 15

ES 2 327 643 T3

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

5 <400> 153

Arg	Lys	Glu	Val	Asn	Ser	Gln	Leu	Ser	Leu	Gly	Asp	Pro	Leu	Phe
1				5					10					15

10 <210> 154

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

15

<400> 154

Asn	Ser	Gln	Leu	Ser	Leu	Gly	Asp	Pro	Leu	Phe	Pro	Glu	Leu	Ala
1				5					10					15

20

<210> 155

<211> 15

<212> PRT

25

<213> Citomegalovirus humano

<400> 155

Ser	Leu	Gly	Asp	Pro	Leu	Phe	Pro	Glu	Leu	Ala	Glu	Glu	Ser	Leu
1				5					10					15

<210> 156

35

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

40 <400> 156

Pro	Leu	Phe	Pro	Glu	Leu	Ala	Glu	Glu	Ser	Leu	Lys	Thr	Phe	Glu
1				5					10					15

45

<210> 157

<211> 15

<212> PRT

50

<213> Citomegalovirus humano

<400> 157

Glu	Leu	Ala	Glu	Glu	Ser	Leu	Lys	Thr	Phe	Glu	Gln	Val	Thr	Glu
1				5					10					15

55

<210> 158

<211> 15

60

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 158

65

Glu	Ser	Leu	Lys	Thr	Phe	Glu	Gln	Val	Thr	Glu	Asp	Cys	Asn	Glu
1				5					10					15

ES 2 327 643 T3

```

<210> 159
<211> 15
<212> PRT
5 <213> Citomegalovirus humano

<400> 159

    Thr Phe Glu Gln Val Thr Glu Asp Cys Asn Glu Asn Pro Glu Lys
    1             5             10             15

<210> 160
<211> 15
15 <212> PRT
<213> Citomegalovirus humano

<400> 160

    Val Thr Glu Asp Cys Asn Glu Asn Pro Glu Lys Asp Val Leu Ala
    1             5             10             15

<210> 161
25 <211> 15
<212> PRT
<213> Citomegalovirus humano

30 <400> 161

    Cys Asn Glu Asn Pro Glu Lys Asp Val Leu Ala Glu Leu Val Lys
    1             5             10             15

35 <210> 162
<211> 15
40 <212> PRT
<213> Citomegalovirus humano

<400> 162

45    Pro Glu Lys Asp Val Leu Ala Glu Leu Val Lys Gln Ile Lys Val
    1             5             10             15

50 <210> 163
<211> 15
<212> PRT
55 <213> Citomegalovirus humano

<400> 163

    Val Leu Ala Glu Leu Val Lys Gln Ile Lys Val Arg Val Asp Met
    1             5             10             15

60 <210> 164
65 <211> 15
<212> PRT
<213> Citomegalovirus humano

