

REIVINDICACIONES

Se reivindica lo siguiente:

1. Un vector del adenovirus del chimpancé que comprende un casete de neoantígeno, donde el casete de neoantígeno comprende:

(1) múltiples secuencias de ácidos nucleicos que codifican neoantígenos derivadas de un tumor presente dentro de un sujeto, que comprenden:

al menos dos secuencias de ácidos nucleicos que codifican neoantígenos del MHC clase I específicas del tumor y específicas del sujeto, cada una de las cuales comprende:

a. una secuencia de ácidos nucleicos que codifica el epítipo del MHC clase I con al menos una alteración que distingue a la secuencia peptídica codificada con respecto a la secuencia peptídica correspondiente codificada por una secuencia de ácidos nucleicos de tipo salvaje,

b. opcionalmente una secuencia enlazadora 5', y

c. opcionalmente una secuencia enlazadora 3';

(2) al menos una secuencia promotora enlazada de manera operativa a al menos una de las múltiples secuencias,

(3) opcionalmente, al menos una secuencia de ácidos nucleicos que codifica el antígeno del MHC clase II;

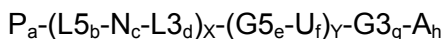
(4) opcionalmente, al menos una secuencia enlazadora que codifica para GPGPG (SEQ ID NO:56);

(5) opcionalmente, al menos una secuencia de poliadenilación enlazada de forma operativa a al menos una de las múltiples secuencias, donde opcionalmente la secuencia de poliA se encuentra en una ubicación 3' con respecto a la o las múltiples secuencias, y opcionalmente donde la secuencia de poliA comprende una secuencia de poliA del SV40; y

(6) opcionalmente donde al menos una alteración comprende una mutación puntual, una mutación de desplazamiento de marco, una mutación de eliminación, una variante de corte y empalme, una reorganización

genómica o un antígeno sometido a corte y empalme generado por el proteasoma.

2. El vector de la reivindicación 1, donde una secuencia ordenada de cada elemento del casete del neoantígeno se describe en una fórmula, de 5' a 3', que comprende:



donde P comprende la o las secuencias promotoras enlazadas de manera operativa a al menos una de las múltiples secuencias, donde $a = 1$.

N comprende una de las secuencias de ácidos nucleicos que codifica el epítipo del MHC clase I con al menos una alteración que distingue a la secuencia peptídica codificada con respecto a la secuencia peptídica correspondiente codificada por la secuencia de ácidos nucleicos de tipo salvaje, donde $c = 1$.

L5 comprende la secuencia enlazadora 5', donde $b = 0$ o 1 ,

L3 comprende la secuencia enlazadora 3', donde $d = 0$ o 1 ,

G5 comprende una de la o las secuencias enlazadoras que codifican para GPGPG, donde $e = 0$ o 1 ,

G3 comprende una de la o las secuencias enlazadoras que codifican para GPGPG, donde $g = 0$ o 1 ,

U comprende una de la o las secuencias de ácidos nucleicos que codifican el antígeno del MHC clase II, donde $f = 1$,

A comprende la o las secuencias de poliadenilación, donde $h = 0$ o 1 ,

$X =$ de 2 a 400, donde para cada X la N_c correspondiente es una secuencia de ácidos nucleicos que codifica el epítipo del MHC clase I distinta, y

$Y = 0-2$, donde para cada Y la U_f correspondiente es una secuencia de ácidos nucleicos que codifica el antígeno del MHC clase II distinta.

3. El vector de la reivindicación 2, donde

$b = 1$, $d = 1$, $e = 1$, $g = 1$, $h = 1$, $X = 20$, $Y = 2$,

P es una secuencia promotora del CMV;

cada N codifica un epítipo del MHC clase I con una longitud de 7-15 aminoácidos.

L5 es una secuencia de ácidos nucleicos 5' natural del epítipo del MHC I, y donde la secuencia enlazadora 5' codifica un péptido con una longitud de al menos 5 aminoácidos,

L3 es una secuencia de ácidos nucleicos 3' natural del epítipo del MHC I, y donde la secuencia enlazadora 3' codifica un péptido con una longitud de al menos 5 aminoácidos,

U es cada una de una secuencia de MCH clase II de PADRE y una secuencia del MHC clase II de toxoide tetánico,

el vector del adenovirus del chimpancé comprende una secuencia ChAdV68 modificada que comprende la secuencia de la SEQ ID NO:1 que contiene una eliminación de E1 desde el nucleótido 577 al nucleótido 3.403 y una eliminación de E3 desde el nucleótido 27.125 al nucleótido 31.825 y se inserta el casete de neoantígeno dentro de la eliminación de E1, y

cada una de las secuencias de ácidos nucleicos que codifican el neoantígeno del MHC clase I codifica un polipéptido con una longitud de 25 aminoácidos.

