

REIVINDICACIONES MODIFICADAS

1. Una composición para la administración de un sistema de expresión de neoantígenos, que comprende:

el sistema de expresión de neoantígenos,

donde el sistema de expresión de neoantígenos comprende uno o más vectores,

el uno o más vectores comprenden:

(a) una estructura principal de alfavirus de ARN, donde la estructura principal de alfavirus de ARN comprende:

(i) al menos una secuencia promotora de nucleótidos, y

(ii) al menos una secuencia de poliadenilación (poli(A)); y

(b) un casete de neoantígeno, donde el casete de neoantígeno comprende:

(i) al menos una secuencia de ácido nucleico que codifica neoantígenos derivada de un tumor presente dentro de un sujeto, que comprende:

(I) al menos una secuencia de ácido nucleico que codifican neoantígenos del MHC clase I específica del tumor y específica del sujeto derivada del tumor y que 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, y

(B) opcionalmente una secuencia enlazadora 5', y

(C) opcionalmente una secuencia enlazadora 3';

(ii) opcionalmente, una segunda secuencia promotora de nucleótidos unida de forma operativa con la secuencia de ácido nucleico que codifica neoantígenos; y

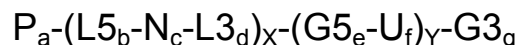
(iii) opcionalmente, al menos una secuencia de ácidos nucleicos que codifica el antígeno del MHC clase II;

(iv) opcionalmente, al menos una secuencia de ácido nucleico que codifica un enlazador aminoácido GPGPG (SEQ ID NO:56); y

(v) opcionalmente, al menos una segunda secuencia de poli(A), donde

la segunda secuencia de poli(A) es una secuencia de poli(A) natural o una secuencia de poli(A) exógena con respecto al alfavirus.

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



donde P comprende la segunda secuencia promotora de nucleótidos, donde a = 0 o 1.

N comprende una de las secuencias de ácidos nucleicos que codifica el epítipo del MHC clase I, 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 al menos una secuencia de ácido nucleico que codifica un enlazador aminoácido GPGPG, donde e = 0 o 1,

G3 comprende una de la al menos una secuencia de ácido nucleico que codifica un enlazador aminoácido 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,

X = de 1 a 400, donde para cada X la N_c correspondiente es una secuencia de ácidos nucleicos que codifica el epítipo, y

Y = 0, 1 o 2, donde para cada Y la U_f correspondiente es una secuencia de ácido nucleico que codifica un antígeno; opcionalmente

(i) donde para cada X la N_c correspondiente es una secuencia de ácidos nucleicos que codifica el epítipo del MHC clase I distinta; y/o.

(ii) donde para cada Y, la U_f correspondiente es una secuencia de ácidos nucleicos que

codifica el antígeno del MHC clase II.

3. La composición de la reivindicación 3, donde

$$a = 0, b = 1, d = 1, e = 1, g = 1, h = 1, X = 20, Y = 2,$$

la al menos una secuencia promotora de nucleótidos es una secuencia promotora de nucleótidos 26S individual proporcionada por la estructura principal de alfavirus de ARN,

la al menos una secuencia de poliadenilación poli(A) es una secuencia de poli(A) de al menos 100 nucleótidos A consecutivos proporcionada por la estructura principal de alfavirus de ARN,

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

L5 es una secuencia enlazadora 5' natural que codifica la secuencia de aminoácido del extremo N natural del epítipo del MHC I, y donde la secuencia enlazadora 5' codifica un péptido con una longitud de al menos 3 aminoácidos,

L3 es una secuencia enlazadora 3' natural que codifica una secuencia de aminoácido del C-terminal del epítipo del MHC I, y donde la secuencia enlazadora 3' codifica un péptido con una longitud de al menos 3 aminoácidos,

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

la estructura principal de alfavirus de ARN es la secuencia que se establece en la SEQ ID NO:6, y cada una de las secuencias de ácidos nucleicos que codifican el neoantígeno del MHC clase I codifica un polipéptido con una longitud de entre 13 y 25 aminoácidos.

4. La composición de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la

composición comprende, además, un vehículo de administración de nanopartículas; opcionalmente.

(i) donde el vehículo de administración de nanopartículas es una nanopartícula lipídica (LNP), opcionalmente donde la LNP comprende aminolípidos ionizables, que opcionalmente comprenden moléculas similares a MC3 (dilinoleimetil-4-dimetilaminobutirato); y/o donde el vehículo de administración de nanopartículas encapsula el sistema de expresión de neoantígenos.

5. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 1, 2 o 4, donde

(i) el casete de neoantígeno se integra entre la al menos una secuencia promotora de nucleótidos y la al menos una secuencia de poli(A); y/o

donde la al menos una secuencia promotora de nucleótidos se une de forma operativa con la secuencia de ácido nucleico que codifica neoantígenos; y/o

(ii) el uno o más vectores comprende uno o más vectores de ARN de cadena +, opcionalmente el uno o más vectores de ARN de cadena + comprende un casquete 5' 7-metilguanosina (m7g); y/o el uno o más vectores de ARN de cadena + se produce mediante transcripción *in vitro*; y/o

(iii) el uno o más vectores son autorreplicantes dentro de una célula de mamífero, y/o

(iv) la estructura principal de alfavirus de ARN comprende al menos una secuencia de nucleótidos de un virus Aura, un virus Fort Morgan, un virus de encefalitis equina venezolana, un virus del río Ross, un virus del bosque Semliki, un virus Sindbis o un virus Mayaro, o un virus de encefalitis equina venezolana, opcionalmente

(a) donde la estructura principal de alfavirus de ARN comprende al menos secuencias para la amplificación mediada por proteínas no estructurales, una secuencia promotora 26S, una secuencia de poli(A), un gen de la proteína no estructural 1 (nsP1), un gen de nsP2, un gen de nsP3 y un gen de nsP4, codificados por la secuencia de nucleótidos del virus Aura, el virus Fort Morgan, el virus de la encefalitis equina venezolana, el virus del río Ross, el virus del bosque Semliki, el virus Sindbis o el virus Mayaro, o

donde la estructura principal de alfavirus de ARN comprende al menos secuencias para la amplificación mediada por proteínas no estructurales, una secuencia promotora 26S y una secuencia de poli(A) codificadas por la secuencia de nucleótidos del virus Aura, el virus Fort Morgan, el virus de la encefalitis equina venezolana, el virus del río Ross, el virus del bosque Semliki, el virus Sindbis o el virus Mayaro,

opcionalmente donde las secuencias para la amplificación mediada por proteínas no estructurales se seleccionan del grupo que consiste en: una UTR 5' de alfavirus, un CSE 51-nt, un CSE 24-nt, una secuencia promotora subgenómica 26S, un CSE 19-nt y una UTR 3' de alfavirus, o combinaciones de estos; y/o

donde la estructura principal de alfavirus de ARN no codifica cápside de proteínas estructurales de virión, E2 y E1, opcionalmente donde el casete de antígenos se inserta en lugar de las proteínas estructurales de virión dentro de la secuencia de nucleótidos del virus Aura, el virus Fort Morgan, el virus de la encefalitis equina venezolana, el virus del río Ross, el virus del bosque Semliki, el virus Sindbis o el virus Mayaro, opcionalmente en donde la inserción del casete de neoantígeno proporciona la transcripción de un ARN policistrónico que comprende los genes nsP1-4 y la al menos una secuencia de ácido nucleico que codifica el antígeno, en donde los genes nsP1-4 y la al menos una secuencia de ácido nucleico que codifica el antígeno están en marcos de lectura abiertos separados; o

(b) donde el virus de encefalitis equina venezolana comprende la secuencia que de la SEQ ID NO:3 o la SEQ ID NO:5; o

donde el virus de encefalitis equina venezolana comprende la secuencia de las SEQ ID NO:3 o SEQ ID NO:5 que comprenden además una delección entre los pares de bases 7544 y 11175, opcionalmente donde la estructura principal de alfavirus de ARN

comprende la secuencia establecida en la SEQ ID NO:6 o la SEQ ID NO:7, y/o donde el casete de neoantígeno se inserta en la posición 7544 para reemplazar la delección entre los pares de base 7544 y 11175 como se establece en la secuencia de la SEQ ID NO:3 o la SEQ ID NO:5;

opcionalmente donde la inserción del casete de neoantígeno proporciona la transcripción de un ARN policistrónico que comprende los genes nsP1-4 y la al menos una secuencia de ácido nucleico que codifica el antígeno, donde los genes nsP1-4 y la al menos una secuencia de ácido nucleico que codifica el antígeno están en marcos abierto de lectura separados; y/o

(v) la al menos una secuencia promotora de nucleótidos es la secuencia promotora de nucleótidos 26S natural codificada por la estructura principal de alfavirus de ARN, o donde la al menos una secuencia promotora de nucleótidos es un promotor de ARN exógeno; y/o

(vi) la segunda secuencia promotora de nucleótidos es una secuencia promotora de nucleótidos 26S, o la segunda secuencia promotora de nucleótidos comprende múltiples secuencias promotoras de nucleótidos 26S, donde cada secuencia promotora de nucleótidos 26S proporciona la transcripción de uno o más marcos abiertos de lectura separados.