```

ES 2 327 643 T3

<400> 164

Leu Val Lys Gln Ile Lys Val Arg Val Asp Met Val Arg His Arg
1 5 10 15

<210> 165

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 165

Ile Lys Val Arg Val Asp Met Val Arg His Arg Ile Lys Glu His
1 5 10 15

<210> 166

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 166

Val Asp Met Val Arg His Arg Ile Lys Glu His Met Leu Lys Lys
1 5 10 15

<210> 167

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 167

Arg His Arg Ile Lys Glu His Met Leu Lys Lys Tyr Thr Gln Thr
1 5 10 15

<210> 168

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 168

Lys Glu His Met Leu Lys Lys Tyr Thr Gln Thr Glu Glu Lys Phe
1 5 10 15

<210> 169

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 169

Leu Lys Lys Tyr Thr Gln Thr Glu Glu Lys Phe Thr Gly Ala Phe
1 5 10 15

<210> 170

<211> 15

ES 2 327 643 T3

<212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano
 5 <400> 170
 Thr Gln Thr Glu Glu Lys Phe Thr Gly Ala Phe Asn Met Met Gly
 1 5 10 15
 10 <210> 171
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano
 15 <400> 171
 Glu Lys Phe Thr Gly Ala Phe Asn Met Met Gly Gly Cys Leu Gln
 1 5 10 15
 20 <210> 172
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano
 25 <400> 172
 Gly Ala Phe Asn Met Met Gly Gly Cys Leu Gln Asn Ala Leu Asp
 1 5 10 15
 30 <210> 173
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano
 35 <400> 173
 Met Met Gly Gly Cys Leu Gln Asn Ala Leu Asp Ile Leu Asp Lys
 1 5 10 15
 40 <210> 174
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano
 45 <400> 174
 Cys Leu Gln Asn Ala Leu Asp Ile Leu Asp Lys Val His Glu Pro
 1 5 10 15
 50 <210> 175
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano
 55 <400> 175
 Ala Leu Asp Ile Leu Asp Lys Val His Glu Pro Phe Glu Glu Met
 1 5 10 15
 60
 65

ES 2 327 643 T3

<210> 176
 <211> 15
 <212> PRT
 5 <213> Citomegalovirus humano

 <400> 176
 10 Leu Asp Lys Val His Glu Pro Phe Glu Glu Met Lys Cys Ile Gly
 1 5 10 15

 <210> 177
 <211> 15
 15 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

 <400> 177
 20 His Glu Pro Phe Glu Glu Met Lys Cys Ile Gly Leu Thr Met Gln
 1 5 10 15

 <210> 178
 25 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

 30 <400> 178
 Glu Glu Met Lys Cys Ile Gly Leu Thr Met Gln Ser Met Tyr Glu
 1 5 10 15

 35 <210> 179
 <211> 15
 <212> PRT
 40 <213> Citomegalovirus humano

 <400> 179
 Cys Ile Gly Leu Thr Met Gln Ser Met Tyr Glu Asn Tyr Ile Val
 45 1 5 10 15

 <210> 180
 <211> 15
 <212> PRT
 50 <213> Citomegalovirus humano

 <400> 180
 55 Thr Met Gln Ser Met Tyr Glu Asn Tyr Ile Val Pro Glu Asp Lys
 1 5 10 15

 <210> 181
 <211> 15
 60 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

 <400> 181
 65 Met Tyr Glu Asn Tyr Ile Val Pro Glu Asp Lys Arg Glu Met Trp
 1 5 10 15

ES 2 327 643 T3

<210> 182
 <211> 15
 <212> PRT
 5 <213> Citomegalovirus humano

 <400> 182
 10 Tyr Ile Val Pro Glu Asp Lys Arg Glu Met Trp Met Ala Cys Ile
 1 5 10 15

 <210> 183
 15 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

 20 <400> 183
 Glu Asp Lys Arg Glu Met Trp Met Ala Cys Ile Lys Glu Leu His
 1 5 10 15

 25 <210> 184
 <211> 15
 <212> PRT
 30 <213> Citomegalovirus humano

 <400> 184
 35 Glu Met Trp Met Ala Cys Ile Lys Glu Leu His Asp Val Ser Lys
 1 5 10 15

 <210> 185
 40 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

 45 <400> 185
 Ala Cys Ile Lys Glu Leu His Asp Val Ser Lys Gly Ala Ala Asn
 1 5 10 15

 50 <210> 186
 <211> 15
 <212> PRT
 55 <213> Citomegalovirus humano

 <400> 186
 60 Glu Leu His Asp Val Ser Lys Gly Ala Ala Asn Lys Leu Gly Gly
 1 5 10 15

 <210> 187
 65 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

ES 2 327 643 T3

<400> 187

Val Ser Lys Gly Ala Ala Asn Lys Leu Gly Gly Ala Leu Gln Ala
1 5 10 15

<210> 188

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 188

Ala Ala Asn Lys Leu Gly Gly Ala Leu Gln Ala Lys Ala Arg Ala
1 5 10 15

<210> 189

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 189

Leu Gly Gly Ala Leu Gln Ala Lys Ala Arg Ala Lys Lys Asp Glu
1 5 10 15

<210> 190

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 190

Leu Gln Ala Lys Ala Arg Ala Lys Lys Asp Glu Leu Arg Arg Lys
1 5 10 15

<210> 191

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 191

Ala Arg Ala Lys Lys Asp Glu Leu Arg Arg Lys Met Met Tyr Met
1 5 10 15

<210> 192

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 192

Lys Asp Glu Leu Arg Arg Lys Met Met Tyr Met Cys Tyr Arg Asn
1 5 10 15

<210> 193

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

ES 2 327 643 T3

<400> 193

	Arg	Arg	Lys	Met	Met	Tyr	Met	Cys	Tyr	Arg	Asn	Ile	Glu	Phe	Phe
	1				5					10					15

