

CAPÍTULO REIVINDICATORIO

-Solicitud Divisional B-

1. Un mutante de una proteína F de RSV de tipo silvestre, cuyo mutante comprende un polipéptido F1 y un polipéptido F2, en donde el mutante comprende al menos una mutación de aminoácidos introducida relativa a la secuencia de aminoácidos de la proteína F de RSV de tipo silvestre, en donde la mutación de aminoácidos introducida es un par de mutaciones de cisteína que se selecciona del grupo que consiste en: (1) 103C y 148C; y (2) 142C y 371C, y en donde las posiciones de los aminoácidos están numeradas de acuerdo a la SEQ ID NO: 1.

2. El mutante de acuerdo con la Reivindicación 1, en donde el mutante comprende además al menos una mutación de carga de cavidad, y al menos una mutación electrostática, en donde la mutación de carga de cavidad se selecciona del grupo que consiste en:

- (1) sustitución del aminoácido en la posición 62, 155, 190 o 290 con I, Y, L, H o M;
- (2) sustitución del aminoácido en la posición 54, 58, 189, 219 o 397 con I, Y, L, H o M;
- (3) sustitución del aminoácido en la posición 151 con A o H;
- (4) sustitución del aminoácido en la posición 147 o 298 con I, L, H o M; y
- (5) sustitución del aminoácido en la posición 164, 187, 192, 207, 220, 296, 300 o 495 con I, Y, H;

y en donde la mutación electrostática se selecciona del grupo que consiste en:

- (1) sustitución del aminoácido en la posición 82, 92 o 487 por D, F, Q, T, S, L o H;
- (2) sustitución del aminoácido en la posición 315, 394 o 399 por F, M, R, S, L, I, Q o T;
- (3) sustitución del aminoácido en la posición 392, 486 o 489 por H, S, N, T o P;
- y
- (4) sustitución del aminoácido en la posición 106 o 339 por F, Q, N o W.

3. El mutante de acuerdo con la Reivindicación 1, en donde el extremo C-terminal del polipéptido F1 está enlazado a un dominio de trimerización.

4. El mutante de acuerdo con la Reivindicación 1, en donde el polipéptido F2 comprende los aminoácidos de las posiciones 26 a 109 de la proteína F de RSV y el

polipéptido F1 comprende los aminoácidos de las posiciones 137 a 513 de la proteína F de RSV.

5. El mutante de acuerdo con la Reivindicación 1, en donde el RSV de tipo silvestre es del subtipo A, subtipo B, cepa A2, cepa de Ontario, o cepa de Buenos Aires.

6. El mutante de acuerdo con la Reivindicación 2, en donde el par de mutaciones es 103C y 148C.

7. El mutante de acuerdo con la Reivindicación 2, en donde la mutación de carga de cavidad se selecciona del grupo que consiste en:

- (1) sustitución del aminoácido en la posición 190 con I, Y o M;
- (2) sustitución del aminoácido en la posición 54 con I o H; y
- (3) sustitución del aminoácido en la posición 296 con I.

8. El mutante de acuerdo con la Reivindicación 2, en donde la mutación electrostática se selecciona del grupo que consiste en:

- (1) sustitución del aminoácido en la posición 487 con D, Q o H;
- (2) sustitución del aminoácido en la posición 489 con H, S o N; y
- (3) sustitución del aminoácido en la posición 486 con H, S o T.

9. El mutante de acuerdo con la Reivindicación 2, en donde:

- (i) el par de mutaciones con cisteína es 103C y 148C;
- (ii) la mutación de carga de cavidad se selecciona del grupo que consiste en:
 - (1) sustitución del aminoácido en la posición 190 con I, Y o M;
 - (2) sustitución del aminoácido en la posición 54 con I o H; y
 - (3) sustitución del aminoácido en la posición 296 con I; y
- (iii) la mutación electrostática se selecciona del grupo que consiste en:
 - (1) sustitución del aminoácido en la posición 487 con D, Q o H;
 - (2) sustitución del aminoácido en la posición 486 con H, S o T; y
 - (3) sustitución del aminoácido en la posición 489 por H, S o N.