- 6.** La composición de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde:
- cada uno del uno o más vectores tienen un tamaño de al menos 300 nt; y/o
 - cada uno del uno o más vectores tienen un tamaño de al menos 1 kb; y/o
 - cada uno del uno o más vectores tienen un tamaño de 2 kb; y/o
 - cada uno del uno o más vectores tienen un tamaño menor que 5 kb; y/o
 - al menos una de la al menos una secuencia de ácidos nucleicos que codifican el neoantígeno codifica una secuencia de polipéptidos o parte de esta que se presenta por el MHC clase I en la célula tumoral.

7. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 1, 2 o 4-6, donde las secuencias de ácidos nucleicos que codifican el antígeno se enlazan cada una directamente entre sí, y/o

donde al menos una de la al menos una secuencia de ácidos nucleicos que codifican el antígeno se enlaza a una secuencia de ácidos nucleicos que codifica el antígeno distinto con una secuencia de ácido nucleico que codifica un enlazador, opcionalmente donde

el enlazador enlaza dos secuencias del MHC clase I o una secuencia del MHC clase I a una secuencia del MHC clase II y opcionalmente donde dicho enlazador se selecciona dentro 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 residuos; (3) dos residuos de arginina (RR); (4) alanina, alanina, tirosina (AAY); (5) una secuencia de consenso con una longitud de al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 residuos de aminoácidos que es procesada de manera eficiente por un proteasoma de un mamífero; y (6) una o más secuencias naturales que flanquean el antígeno que derivan 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 aminoácido, o

el 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;

y/o

al menos una secuencia de la al menos una secuencia de ácido nucleico que codifica el antígeno se enlaza, de manera operativa o directa, a una secuencia separada o contigua que mejora la expresión, la estabilidad, el tráfico, el procesamiento y la presentación de células y/o

la inmunogenicidad de la al menos una secuencia de ácido nucleico que codifica el antígeno, opcionalmente donde la secuencia separada o contigua comprende al menos una de: una secuencia de ubiquitina, una secuencia de ubiquitina modificada para aumentar el direccionamiento hacia el proteasoma (p. ej., la secuencia de ubiquitina contiene una sustitución de Gly por Ala en la posición 76), una secuencia señal de inmunoglobulina (p. ej., IgK), una secuencia principal de histocompatibilidad clase I, una proteína de la membrana asociada a los lisosomas (LAMP)-1, una proteína de la membrana asociada a los lisosomas de las células dendríticas humanas, y una secuencia principal de histocompatibilidad clase II; donde opcionalmente la secuencia de ubiquitina modificada para aumentar el direccionamiento hacia el proteasoma es A76.

8. La composición de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde:

al menos una de la al menos una secuencia de ácidos nucleicos que codifica el neoantígeno codifica una secuencia de polipéptidos o parte de esta que tiene una mayor afinidad de unión con respecto a su alelo del MHC correspondiente con respecto a la secuencia de ácidos nucleicos de tipo salvaje correspondiente traducida; y/o

al menos una de la al menos una secuencia de ácidos nucleicos que codifica el neoantígeno codifica una secuencia de polipéptidos o parte de esta que tiene una mayor estabilidad de unión con respecto a su alelo del MHC correspondiente con respecto a la secuencia de ácidos nucleicos de tipo salvaje correspondiente traducida; y/o

al menos una de la al menos una secuencia de ácidos nucleicos que codifica el neoantígeno codifica una secuencia de polipéptidos o parte de esta que tiene una mayor probabilidad de presentación en su alelo del MHC correspondiente con respecto a la secuencia de ácidos nucleicos de tipo salvaje correspondiente traducida;

la al menos unas alteraciones comprenden una mutación puntual, una mutación de desplazamiento de marco, una mutación sin desplazamiento de marco, una mutación de eliminación, una mutación de inserción, una variante de corte y empalme, una reorganización genómica o un antígeno sometido a corte y