5 <210> 194
<211> 15
<212> PRT
10 <213> Citomegalovirus humano

<400> 194

15	Met	Tyr	Met	Cys	Tyr	Arg	Asn	Ile	Glu	Phe	Phe	Thr	Lys	Asn	Ser
	1				5					10					15

<210> 195
20 <211> 15
<212> PRT
<213> Citomegalovirus humano

<400> 195

25	Tyr	Arg	Asn	Ile	Glu	Phe	Phe	Thr	Lys	Asn	Ser	Ala	Phe	Pro	Lys
	1				5					10					15

<210> 196
30 <211> 15
<212> PRT
<213> Citomegalovirus humano

<400> 196

35	Glu	Phe	Phe	Thr	Lys	Asn	Ser	Ala	Phe	Pro	Lys	Thr	Thr	Asn	Gly
	1				5					10					15

40 <210> 197
<211> 15
<212> PRT
<213> Citomegalovirus humano

45 <400> 197

	Lys	Asn	Ser	Ala	Phe	Pro	Lys	Thr	Thr	Asn	Gly	Cys	Ser	Gln	Ala
	1				5					10					15

50 <210> 198
<211> 15
<212> PRT
55 <213> Citomegalovirus humano

<400> 198

60	Phe	Pro	Lys	Thr	Thr	Asn	Gly	Cys	Ser	Gln	Ala	Met	Ala	Ala	Leu
	1				5					10					15

<210> 199
65 <211> 15
<212> PRT
<213> Citomegalovirus humano

ES 2 327 643 T3

<400> 199

Thr	Asn	Gly	Cys	Ser	Gln	Ala	Met	Ala	Ala	Leu	Gln	Asn	Leu	Pro
1				5					10					15

5

<210> 200

<211> 15

<212> PRT

10

<213> Citomegalovirus humano

<400> 200

Ser	Gln	Ala	Met	Ala	Ala	Leu	Gln	Asn	Leu	Pro	Gln	Cys	Ser	Pro
1				5					10					15

15

<210> 201

20

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

25

<400> 201

Ala	Ala	Leu	Gln	Asn	Leu	Pro	Gln	Cys	Ser	Pro	Asp	Glu	Ile	Met
1				5					10					15

30

<210> 202

<211> 15

<212> PRT

35

<213> Citomegalovirus humano

<400> 202

Asn	Leu	Pro	Gln	Cys	Ser	Pro	Asp	Glu	Ile	Met	Ala	Tyr	Ala	Gln
1				5					10					15

40

<210> 203

<211> 15

45

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 203

Cys	Ser	Pro	Asp	Glu	Ile	Met	Ala	Tyr	Ala	Gln	Lys	Ile	Phe	Lys
1				5					10					15

50

<210> 204

55

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

60

<400> 204

Glu	Ile	Met	Ala	Tyr	Ala	Gln	Lys	Ile	Phe	Lys	Ile	Leu	Asp	Glu
1				5					10					15

65

<210> 205

<211> 15

ES 2 327 643 T3

<212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano
 5 <400> 205
 Tyr Ala Gln Lys Ile Phe Lys Ile Leu Asp Glu Glu Arg Asp Lys
 1 5 10 15
 10 <210> 206
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano
 15 <400> 206
 Ile Phe Lys Ile Leu Asp Glu Glu Arg Asp Lys Val Leu Thr His
 1 5 10 15
 20 <210> 207
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano
 25 <400> 207
 Leu Asp Glu Glu Arg Asp Lys Val Leu Thr His Ile Asp His Ile
 1 5 10 15
 30 <210> 208
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano
 35 <400> 208
 Arg Asp Lys Val Leu Thr His Ile Asp His Ile Phe Met Asp Ile
 1 5 10 15
 40 <210> 209
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano
 45 <400> 209
 Leu Thr His Ile Asp His Ile Phe Met Asp Ile Leu Thr Thr Cys
 1 5 10 15
 50 <210> 210
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano
 55 <400> 210
 Asp His Ile Phe Met Asp Ile Leu Thr Thr Cys Val Glu Thr Met
 1 5 10 15

