

REIVINDICACIONES

1. Complejo pentamérico compuesto de proteínas CMV UL128, UL130, UL131A, gH (UL75) y gL (UL115) obtenibles por el método, que comprende
 - (i) co-expresión de proteínas CMV UL128, UL130, UL131A, gH (UL75) y gL (UL115) en una célula hospedera mediante el uso de baculovirus;
 - (ii) purificar el complejo pentamérico de las células hospederas y/o sobrenadante de acogida obtenidos a partir de dicha co-expresión; y
 - (iii) almacenar opcionalmente el complejo pentamérico purificado en una solución tampón que comprende un agente quelante y / o un agente estabilizante.
2. Complejo pentamérico de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la célula hospedera es una célula de insecto o célula de mamífero.
3. Complejo pentamérico de la reivindicación 2, en el que la célula de insecto es Sf9, Sf21, HighFive, S2, Súper Sf9-1, Súper Sf9-2, o Super Sf-9-3.
4. Complejo pentamérico de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la etapa de co-expresión incluye
 - (i) infectar las células hospederas con un baculovirus que expresa dichas proteínas y que tiene un título de aproximadamente 10^7 pfu / ml o superior al infectar dicha célula huésped que tiene un recuento de células en la infección de alrededor de $2 * 10^6$ células / ml;
 - (ii) cultivar dichas células hospederas en condiciones adecuadas, y
 - (iii) recolección de dichas células hospederas y/o del sobrenadante entre 56-65 h después de la infección.
5. Complejo pentamérico de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que dichas células hospederas se infectan entre el día 15 y día 50, preferiblemente entre 15 días y 30 días, preferiblemente al día 18 después de la descongelación y cultivo.

6. Complejo pentamérico de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la purificación incluye cromatografía de intercambio iónico, cromatografía de interacción hidrófoba, cromatografía de exclusión por tamaño y / o cromatografía de afinidad.
7. Complejo pentamérico de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el agente quelante es EDTA o EGTA.
8. Complejo pentamérico de la reivindicación 7, en el que el EDTA está presente en dicha solución tampón a una concentración de 20 mM o menos, tal como 3 mM o menos.
9. Complejo pentamérico de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el agente estabilizante es polietilenglicol, arginina, sorbitol, glicerol, sacarosa y / o NP-40.
10. Complejo pentamérico de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que dicha solución tampón comprende tampón Tris, NaCl, KCl.
11. Complejo pentamérico de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que los marcos abiertos de lectura (ORF) que codifican proteínas CMV UL128, UL130, UL131A, gH y gL están en uno o más vectores, preferiblemente en un solo vector.
12. Complejo pentamérico de la reivindicación 11, en el que el vector contiene los elementos para la propagación en bacterias (*E. coli*), levadura (*S. cerevisiae*), células de insectos y/o células de mamífero.
13. Complejo pentamérico de la reivindicación 11 o 12, en el que los ORFs se encuentran en el siguiente orden de 5' a 3' en dicho vector:
 - (i) gH, gL, UL128, UL130, UL131A; o
 - (ii) gL, UL128, UL130, UL131A, gH.
14. Complejo pentamérico de la reivindicación 13, en el que
 - (a) en (i) el ORF de gH se transcribe en dirección 3', el ORF de gL se transcribe en dirección 5', el ORF de UL128 se transcribe en dirección 3', el ORF de UL130 se transcribe en dirección 3', y el ORF de UL131A se transcribe en dirección 3';