empalme generado por el proteasoma; y/o

el tumor se selecciona dentro del grupo que consiste en: cáncer pulmonar, melanoma, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de próstata, cáncer renal, cáncer gástrico, cáncer de colon, cáncer testicular, cáncer de cabeza y cuello, cáncer pancreático, cáncer de vejiga, cáncer cerebral, linfoma de linfocitos B, leucemia mielógena aguda, leucemia linfoblástica aguda del adulto, leucemia mielógena crónica, leucemia linfocítica crónica y leucemia linfocítica de linfocitos T, cáncer pulmonar no microcítico y cáncer pulmonar microcítico

9. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 1, 2 o 4-8, donde:

la al menos una secuencia de ácido nucleico que codifica el neoantígeno comprende al menos 2-10, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 secuencias de ácidos nucleicos; o

la al menos una secuencia de ácido nucleico que codifica el neoantígeno comprende al menos 11-20, 15-20, 11-100, 11-200, 11-300, 11-400, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o hasta 400 secuencias de ácidos nucleicos; o

la al menos una secuencia de ácido nucleico que codifica el neoantígeno comprende al menos 2-400 secuencia de ácido nucleico y donde al menos dos de las secuencias de ácido nucleico que codifican el neoantígeno codifican secuencias de polipéptidos o partes de estas que se presentan por MHC clase I en la superficie de la célula tumoral.

10. La composición de la reivindicación 3, donde al menos dos de las secuencias de ácidos nucleicos que codifican el neoantígeno codifican secuencias de polipéptidos o partes de estas son presentadas por el MHC clase I sobre la superficie de la célula tumoral.

11. La composición de cualquiera de las reivindicaciones anteriores donde:

cuando se administra al sujeto y se traduce, al menos uno de los neoantígenos codificados por la al menos una secuencia de ácido nucleico que codifica el neoantígeno se presenta en células presentadoras de antígenos, lo cual produce una respuesta inmunitaria que se dirige a al menos uno de los neoantígenos sobre la superficie de la célula tumoral; y/o

la al menos una secuencia de ácidos nucleicos que codifica el neoantígeno, cuando se administra al sujeto y se traduce, al menos uno de los neoantígenos del MHC clase I o clase II se presenta en células presentadoras de antígenos que producen una respuesta inmunitaria dirigida a al menos uno de los neoantígenos sobre la superficie de la célula tumoral, y donde opcionalmente la expresión de cada una de la al menos una secuencia de ácidos nucleicos que codifica el neoantígeno es impulsada por el o los promotores.

12. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 1, 2 o 4-11, 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; y/o

la o las secuencias de ácidos nucleicos que codifican el antígeno del MHC clase II se encuentran presentes, o 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 neoantígeno del MHC clase II que comprende al menos una alteración que distingue a la secuencia peptídica codificada de la secuencia peptídica correspondiente codificada por una secuencia de ácidos nucleicos de tipo salvaje; y/o

la o las secuencias de ácidos nucleicos que codifican el antígeno del MHC clase II tienen una longitud de 12-20, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o 20-40; y/o

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 toxoide tetánico y/o PADRE; y/o

la al menos una secuencia promotora de nucleótidos o la segunda secuencia promotora de nucleótidos son inducibles, o son no inducibles; y/o

la al menos una secuencia de poli(A) comprende una secuencia de poli(A) natural para el alfavirus,

la al menos una secuencia de poli(A) comprende una secuencia de poli(A) exógena para el alfavirus; y/o

la al menos una secuencia de poli(A) se une de forma operativa a al menos una de

la al menos una secuencia de ácido nucleico que codifica el antígeno; y/o

la al menos una secuencia de poli(A) tiene al menos 20, al menos 30, al menos 40, al menos 50, al menos 60, al menos 70, al menos 80 o al menos 90 nucleótidos A consecutivos, o donde la al menos una secuencia de poli(A) tiene al menos 100 nucleótidos A consecutivos.