ES 2 327 643 T3

<210> 211
 <211> 15
 <212> PRT
 5 <213> Citomegalovirus humano

 <400> 211
 10 Met Asp Ile Leu Thr Thr Cys Val Glu Thr Met Cys Asn Glu Tyr
 1 5 10 15

 <210> 212
 <211> 15
 15 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

 <400> 212
 20 Thr Thr Cys Val Glu Thr Met Cys Asn Glu Tyr Lys Val Thr Ser
 1 5 10 15

 <210> 213
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano
 30
 <400> 213
 Glu Thr Met Cys Asn Glu Tyr Lys Val Thr Ser Asp Ala Cys Met
 1 5 10 15
 35
 <210> 214
 <211> 15
 <212> PRT
 40 <213> Citomegalovirus humano

 <400> 214
 45 Asn Glu Tyr Lys Val Thr Ser Asp Ala Cys Met Met Thr Met Tyr
 1 5 10 15

 <210> 215
 <211> 15
 50 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

 <400> 215
 55 Val Thr Ser Asp Ala Cys Met Met Thr Met Tyr Gly Gly Ile Ser
 1 5 10 15

 <210> 216
 60 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano
 65

ES 2 327 643 T3

<400> 216

	Ala	Cys	Met	Met	Thr	Met	Tyr	Gly	Gly	Ile	Ser	Leu	Leu	Ser	Glu
5	1				5					10					15

<210> 217
 <211> 15
 <212> PRT
 10 <213> Citomegalovirus humano

<400> 217

15	Thr	Met	Tyr	Gly	Gly	Ile	Ser	Leu	Leu	Ser	Glu	Phe	Cys	Arg	Val
	1				5					10					15

<210> 218
 20 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

25 <400> 218

	Gly	Ile	Ser	Leu	Leu	Ser	Glu	Phe	Cys	Arg	Val	Leu	Cys	Cys	Tyr
30	1				5					10					15

<210> 219
 <211> 15
 <212> PRT
 35 <213> Citomegalovirus humano

<400> 219

40	Leu	Ser	Glu	Phe	Cys	Arg	Val	Leu	Cys	Cys	Tyr	Val	Leu	Glu	Glu
	1				5					10					15

<210> 220
 <211> 15
 45 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

<400> 220

50	Cys	Arg	Val	Leu	Cys	Cys	Tyr	Val	Leu	Glu	Glu	Thr	Ser	Val	Met
	1				5					10					15

<210> 221
 55 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

60 <400> 221

	Cys	Cys	Tyr	Val	Leu	Glu	Glu	Thr	Ser	Val	Met	Leu	Ala	Lys	Arg
65	1				5					10					15