- (b) en (i) el ORF de gH se transcribe en dirección 3', el ORF de gL se transcribe en dirección 3', el ORF de UL128 se transcribe en dirección 3', el ORF de UL130 se transcribe en dirección 3', y el ORF de UL131A se transcribe en dirección 3';
- (c) en (ii) el ORF de gL se transcribe en dirección 5', el ORF de UL128 se transcribe en dirección 3', el ORF de UL130 se transcribe en dirección 3', el ORF de UL131A se transcribe en dirección 3', y el ORF de gH ORF se transcribe en dirección 3'
15. Complejo pentamérico de cualquiera de las reivindicaciones 11 a 14, en donde cada uno de dichos ORFs es impulsado por el promotor p10, el promotor polh, IE-1, el promotor de mCMV, promotor VP39, promotor lef2, el promotor CAG, o promotor HepB SV40 y seguido por una secuencia terminadora como el terminador SV40 o el terminador HSVtk
 16. Complejo pentamérico de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que al menos una de dichas proteínas comprende una etiqueta.
 17. Complejo pentamérico de la reivindicación 16, en el que dicha etiqueta es una etiqueta de His, Strep-Tag, un His-Strep-tag, StrepII-Tag, Softag 1, TC-tag, myc-tag, FLAG-tag, HA-tag, V5 -tag, Avi-tag, calmodulina-tag, poliglutamato-tag, beta amiloide-tag, etiqueta de GST, MBP-tag o S-tag.
 18. Complejo pentamérico de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que uno o más de dichas proteínas comprende proteasa PreScission o PreScission y proteasa TEV, preferiblemente la proteína gH y/o gL comprende proteasa PreScission o PreScission y a la proteasa TEV.
 19. Complejo pentamérico de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que en dicho baculovirus la actividad v-cath y /o chía se interrumpe funcionalmente.
 20. Complejo pentamérico de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que está en la forma de una composición.
 21. Complejo pentamérico de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que es capaz de inducir la actividad de neutralización que inhibe la infección tanto epitelial/endotelial (Epi / CE) y de fibroblastos.
 22. Un método para la producción de un complejo pentamérico compuesto por proteínas UL128, UL130, UL131A, GH (UL75) y gL (UL115) de CMV, que comprende

- (i) co-expresión de proteínas CMV UL128, UL130, UL131A, gH (UL75) y gL (UL115) en una célula hospedera mediante el uso de baculovirus;
 - (ii) purificar el complejo pentamérico de las células hospederas y/o del sobrenadante obtenidos a partir de dicha co-expresión; y
 - (iii) almacenar opcionalmente el complejo pentamérico purificado en una solución tampón que comprende un agente quelante y / o un agente estabilizante.
23. Complejo pentamérico de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 21, en el que uno o más de dichas proteínas comprende epítopes de células B y/o de células T adicionales
24. Complejo pentamérico de la reivindicación 23, en el que dicho epítoto de células T es un epítoto de células T CD4 o un epítoto de células T CD8.
25. Complejo pentamérico de la reivindicación 23 o 24, donde dicho epítoto es cualquiera de los epítopes que se muestran en las SEQ ID NOs: 22-66.
26. Una composición de vacuna o composición farmacéutica que comprende un complejo pentamérico de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 21 y 23 a 25 u obtenible por el método de la reivindicación 22 y opcionalmente un vehículo o adyuvante farmacéuticamente aceptable.
27. Complejo pentamérico de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 21 y 23 a 25 o la composición farmacéutica de la reivindicación 26, en el que al menos uno, dos, tres o cuatro de dichas proteínas es de una cepa de CMV distinta de la cepa CMV de la que son las proteínas restantes.
28. Complejo pentamérico de la reivindicación 27, en donde las proteínas de CMV son de la cepa Towne de CMV, Towne teniendo el genoma como se depositó en el NCBI GenBank bajo los números de acceso FJ616285.1, Toledo (GU937742.1), AD169 (FJ527563), Merlin (AY446894.2), TB40 / E (KF297339.1), VR1814 (GU179289).
29. Composición de la vacuna de la reivindicación 26, que comprende además la proteína gB, proteína gM, proteína pp65, proteína IE-1, dímero de proteínas gL/gH, dímero de la proteína gM / gN, trimero de gL / gH / gO, partículas similares a virus (VLP) que comprenden una o más proteínas de la cápside o precursoras de la cápside, una o más proteínas de la superficie de CMV, y / o una o más proteínas del tegumento.