13. La composición de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde:

el casete de neoantígeno comprende además al menos uno de: una secuencia de intrón, una secuencia del elemento regulador postraducción del virus de hepatitis de la marmota (WPRE), una secuencia de entrada interna al ribosoma (IRES), una secuencia de nucleótidos que codifica una secuencia de péptidos autoescindible 2A, una secuencia de nucleótidos que codifica un sitio de escisión de furina o una secuencia en la región no codificante 5' o 3' conocida por mejorar la eficiencia de traducción, estabilidad o exportación nuclear del ARNm que se enlaza de manera operativa a al menos una de la al menos una secuencia de ácido nucleico que codifica un antígeno; y/o

el casete de neoantígeno comprende además un gen indicador, lo cual incluye, de modo no taxativo, una proteína fluorescente verde (GFP), una variante de GFP, fosfatasa alcalina secretada, luciferasa o una variante de la luciferasa, o un péptido o epítipo detectable, opcionalmente . donde el péptido o epítipo detectable se selecciona del grupo que consiste en una etiqueta HA, una etiqueta Flag, una etiqueta His o una etiqueta V5; y/o

el uno o más vectores comprenden además una o más secuencias de ácidos nucleicos que codifican al menos un modulador inmunitario, opcionalmente donde:

el modulador inmunitario es un anticuerpo anti-CTLA4 o un fragmento de unión al antígeno de este, un anticuerpo anti-PD-1 o un fragmento de unión al antígeno de este, un anticuerpo anti-PD-L1 o un fragmento de unión al antígeno de este, un anticuerpo anti-4-1BB o un fragmento de unión al antígeno de este, o un anticuerpo anti-OX-40 o un fragmento de unión al antígeno de este; opcionalmente donde

el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este es un fragmento Fab, un fragmento Fab', un Fv monocatenario (scFv), un anticuerpo de dominio simple (sdAb) como uno solo específico o múltiples especificidades enlazadas entre sí (p. ej., dominios de anticuerpo de camélido) o un anticuerpo monocatenario de longitud completa (p. ej., IgG de longitud completa con las cadenas pesada y ligera enlazadas mediante un enlazador flexible); y/o

las secuencias de cadena pesada y ligera del anticuerpo son una secuencia contigua separada por una secuencia de autoescisión tal como 2A o IRES; o las secuencias de cadena pesada y ligera del anticuerpo están enlazadas mediante un enlazador flexible tal como residuos de glicina consecutivos; o

el modulador inmunitario es una citocina, opcionalmentedonde la citocina al menos una de IL-2, IL-7, IL-12, IL-15 o IL-21 o variantes de cada una de estas.

14. La composición de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde:

(i) la composición de acuerdo con cualquiera de una las de las reivindicaciones 1, 2, o 4-13 y donde la al menos una secuencia de ácido nucleico que codifica un neoantígeno del MHC clase I se selecciona mediante la realización de las siguientes etapas:

- (a) 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 neoantígeno, opcionalmente en donde un número del conjunto de neoantígenos seleccionados es 2-20;
- (b) 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; y

- (c) seleccionar un subconjunto del conjunto de neoantígenos en función del conjunto de probabilidades numéricas para generar un conjunto de neoantígenos seleccionados que se usen para generar la al menos una secuencia de ácidos nucleicos que codifica el neoantígeno del MHC clase I;
- o

(ii) la composición de la reivindicación 3, y

donde cada una de las secuencias de ácidos nucleicos que codifican el epítipo del MHC clase I se seleccionan mediante la realización de las siguientes etapas:

- (a) 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;
- (b) 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; y
- (c) seleccionar un subconjunto del conjunto de neoantígenos en función del conjunto de probabilidades numéricas para generar un conjunto de neoantígenos seleccionados que se usen para generar las al menos 20 secuencias de ácidos nucleicos que codifican el neoantígeno del MHC clase I.

15. La composición de la reivindicación 14, donde:

(i) el modelo de presentación representa dependencia entre:

- (a) la presencia de un par de alelos de MHC de un tipo particular y un aminoácido particular en una posición particular de una secuencia peptídica; y
- (b) la probabilidad de la presentación sobre la superficie de la célula tumoral, por parte del alelo del MHC particular del par, de esa secuencia peptídica que comprende el aminoácido particular en la posición particular.

(ii) la selección del conjunto de neoantígenos seleccionados comprende seleccionar neoantígenos con una mayor probabilidad de presentarse sobre la superficie de la célula tumoral con respecto a neoantígenos no seleccionados en función del modelo de presentación; y/o.