4. El vector de la reivindicación 1, donde al menos una de las múltiples secuencias de ácidos nucleicos que codifican el neoantígeno codifica una secuencia de polipéptidos o parte de esta que es presentada por el MHC clase I sobre la superficie de la célula tumoral, opcionalmente donde la al menos una de las secuencias de ácidos nucleicos que codifican el neoantígeno de las múltiples secuencias codifica una secuencia de polipéptidos o una parte de esta que tiene una probabilidad aumentada de presentación en su alelo del MHC correspondiente con respecto a la secuencia de ácidos nucleicos parental de tipo salvaje, y

opcionalmente donde las múltiples secuencias comprenden al menos 2-400 secuencias de ácidos nucleicos y (1) donde al menos dos de las secuencias de ácidos nucleicos que codifican el neoantígeno de las múltiples secuencias codifican secuencias de polipéptidos o partes de estas que son presentadas por MHC I en la superficie de la célula tumoral, o (2) cuando se traducen, al menos uno de los neoantígenos se presenta en células presentadoras de antígenos, lo que da como resultado una respuesta inmunitaria dirigida a al menos uno de los neoantígenos de la superficie de la célula tumoral; y

opcionalmente donde la expresión de cada una de las al menos 2-400 secuencias de ácidos nucleicos es impulsada por al menos un promotor.

5. El vector de la reivindicación 1, donde al menos una de las múltiples secuencias de ácidos nucleicos que codifican el neoantígeno se enlaza con una secuencia de ácidos nucleicos que codifica un neoantígeno distinto dentro de las múltiples secuencias mediante una secuencia que codifica para un enlazador.

6. El vector de la reivindicación 5, donde el enlazador de la secuencia que codifica para un enlazador enlaza dos secuencias del MHC clase I o una secuencia del MHC clase I a una secuencia del MHC clase II, opcionalmente donde el enlazador se selecciona del grupo que consiste en: (1) residuos de glicina consecutivos, con una longitud de al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 residuos; (2) residuos de alanina consecutivos, con una longitud de al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10; (3) dos residuos de arginina (RR); (4) alanina, alanina, tirosina (AAY); (5) una secuencia de consenso de una longitud de al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 residuos de aminoácidos que se procesa de forma eficiente por un proteasoma de mamífero; y (6) una o más secuencias naturales que flanquean al antígeno derivadas de la proteína cognada de origen y que tienen una longitud de al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o 2-20 residuos de aminoácidos.

7. El vector de la reivindicación 5, donde el enlazador de la secuencia que codifica para un enlazador enlaza dos secuencias del MHC clase II o una secuencia del MHC clase II a una secuencia del MHC clase I, opcionalmente donde el enlazador comprende la secuencia GP GPG.

8. El vector de la reivindicación 1, donde las múltiples secuencias comprenden al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o hasta 400 secuencias de ácidos nucleicos.

9. El vector de la reivindicación 1, donde cada secuencia de ácidos nucleicos que codifica el neoantígeno del MHC clase I codifica una secuencia de polipéptidos con una longitud de entre 8 y 35 aminoácidos, opcionalmente una longitud de 9-17, 9-25, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34 o

35 aminoácidos.

10. El vector de la reivindicación 1, donde la o las secuencias de ácidos nucleicos que codifican el antígeno del MHC clase II se encuentran presentes y comprenden al menos una secuencia de ácidos nucleicos que codifica el antígeno del MHC clase II universal, donde opcionalmente la o las secuencias universales comprenden al menos una secuencia de al menos un toxoide tetánico y/o PADRE.

11. El vector de la reivindicación 1, donde la o las secuencias promotoras son inducibles.

12. El vector de la reivindicación 1, donde el vector es un vector (ChAdV) 68 del adenovirus del chimpancé.

13. El vector de la reivindicación 1, donde el vector comprende uno o más genes o secuencias reguladoras obtenidas a partir de la secuencia que se indica en la SEQ ID NO: 1, donde opcionalmente el uno o más genes se selecciona del grupo que consiste en los genes de repetición terminal invertida (ITR), E1A, E1B, E2A, E2B, E3, E4, L1, L2, L3, L4 y L5 del adenovirus del chimpancé de la secuencia que se indica en la SEQ ID NO: 1, opcionalmente donde el uno o más genes comprende cada uno de los genes de repetición terminal invertida (ITR), E1A, E1B, E2A, E2B, E3, E4, L1, L2, L3, L4 y L5 del adenovirus del chimpancé de la secuencia que se establece en SEQ ID NO: 1.

14. El vector de la reivindicación 1, donde el casete de neoantígeno se inserta en el vector en una región eliminada del adenovirus del chimpancé que permita la incorporación del casete de neoantígeno, opcionalmente donde la región eliminada del adenovirus del chimpancé es una región E1 o una región E3.