10. El mutante de acuerdo con la Reivindicación 9, en donde el mutante comprende una combinación de mutaciones de aminoácidos introducidas seleccionadas del grupo que consiste en:

- (1) combinación de 103C, 148C, 190I y 486S; y
- (2) combinación de 54H, 103C, 148C, 190I, 296I y 486S.

11. El mutante de acuerdo con la Reivindicación 4, en donde el mutante comprende una cisteína (C) en la posición 103 (103C) y en la posición 148 (148C), una isoleucina (I) en la posición 190 (190I), y una serina (S) en la posición 486 (486S), y en donde el mutante comprende un polipéptido F1 y un polipéptido F2 seleccionado del grupo que consiste en:

(1) un polipéptido F2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 41 y un polipéptido F1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42;

(2) un polipéptido F2 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 97% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 41 y un polipéptido F1 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 97% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42;

(3) un polipéptido F2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 43 y un polipéptido F1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 44;

(4) un polipéptido F2 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 97% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 43 y un polipéptido F1 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 97% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 44;

(5) un polipéptido F2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45 y un polipéptido F1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 46;

(6) un polipéptido F2 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 97% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45 y un polipéptido F1 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 97% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 46;

(7) un polipéptido F2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 47 y un polipéptido F1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 48;

(8) un polipéptido F2 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 97% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 47 y un polipéptido F1 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 97% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 48;

(9) un polipéptido F2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 49 y un polipéptido F1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 50;

(10) un polipéptido F2 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 97% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 49 y un polipéptido F1 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 97% idéntica a la secuencia

de aminoácidos de SEQ ID NO: 50;

(11) un polipéptido F2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 279 y un polipéptido F1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 280;

(12) un polipéptido F2 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 97% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 279 y un polipéptido F1 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 97% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 280;

(13) un polipéptido F2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 281 y un polipéptido F1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 282;

(14) un polipéptido F2 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 97% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 281 y un polipéptido F1 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 97% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 282;

(15) un polipéptido F2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 283 y un polipéptido F1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 284;

(16) un polipéptido F2 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 97% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 283 y un polipéptido F1 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 97% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 284;

(17) un polipéptido F2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 285 y un polipéptido F1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 286;

(18) un polipéptido F2 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 97% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 285 y un polipéptido F1 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 97% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 286;

(19) un polipéptido F2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 287 y un polipéptido F1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 288;

(20) un polipéptido F2 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 97% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 287 y un polipéptido F1 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 97% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 288;

(21) un polipéptido F2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 289 y un polipéptido F1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:

290; y

(22) un polipéptido F2 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 97% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 289 y un polipéptido F1 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 97% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 290.

12. El mutante de acuerdo con la Reivindicación 4, en donde el mutante comprende una histidina (H) en la posición 54, una cisteína (C) en las posiciones 103 y 148, una isoleucina (I) en las posiciones 190, y 296, y una serina (S) en la posición 486, y en donde el mutante comprende un polipéptido F1 y un polipéptido F2 seleccionados del grupo que consiste en:

(1) un polipéptido F2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51 y un polipéptido F1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 52;

(2) un polipéptido F2 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 97% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51 y un polipéptido F1 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 97% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 52;

(3) un polipéptido F2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y un polipéptido F1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 54;

(4) un polipéptido F2 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 97% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y un polipéptido F1 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 97% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 54;

(5) un polipéptido F2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 55 y un polipéptido F1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 56;

(6) un polipéptido F2 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 97% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 55 y un polipéptido F1 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 97% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 56;

(7) un polipéptido F2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 57 y un polipéptido F1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 58;

(8) un polipéptido F2 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 97% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 57 y un polipéptido F1 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 97% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 58;

(9) un polipéptido F2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 59 y un polipéptido F1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 60;

(10) un polipéptido F2 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 97% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 59 y un polipéptido F1 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 97% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 60;

(11) un polipéptido F2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 291 y un polipéptido F1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 292;