<210> 222
 <211> 15

ES 2 327 643 T3

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

5 <400> 222

Leu	Glu	Glu	Thr	Ser	Val	Met	Leu	Ala	Lys	Arg	Pro	Leu	Ile	Thr
1				5					10				15	

10 <210> 223

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

15

<400> 223

Ser	Val	Met	Leu	Ala	Lys	Arg	Pro	Leu	Ile	Thr	Lys	Pro	Glu	Val
1				5					10				15	

20

<210> 224

<211> 15

<212> PRT

25

<213> Citomegalovirus humano

<400> 224

30

Ala	Lys	Arg	Pro	Leu	Ile	Thr	Lys	Pro	Glu	Val	Ile	Ser	Val	Met
1				5					10				15	

<210> 225

35

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

40

<400> 225

Leu	Ile	Thr	Lys	Pro	Glu	Val	Ile	Ser	Val	Met	Lys	Arg	Arg	Ile
1				5					10				15	

45

<210> 226

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

50

<400> 226

Pro	Glu	Val	Ile	Ser	Val	Met	Lys	Arg	Arg	Ile	Glu	Glu	Ile	Cys
1				5					10				15	

55

<210> 227

<211> 15

60

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 227

65

Ser	Val	Met	Lys	Arg	Arg	Ile	Glu	Glu	Ile	Cys	Met	Lys	Val	Phe
1				5					10				15	

ES 2 327 643 T3

<210> 228
 <211> 15
 <212> PRT
 5 <213> Citomegalovirus humano

 <400> 228

 10 Arg Arg Ile Glu Glu Ile Cys Met Lys Val Phe Ala Gln Tyr Ile
 1 5 10 15

 <210> 229
 <211> 15
 15 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

 <400> 229
 20 Glu Ile Cys Met Lys Val Phe Ala Gln Tyr Ile Leu Gly Ala Asp
 1 5 10 15

 <210> 230
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano
 30
 <400> 230

 Lys Val Phe Ala Gln Tyr Ile Leu Gly Ala Asp Pro Leu Arg Val
 1 5 10 15
 35
 <210> 231
 <211> 15
 <212> PRT
 40 <213> Citomegalovirus humano

 <400> 231

 45 Gln Tyr Ile Leu Gly Ala Asp Pro Leu Arg Val Cys Ser Pro Ser
 1 5 10 15

 <210> 232
 <211> 15
 50 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano

 <400> 232
 55 Gly Ala Asp Pro Leu Arg Val Cys Ser Pro Ser Val Asp Asp Leu
 1 5 10 15

 60 <210> 233
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano
 65

ES 2 327 643 T3

<400> 233

Leu Arg Val Cys Ser Pro Ser Val Asp Asp Leu Arg Ala Ile Ala
1 5 10 15

<210> 234

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 234

Ser Pro Ser Val Asp Asp Leu Arg Ala Ile Ala Glu Glu Ser Asp
1 5 10 15

<210> 235

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 235

Asp Asp Leu Arg Ala Ile Ala Glu Glu Ser Asp Glu Glu Glu Ala
1 5 10 15

<210> 236

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 236

Ala Ile Ala Glu Glu Ser Asp Glu Glu Glu Ala Ile Val Ala Tyr
1 5 10 15

<210> 237

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 237

Glu Ser Asp Glu Glu Glu Ala Ile Val Ala Tyr Thr Leu Ala Thr
1 5 10 15

<210> 238

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 238

Glu Glu Ala Ile Val Ala Tyr Thr Leu Ala Thr Ala Gly Val Ser
1 5 10 15

<210> 239

<211> 15

ES 2 327 643 T3

<212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano
 5 <400> 239
 Val Ala Tyr Thr Leu Ala Thr Ala Gly Val Ser Ser Ser Asp Ser
 1 5 10 15
 10 <210> 240
 <211> 15
 <212> PRT
 15 <213> Citomegalovirus humano
 <400> 240
 Leu Ala Thr Ala Gly Val Ser Ser Ser Asp Ser Leu Val Ser Pro
 1 5 10 15
 <210> 241
 <211> 15
 25 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano
 <400> 241
 Gly Val Ser Ser Ser Asp Ser Leu Val Ser Pro Pro Glu Ser Pro
 1 5 10 15
 35 <210> 242
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano
 40 <400> 242
 Ser Asp Ser Leu Val Ser Pro Pro Glu Ser Pro Val Pro Ala Thr
 1 5 10 15
 45 <210> 243
 <211> 15
 <212> PRT
 50 <213> Citomegalovirus humano
 <400> 243
 Val Ser Pro Pro Glu Ser Pro Val Pro Ala Thr Ile Pro Leu Ser
 1 5 10 15
 <210> 244
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Citomegalovirus humano
 65 <400> 244
 Glu Ser Pro Val Pro Ala Thr Ile Pro Leu Ser Ser Val Ile Val
 1 5 10 15

