

CAPÍTULO REIVINDICATORIO MODIFICADO
(Examen de Forma)

1. Un método para la producción de un complejo pentamérico compuesto de proteínas CMV UL128, UL130, UL131A, gH (UL75) y gL (UL115), que comprende
 - (i) co-expresión de proteínas CMV UL128, UL130, UL131A, gH (UL75) y gL (UL115) en una célula hospedera de insecto mediante el uso de baculovirus;
 - (ii) purificar el complejo pentamérico de las células hospederas y/o sobrenadante obtenido a partir de dicha co-expresión; y
 - (iii) opcionalmente almacenar el complejo pentamérico purificado en una solución tampón que comprende un agente quelante y/o un agente estabilizante.
2. El método de la Reivindicación 1, en el que la célula hospedera de insecto es Sf9, Sf21, HighFive, S2, Súper Sf9-1, Súper Sf9-2, o Super Sf-9-3.
3. El método 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) recolectar de dichas células hospederas y/o del sobrenadante entre 56-65 h después de la infección.
4. El método de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que
 - (i) 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; y/o
 - (ii) purificación incluye cromatografía de intercambio iónico, cromatografía de interacción hidrófoba, cromatografía de exclusión por tamaño y/o cromatografía de afinidad.
5. El método de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el agente quelante es EDTA o EGTA; opcionalmente 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.
6. El método de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que
 - (i) el agente estabilizante es polietilenglicol, arginina, sorbitol, glicerol, sacarosa y/o NP-40; y/o

(ii) dicha solución tampón comprende tampón Tris, NaCl, KCl.

7. El método de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que los marcos abiertos de lectura (ORFs) que codifican proteínas CMV UL128, UL130, UL131A, gH y gL están en uno o más vectores, preferiblemente en un solo vector.

8. El método de la Reivindicación 7, 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;

opcionalmente 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'.

9. El método de cualquiera de las Reivindicaciones 7 o 8, 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.

10. El método de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, 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, opcionalmente en donde las proteínas de CMV son de la cepa Towne de CMV, Towne que tiene 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).