(iii) la selección del conjunto de neoantígenos seleccionados comprende seleccionar neoantígenos con mayor probabilidad de poder inducir una respuesta inmunitaria específica para el tumor en el sujeto con respecto a neoantígenos no seleccionados en función del modelo de presentación; y/o

(iv) la selección del conjunto de neoantígenos seleccionados comprende seleccionar neoantígenos con una mayor probabilidad de poder ser presentados a linfocitos T no activados por parte de células presentadoras de antígenos (APC) con respecto a neoantígenos no seleccionados en función del modelo de presentación, donde opcionalmente la APC es una célula dendrítica (DC); y/o

(v) donde la selección del conjunto de neoantígenos seleccionados comprende seleccionar neoantígenos con una menor probabilidad de someterse a inhibición a través de una tolerancia central o periférica con respecto a neoantígenos no seleccionados en función del modelo de presentación; y/o

(vi) la selección del conjunto de neoantígenos seleccionados comprende seleccionar neoantígenos con menor probabilidad de poder inducir una respuesta autoinmunitaria al tejido normal en el sujeto con respecto a neoantígenos no seleccionados en función del modelo de presentación; y/o

(vii) se obtienen datos de secuenciación de nucleótidos del exoma o transcriptoma mediante la realización de una secuenciación en el tejido tumoral, opcionalmente donde la secuenciación es secuenciación de nueva generación (NGS) o cualquier estrategia de secuenciación masiva en paralelo.

16. La composición de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde:

el casete de neoantígeno comprende secuencias de epítomos de unión formadas mediante secuencias adyacentes en el casete de neoantígeno, opcionalmente donde al menos una o cada secuencia de epítomos de unión tiene una afinidad de más de 500 nM con respecto al MHC; y/o donde cada secuencia de epítomos de unión no es propia; y/o

el casete de neoantígeno no codifica una secuencia de ácidos nucleicos del epítomo del MHC clase I o clase II no terapéutico que comprenda una secuencia de ácidos nucleicos de tipo salvaje traducida, donde se prevé que el epítomo no terapéutico se presente en un alelo del MHC del sujeto, opcionalmente donde la secuencia del epítomo del MHC clase I o clase II previsto no terapéutico es una secuencia de epítomos de unión formada por secuencias adyacentes en el casete de neoantígeno; y/o

la predicción en función de probabilidades de presentación generadas mediante el ingreso de secuencias de los epítomos no terapéuticos en un modelo de presentación; y/o

se determina un orden de la al menos una secuencia de ácidos nucleicos que codifica el antígeno en el casete de neoantígeno mediante una serie de etapas que comprenden:

- (a) generar un conjunto de secuencias del casete de neoantígeno candidatas correspondientes a diferentes órdenes de las múltiples secuencias de ácidos nucleicos que codifican el antígeno;
- (b) determinar, para cada casete de neoantígeno candidata, un puntaje de presentación en función de la presentación de los epítomos no terapéuticos en la secuencia del casete de neoantígeno candidata; y
- (c) seleccionar una secuencia de casete candidata asociada a un puntaje de presentación por debajo de un umbral predeterminado como la secuencia del casete de neoantígeno para una vacuna de neoantígeno.

17. Una composición farmacéutica que comprende la composición de cualquiera de las reivindicaciones anteriores y un portador farmacéuticamente aceptable, opcionalmente:

donde la composición comprende además un adyuvante; y/o

donde la composición comprende además un modulador inmunitario, opcionalmente donde el modulador inmunitario es un anticuerpo anti-CTLA4 o un fragmento de unión al antígeno de este, un anticuerpo anti-PD-1 o un fragmento de unión al antígeno de este, un anticuerpo anti-PD-L1 o un fragmento de unión al antígeno de este, un anticuerpo anti-4-1BB o un fragmento de unión al antígeno de este, o un anticuerpo anti-OX-40 o un fragmento de unión al antígeno de este

18. Una secuencia de nucleótidos aislada o un conjunto de secuencias de nucleótidos aisladas que comprende el casete de neoantígeno de cualquiera de las reivindicaciones de composición anteriores y uno o más elementos obtenidos a partir de la secuencia de la SEQ ID NO: 3 o SEQ ID NO:5, donde opcionalmente el uno o más elementos se seleccionan dentro del grupo que consiste en las secuencias necesarias para la amplificación mediada por proteínas no estructurales, la secuencia promotora de nucleótidos 26S, la secuencia de poli(A) y los genes nsP1-4 de la secuencia que se indica en la SEQ ID NO:3 o SE ID NO:5, y donde opcionalmente la secuencia de nucleótidos es ADNc, opcionalmente donde;