ES 2 327 643 T3

<210> 245

<211> 15

<212> PRT

5 <213> Citomegalovirus humano

<400> 245

10	Pro	Ala	Thr	Ile	Pro	Leu	Ser	Ser	Val	Ile	Val	Ala	Glu	Asn	Ser
	1				5					10					15

<210> 246

<211> 15

15 <212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 246

20	Pro	Leu	Ser	Ser	Val	Ile	Val	Ala	Glu	Asn	Ser	Asp	Gln	Glu	Glu
	1				5					10					15

25 <210> 247

<211> 15

<212> PRT

30 <213> Citomegalovirus humano

<400> 247

35	Val	Ile	Val	Ala	Glu	Asn	Ser	Asp	Gln	Glu	Glu	Ser	Glu	Gln	Ser
	1				5					10					15

<210> 248

<211> 15

40 <212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 248

45	Glu	Asn	Ser	Asp	Gln	Glu	Glu	Ser	Glu	Gln	Ser	Asp	Glu	Glu	Glu
	1				5					10					15

50 <210> 249

<211> 15

<212> PRT

55 <213> Citomegalovirus humano

<400> 249

60	Gln	Glu	Glu	Ser	Glu	Gln	Ser	Asp	Glu	Glu	Glu	Glu	Gly	Ala
	1				5					10				15

<210> 250

<211> 15

<212> PRT

65 <213> Citomegalovirus humano

ES 2 327 643 T3

<400> 250

	Glu	Gln	Ser	Asp	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Gly	Ala	Gln	Glu	Glu	Arg
	1				5					10					15

5

<210> 251

<211> 15

<212> PRT

10 <213> Citomegalovirus humano

<400> 251

15	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Gly	Ala	Gln	Glu	Glu	Arg	Glu	Asp	Thr	Val
	1				5					10					15

<210> 252

20 <211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

25 <400> 252

	Glu	Gly	Ala	Gln	Glu	Glu	Arg	Glu	Asp	Thr	Val	Ser	Val	Lys	Ser
	1				5					10					15

30 <210> 253

<211> 15

<212> PRT

35 <213> Citomegalovirus humano

<400> 253

40	Glu	Glu	Arg	Glu	Asp	Thr	Val	Ser	Val	Lys	Ser	Glu	Pro	Val	Ser
	1				5					10					15

<210> 254

<211> 15

45 <212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 254

50	Asp	Thr	Val	Ser	Val	Lys	Ser	Glu	Pro	Val	Ser	Glu	Ile	Glu	Glu
	1				5					10					15

<210> 255

55 <211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

60 <400> 255

	Val	Lys	Ser	Glu	Pro	Val	Ser	Glu	Ile	Glu	Glu	Val	Ala	Pro	Glu
	1				5					10					15

65 <210> 256

<211> 15

ES 2 327 643 T3

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

5 <400> 256

Pro Val Ser Glu Ile Glu Glu Val Ala Pro Glu Glu Glu Glu Asp
1 5 10 15

10 <210> 257

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

15

<400> 257

Ile Glu Glu Val Ala Pro Glu Glu Glu Glu Asp Gly Ala Glu Glu
1 5 10 15

20

<210> 258

<211> 15

<212> PRT

25 <213> Citomegalovirus humano

<400> 258

30 Ala Pro Glu Glu Glu Glu Asp Gly Ala Glu Glu Pro Thr Ala Ser
1 5 10 15

<210> 259

<211> 15

35 <212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 259

40

Glu Glu Asp Gly Ala Glu Glu Pro Thr Ala Ser Gly Gly Lys Ser
1 5 10 15

45 <210> 260

<211> 15

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

50

<400> 260

Ala Glu Glu Pro Thr Ala Ser Gly Gly Lys Ser Thr His Pro Met
1 5 10 15

55

<210> 261

<211> 15

<212> PRT

60

<213> Citomegalovirus humano

<400> 261

65 Thr Ala Ser Gly Gly Lys Ser Thr His Pro Met Val Thr Arg Ser
1 5 10 15

ES 2 327 643 T3

<210> 262

<211> 15

<212> PRT

5 <213> Citomegalovirus humano

<400> 262

10	Gly	Lys	Ser	Thr	His	Pro	Met	Val	Thr	Arg	Ser	Lys	Ala	Asp	Gln
	1				5					10					15

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65