15. El vector de la reivindicación 1, donde el vector comprende una o más eliminaciones entre el par de bases número 577 y 3.403 de la secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 1 o entre el par de bases 456 y 3.014 de la secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 1, y donde opcionalmente el vector comprende además una o más eliminaciones entre el par de bases 27.125 y 31.825 de la secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 1 o entre el par de bases 27.816 y 31.333 de la secuencia que se indica en la SEQ ID NO: 1.

16. El vector de la reivindicación 1, donde las dos o más secuencias de ácidos nucleicos que codifican el neoantígeno del MHC clase I se seleccionan mediante la realización de las siguientes etapas:

(1) obtener datos de secuenciación de nucleótidos tumorales del genoma completo, transcriptoma y/o exoma del tumor, donde los datos de secuenciación de nucleótidos tumorales se usan para obtener datos que representen secuencias peptídicas de cada uno de un conjunto de neoantígenos;

(2) ingresar la secuencia peptídica de cada neoantígeno en un modelo de presentación para generar un conjunto de probabilidades numéricas de que uno o más alelos del MHC presenten cada uno de los neoantígenos en la superficie celular tumoral del tumor, donde el conjunto de probabilidades numéricas se ha identificado al menos en función de datos de espectrometría de masas, opcionalmente donde el modelo de presentación representa dependencia entre: la presencia de un par de un alelo del MHC particular y un aminoácido particular en una posición particular de una secuencia de péptidos; y la probabilidad de presentación en la superficie de células tumorales, por el alelo de MHC particular del par, de tal secuencia de péptidos que comprende el aminoácido particular en la posición particular; y

(3) seleccionar un subconjunto del conjunto de neoantígenos en función del conjunto de probabilidades numéricas para generar un conjunto de neoantígenos seleccionados que se usan para generar las dos o más secuencias de ácidos nucleicos que codifican el neoantígeno del MHC clase I, opcionalmente donde el número del conjunto de neoantígenos seleccionados es 2-20; y

opcionalmente donde seleccionar el conjunto de neoantígenos seleccionados comprende seleccionar neoantígenos seleccionados del grupo que consiste en: (a) neoantígenos con mayor probabilidad de presentarse en la superficie de células tumorales respecto de neoantígenos no seleccionados en función del modelo de presentación, (b) neoantígenos con mayor probabilidad de poder inducir una respuesta inmunitaria específica de tumor en el sujeto respecto de neoantígenos no seleccionados en función del modelo de presentación, (c) neoantígenos con mayor probabilidad de poder presentarse a linfocitos T sin tratamiento por células que presentan antígenos (APC) profesionales respecto de neoantígenos no seleccionados en función del modelo de presentación, donde opcionalmente la APC es una célula dendrítica (DC), (d) neoantígenos con menor

probabilidad de someterse a inhibición mediante tolerancia central o periférica respecto de neoantígenos no seleccionados en función del modelo de presentación, y (e) neoantígenos con menor probabilidad de poder inducir una respuesta autoinmunitaria al tejido normal en el sujeto respecto de neoantígenos no seleccionados en función del modelo de presentación.

17. El vector de la reivindicación 1, donde el casete de neoantígeno comprende secuencias de epítomos de unión formadas mediante secuencias adyacentes en el casete de neoantígeno, donde la o cada secuencia de epítomo de unión tiene una afinidad mayor que 500 nM para MHC, opcionalmente donde cada secuencia de epítomo de unión es no propia.

18. Una composición farmacéutica que comprende el vector de la reivindicación 1 y un portador farmacéuticamente aceptable, opcionalmente donde la composición comprende un adyuvante.

19. Una secuencia de nucleótidos aislada que comprende el casete de neoantígeno de la reivindicación 1 y uno o más genes obtenidos a partir de la secuencia de la SEQ ID NO: 1, donde opcionalmente el gen se selecciona dentro del grupo que consiste en los genes de ITRs, E1A, E1B, E2A, E2B, E3, E4, L1, L2, L3, L4 y L5 del adenovirus del chimpancé de la secuencia que se indica en la SEQ ID NO: 1, donde opcionalmente el uno o más genes comprende cada uno de los ITRs, E1A, E1B, E2A, E2B, E3, E4, L1, L2, L3, L4 y L5 del adenovirus del chimpancé de la secuencia que se indica en la SEQ ID NO: 1, y donde opcionalmente la secuencia de nucleótidos es ADNc.

20. Un método de fabricación del vector de la reivindicación 1, donde el método comprende:

obtener una secuencia plasmídica que comprende la o las secuencias promotoras y el casete de neoantígeno;

transfectar la secuencia plasmídica en una o más células hospedadoras; y

aislar el vector de la o las células hospedadoras, opcionalmente donde aislar comprende: lisar la célula hospedadora para obtener un lisado celular que comprenda el vector; y purificar el vector del lisado celular y opcionalmente también

P-24978
Modificación voluntaria
Junio 28 de 2019

8

de medios usados para cultivar la célula hospedadora.