(i) la secuencia o conjunto de secuencias de nucleótidos aisladas comprende el casete de neoantígeno de cualquiera de las reivindicaciones de composición anteriores insertado en la posición 7544 de las secuencias establecidas en las SEQ ID NO:6 o SEQ ID NO:7; y/o que comprende, además:

una secuencia promotora de nucleótidos de polimerasa de ARN T7 o SP6 5' del uno o más elementos obtenidos de la secuencia de la SEQ ID NO:3 o la SEQ ID NO:5; y

opcionalmente, uno o más sitios de restricción 3' de la secuencia de poli(A),

o

(ii) donde el casete de neoantígeno de cualquiera de las reivindicaciones de composición anteriores se inserta en la posición 7563 de la SEQ ID NO:8 o SEQ ID NO:9.

19. Un vector o conjunto de vectores que comprende la secuencia de nucleótidos de la reivindicación 22.

20. Una célula aislada que comprende la secuencia de nucleótidos o conjunto de secuencias de nucleótidos aisladas de la reivindicación 22, donde opcionalmente la célula es una célula BHK-21, CHO, HEK293 o variantes de esta, 911, HeLa, A549, LP-293, PER.C6 o AE1-2a.

21. Un kit que comprende la composición de cualquiera de las reivindicaciones de composición anteriores e instrucciones de uso.

22. Un método para tratar un sujeto con cáncer, donde el método comprende administrar al sujeto la composición de cualquiera de las reivindicaciones de composición anteriores o la composición farmacéutica de la reivindicación 17, opcionalmente

donde la al menos una secuencia de ácido nucleico que codifica un neoantígeno del MHC clase I derivada de un tumor se deriva del tumor del sujeto con cáncer, o

la al menos una secuencia de ácido nucleico que codifica un neoantígeno del MHC clase I no se deriva del tumor del sujeto con cáncer, y opcionalmente donde:

(i) la composición se administra por vía intramuscular (IM), intradérmica (ID), subcutánea (SC) o intravenosa (IV); y / o

(ii) el método comprende además la administración de uno o más inmunomoduladores, opcionalmente en el que el inmunomodulador se administra antes, simultáneamente o después de la administración de la composición o composición farmacéutica, opcionalmente en donde:

uno o más moduladores inmunes se seleccionan del grupo que consiste en: un anticuerpo anti-CTLA4 o un fragmento de unión a antígeno del mismo, un anticuerpo anti-PD-1 o un fragmento de unión a antígeno del mismo, un anticuerpo anti-PD-L1 o un fragmento de unión a antígeno del mismo, un anticuerpo anti-4-1BB o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o un anticuerpo anti-OX-40 o un fragmento de unión a antígeno del

mismo; y/o

el inmunomodulador se administra por vía intravenosa (IV), intramuscular (IM), intradérmica (ID) o subcutánea (SC), opcionalmente en donde la administración subcutánea está cerca del sitio de la composición o administración de la composición farmacéutica o muy cerca de uno o más vector o composición que drena los ganglios linfáticos; y / o

(iii) que comprende además administrar al sujeto una segunda composición de vacuna, opcionalmente en la que:

la segunda composición de vacuna se administra antes de la administración de la composición o la composición farmacéutica administrada en (i); o en el que la segunda composición de vacuna se administra después de la administración de la composición o la composición farmacéutica administrada en (i);

opcionalmente en el que la segunda composición de vacuna es la misma que la composición o la composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 26-28 (iii),

o en donde la segunda composición de vacuna es diferente de la composición o la composición farmacéutica administrada en (i), opcionalmente en donde la segunda composición de vacuna comprende un vector de adenovirus de chimpancé que codifica al menos una secuencia de ácido nucleico que codifica antígeno, en donde opcionalmente el al menos un antígeno - la secuencia de ácido nucleico que codifica el vector de adenovirus de chimpancé es la misma que la al menos una secuencia de ácido nucleico que codifica el antígeno de cualquiera de las reivindicaciones de composición anteriores.