30. Composición de vacuna de la reivindicación 26, que comprende además una molécula de ácido nucleico que codifica gB, gM, pp65, IE-1 o IE-2
31. Composición de vacuna que comprende un vector que codifica un complejo pentamérico de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 25.
32. Composición de vacuna de la reivindicación 31, en donde dicho vector es basada en ADN o en ARN.
33. Composición de vacuna de cualquiera de las reivindicaciones 26 a 32, que comprende además un virus vaccinia Ankara modificado (MVA) que comprende una o más proteínas del complejo pentamérico CMV compuesto de UL128, UL130, UL131, gH (UL75) y gL (UL115).
34. Composición de vacuna de cualquiera de las reivindicaciones 26 a 33 para uso en un método de vacunación de un sujeto contra CMV, que comprende administrar la composición de iniciación como dicha composición de vacuna y como una composición de refuerzo de (i) dímero gH / gL, (ii) un dímero UL130 / UL131A, (iii) dímero gM/ gN dímero (iv) un pentámero / gL/UL128/UL130/ UL131A/gH, (v) gB, (vi) gM, (vii) pp65, (viii) IE-1, (ix) IE-2, (x) un virus vaccinia Ankara modificado (MVA) que comprende una o más proteínas del complejo pentamérico de CMV compuesto por UL128, UL130, UL131, gH (UL75) y gL (UL115), (xi) un virus vaccinia Ankara modificado (MVA) que comprende proteína gB, un dímero gH /gL, proteína pp65 o IE-1, (xii) partículas similares a virus (VLP) que comprenden una o más proteínas de la cápside o precursoras de la cápside, una o más proteínas de la superficie de CMV, o una o más proteínas del tegumento, (xiii) la secuencia de ácido nucleico que codifica cualquiera de los compuestos como se define en (i) a (xii), (xiv) péptidos de flagelina, (xv) motivos CpG, y/o (xvi) LCMV a dicho sujeto.
35. Composición de vacuna de la reivindicación 34, en el que dicha composición de refuerzo se utiliza como composición de iniciación y dicha composición de iniciación se utiliza como composición de refuerzo.
36. Uno o más vectores que comprenden marcos de lectura abiertos (ORF) que codifican las proteínas CMV UL128, UL130, UL131, gH y gL.

37. Vector de la reivindicación 36, en el que el vector contiene los elementos para la propagación en bacterias (por ejemplo *E. coli*), levaduras (por ejemplo, *S. cerevisiae*), células de insectos y / o células de mamífero.
38. Vector de la reivindicación 36 o 37, en el que dicho vector es un vector de baculovirus o un vector de baculovirus BacMam.
39. Vector de cualquiera de las reivindicaciones 36 a 38, en el que en dicho vector de baculovirus el gen v-cath y/o Chia se interrumpe funcionalmente.
 - (a) Vector de una cualquiera de las reivindicaciones 24 a 27, en el que los ORFs se encuentran en el siguiente orden de 5' a 3' en dicho vector:
 - (b) gH, gL, UL128, UL130, UL131; o.
 - (c) gL, UL128, UL130, UL131, gH.
40. Vector de la reivindicación 39, en el que
 - (A) en (i) el ORF de gH se transcribe en dirección 3', el ORF de gL se transcribe en dirección 5', el ORF de UL128 se transcribe en dirección 3', el ORF de UL130 se transcribe en dirección 3', y el ORF de UL131 se transcribe en dirección 3';
 - (B) en (i) el ORF de gH se transcribe en dirección 3', el ORF de gL se transcribe en dirección 3', el ORF de UL128 se transcribe en dirección 3', el ORF de UL130 se transcribe en dirección 3', y el ORF de UL131 ORF transcribe en dirección 3';
 - (C) en (ii) el ORF de gL se transcribe en dirección 5', el ORF de UL128 se transcribe en dirección 3', el ORF de UL130 se transcribe en dirección 3', el ORF de UL131 se transcribe en dirección 3', y el ORF de gH se transcribe en dirección 3'.
41. Vector de cualquiera de las reivindicaciones 36 a 40, en el que cada uno de dichos ORFs está impulsado por el promotor p10, el promotor polh, IE-1, el promotor de mCMV, promotor VP39, promotor lef2, el promotor CAG, o HepB promotor SV40 y es seguido por una secuencia terminadora tal como terminador de SV40 o terminador HSVtk.
42. Vacuna que comprende el vector de cualquiera de las reivindicaciones 36 a 41 y opcionalmente un vehículo o adyuvante farmacéuticamente aceptable.