(12) un polipéptido F2 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 97% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 291 y un polipéptido F1 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 97% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 292;

(13) un polipéptido F2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 293 y un polipéptido F1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 294;

(14) un polipéptido F2 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 97% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 293 y un polipéptido F1 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 97% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 294;

(15) un polipéptido F2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 295 y un polipéptido F1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 296;

(16) un polipéptido F2 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 97% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 295 y un polipéptido F1 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 97% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 296;

(17) un polipéptido F2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 297 y un polipéptido F1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 298;

(18) un polipéptido F2 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 97% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 297 y un polipéptido F1 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 97% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 298;

(19) un polipéptido F2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 299 y un polipéptido F1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 300;

(20) un polipéptido F2 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 97% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 299 y un polipéptido F1 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 97% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 300;

(21) un polipéptido F2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 301 y un polipéptido F1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 302; y

(22) un polipéptido F2 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 97% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 301 y un polipéptido F1 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 97% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 302.

13. El mutante de acuerdo con la Reivindicación 1, que comprende los aminoácidos 26 a 109 y 137 a 513 de cualquiera de las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 19 a 21 y 32 a 39.

14. El mutante de acuerdo con la Reivindicación 1, que además comprende al menos un par de mutaciones introducidas de cisteína en la región HRB.

15. El mutante de acuerdo con la Reivindicación 14, en donde al menos un par de mutaciones de cisteína se selecciona del grupo que consiste en:

- (1) 508C y 509C;
- (2) 515C y 516C; y
- (3) 522C y 523C.

16. Una composición farmacéutica que comprende (i) un mutante de proteína F de RSV de acuerdo con la Reivindicación 2 y (ii) un portador farmacéuticamente aceptable.

17. La composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 16, en donde el polipéptido F1 y polipéptido F2 son de la proteína F del subtipo B de RSV.

18. La composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 16, en donde el polipéptido F1 y polipéptido F2 son de la proteína F del subtipo A de RSV.

19. La composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 18, que además comprende un segundo mutante de conformidad con la Reivindicación 2, en donde el polipéptido F1 y polipéptido F2 del segundo mutante son de la proteína F del subtipo B de RSV.

20. La composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 16, la cual es una vacuna.

21. Una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una secuencia de aminoácidos de mutante de la proteína F de RSV de acuerdo con la Reivindicación 1.

22. La molécula de ácido nucleico de acuerdo con la Reivindicación 21, en donde el mutante comprende los aminoácidos 26 a 513 de cualquiera de las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 19 a 21 y 32 a 39.

23. La molécula de ácido nucleico de acuerdo con la Reivindicación 21, que comprende una secuencia de nucleótidos, o una variante degenerada de la misma, seleccionada del grupo que consiste en:

(1) una secuencia de nucleótidos que comprende los nucleótidos 76 a 1539 de la SEQ ID NO: 8;

(2) una secuencia de nucleótidos que comprende los nucleótidos 76 a 1539 de la SEQ ID NO: 9;

(3) una secuencia de nucleótidos que comprende los nucleótidos 76 a 1539 de la SEQ ID NO: 10;

(4) una secuencia de nucleótidos que comprende los nucleótidos 76 a 1539 de la SEQ ID NO: 11;

(5) una secuencia de nucleótidos que comprende los nucleótidos 76 a 1539 de la SEQ ID NO: 12;

(6) una secuencia de nucleótidos que comprende los nucleótidos 76 a 1539 de la SEQ ID NO: 13;

(7) una secuencia de nucleótidos que comprende los nucleótidos 76 a 1539 de la SEQ ID NO: 14;

(8) una secuencia de nucleótidos que comprende los nucleótidos 76 a 1539 de la SEQ ID NO: 15;

(9) una secuencia de nucleótidos que comprende los nucleótidos 76 a 1539 de la SEQ ID NO: 16;

(10) una secuencia de nucleótidos que comprende los nucleótidos 76 a 1539 de la SEQ ID NO: 17; y

(11) una secuencia de nucleótidos que comprende los nucleótidos 76 a 1539 de la SEQ ID NO: 18.