23. Un método para inducir una respuesta inmunitaria en un sujeto, donde el método comprende administrarle al sujeto la composición de cualquiera de las reivindicaciones de composición anteriores o la composición farmacéutica de de la reivindicación 17, opcionalmente

en donde la al menos una secuencia de ácido nucleico que codifica un neoantígeno MHC de clase I derivada de un tumor se deriva de un tumor del sujeto; o

la al menos una secuencia de ácido nucleico que codifica un neoantígeno MHC de clase I no se deriva de un tumor del sujeto, y opcionalmente en donde:

(i) la composición se administra por vía intramuscular (IM), intradérmica (ID), subcutánea (SC) o intravenosa (IV); y/o

(ii) el método comprende, además, la administración de uno o más moduladores inmunitarios, opcionalmente donde el modulador inmunitario se administra antes, de manera simultánea o después de la administración de la composición o composición farmacéutica, opcionalmente en donde:

el uno o más moduladores inmunitarios se seleccionan del grupo que consiste en: un anticuerpo anti-CTLA4 o un fragmento de unión al antígeno de este, un anticuerpo anti-PD-1 o un fragmento de unión al antígeno de este, un anticuerpo anti-PD-L1 o un fragmento de unión al antígeno de este, un anticuerpo anti-4-1BB o un fragmento de unión al antígeno de este, o un anticuerpo anti-OX-40 o un fragmento de unión al antígeno de este; y/o

el modulador inmunitario se administra por vía intravenosa (IV), intramuscular (IM), intradérmica (ID) o subcutánea (SC), opcionalmente donde la administración subcutánea se encuentra cerca del sitio de administración de la composición farmacéutica o en proximidad estrecha con respecto a uno o más ganglios linfáticos de drenaje del vector o de la composición; y/o

(iii) que comprende además administrar al sujeto una segunda composición de vacuna, opcionalmente donde:

la segunda composición de vacuna se administra antes de la administración de la composición o la composición farmacéutica administrada en (i); o donde la segunda composición de vacuna se administra después de la administración de la composición o la composición farmacéutica administrada en (i);

opcionalmente donde la segunda composición de vacuna es igual que la composición o la composición farmacéutica administrada en (i), o

donde la segunda composición de vacuna es diferente de la composición o la composición farmacéutica administrada en (i), opcionalmente donde la segunda composición de vacuna comprende un vector de adenovirus de chimpancé que

codifica al menos una secuencia de ácidos nucleicos que codifica el neoantígeno, donde opcionalmente la al menos una secuencia de ácidos nucleicos que codifica el neoantígeno codificada por el vector de adenovirus de chimpancé es igual que la al menos una secuencia de ácidos nucleicos que codifica el neoantígeno de cualquiera de las reivindicaciones de composición anteriores.

24. Un método de fabricación del uno o más vectores de cualquiera de las reivindicaciones de composición anteriores, donde el método comprende:

(a) obtener una secuencia de ADN linealizada que comprende la estructura principal de alfavirus de ARN y el casete de neoantígeno;

(b) transcripción *in vitro* de la secuencia de ADN linealizada mediante la adición de la secuencia de ADN linealizada en una reacción de transcripción *in vitro* que contiene todos los componentes necesarios para transcribir la secuencia de ADN linealizada en ARN, opcionalmente, que comprende, además, la adición *in vitro* del casquete m7g al ARN resultante; y

(c) aislar el uno o más vectores a partir de la reacción de transcripción *in vitro*, opcionalmente en donde:

la secuencia de ADN linealizada se genera mediante la linealización de una secuencia de plásmido de ADN o mediante amplificación mediante el uso de PCR, donde la secuencia plasmídica de ADN se genera opcionalmente mediante el uso de recombinación bacteriana o síntesis de ADN de genoma completo o síntesis de ADN de genoma completo con amplificación del ADN sintetizado en células bacterianas;

opcionalmente el aislamiento del uno o más vectores a partir de la reacción de transcripción *in vitro* implica uno o más de extracción de fenol cloroformo, purificación basada en columna de sílice o métodos de purificación de ARN similares.

25. Un método para elaborar una composición de cualquiera de las reivindicaciones de composición anteriores para la administración del sistema de expresión de neoantígenos, donde el método comprende:

- (a) proporcionar componentes para el vehículo de administración de nanopartículas;
- (b) proporcionar el sistema de expresión de neoantígenos; y
- (c) proporcionar condiciones suficientes para que el vehículo de administración de nanopartículas y el sistema de expresión de neoantígenos produzcan la composición para administración del sistema de expresión de neoantígenos, opcionalmente, donde las condiciones se proporcionan mediante mezcla microfluídica.