24. La composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 16, que además comprende un adyuvante.
25. La composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 24, en donde el adyuvante es una sal de aluminio.
26. La composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 16, en donde el extremo C-terminal del polipéptido F1 del mutante está enlazado a un dominio de trimerización.
27. La composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 26, en donde el dominio de trimerización es un dominio plegado del fago T4.
28. La composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 19, en donde el polipéptido F2 y el polipéptido F1 del mutante de la proteína F del RSV de subtipo A comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45 y la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 46, respectivamente, y en donde el polipéptido F2 y el polipéptido F1 del segundo mutante de la proteína F del RSV de subtipo B comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 49 y la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 50, respectivamente.
29. La composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 28, que además comprende un adyuvante.
30. La composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 29, en donde el adyuvante es una sal de aluminio.
31. La composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 28, en donde el extremo C-terminal del polipéptido F1 del mutante de la proteína F del RSV de subtipo A y el extremo C-terminal del polipéptido F1 del segundo mutante de la proteína F del RSV de subtipo B está cada uno enlazado a un dominio de trimerización.
32. La composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 31, en donde el dominio de trimerización es un dominio plegado de fibritina del fago T4.
33. La composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 32, que además comprende un adyuvante.

34. La composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 33, en donde el adyuvante es una sal de aluminio.

35. El mutante de acuerdo con la Reivindicación 1, que además comprende una mutación de carga de cavidad o una mutación electrostática, en donde la mutación de carga de cavidad se selecciona del grupo que consiste en:

- (1) sustitución del aminoácido en la posición 62, 155, 190 o 290 con I, Y, L, H o M;
- (2) sustitución del aminoácido en la posición 54, 58, 189, 219 o 397 con I, Y, L, H o M;
- (3) sustitución del aminoácido en la posición 151 con A o H;
- (4) sustitución del aminoácido en la posición 147 o 298 con I, L, H o M; y
- (5) sustitución del aminoácido en la posición 164, 187, 192, 207, 220, 296, 300 o 495 con I, Y, H;

y en donde la mutación electrostática introducida se selecciona del grupo que consiste en:

- (1) sustitución del aminoácido en la posición 82, 92 o 487 por D, F, Q, T, S, L o H;
 - (2) sustitución del aminoácido en la posición 315, 394 o 399 por F, M, R, S, L, I, Q o T;
 - (3) sustitución del aminoácido en la posición 392, 486 o 489 por H, S, N, T o P;
- y
- (4) sustitución del aminoácido en la posición 106 o 339 por F, Q, N o W.

36. El mutante de acuerdo con la Reivindicación 35, en donde la mutación de carga de cavidad se selecciona del grupo que consiste en:

- (1) sustitución del aminoácido en la posición 190 con I, Y o M;
- (2) sustitución del aminoácido en la posición 54 con I o H; y
- (3) sustitución del aminoácido en la posición 296 con I.

37. El mutante de acuerdo con la Reivindicación 35, en donde la mutación electrostática se selecciona del grupo que consiste en:

- (1) sustitución del aminoácido en la posición 487 con D, Q o H;
- (2) sustitución del aminoácido en la posición 489 con H, S o N; y
- (3) sustitución del aminoácido en la posición 486 con H, S o T.

38. El mutante de acuerdo con la Reivindicación 36, en donde la mutación electrostática

se selecciona del grupo que consiste en:

- (1) sustitución del aminoácido en la posición 487 con D, Q o H;
- (2) sustitución del aminoácido en la posición 489 con H, S o N; y
- (3) sustitución del aminoácido en la posición 486 con H, S o T.

39. El mutante de acuerdo con la Reivindicación 38, en donde el par de mutaciones de cisteína es 103C y 148C.

40. Una composición farmacéutica que comprende un mutante de acuerdo con la Reivindicación 1 y un portador farmacéuticamente aceptable.

41. La composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 40, que además comprende un adyuvante.

42. La composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 40, en donde el extremo C-terminal del polipéptido F1 está enlazado a un dominio de trimerización.
