

REIVINDICACIONES

Se reivindica lo siguiente:

1. Un ácido ribonucleico mensajero (ARNm) que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que codifica una proteína de pico (S) de SARS-CoV-2 que tiene una mutación estabilizadora de prolina doble.
2. El ARNm de la reivindicación 1, en donde la mutación estabilizadora de prolina doble está en posiciones correspondientes a K986 y V987 de una proteína SARS-CoV-2 S de tipo salvaje.
3. El ARNm de la reivindicación 1, en donde el antígeno del coronavirus comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o al menos 98 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 29.
4. El ARNm de la reivindicación 1, donde la proteína SARS-CoV-2 S comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 29.
5. El ARNm de la reivindicación 1, en donde el ARNm comprende una región no traducida (UTR) 5' y una UTR 3'.
6. El ARNm de la reivindicación 5, en donde la UTR 5' comprende la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 36 y/o la UTR 3' comprende la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 37.
7. Una composición que comprende una nanopartícula lipídica y un ARN mensajero (ARNm) que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que codifica una proteína de pico (S) de SARS-CoV-2 que tiene una mutación estabilizadora de prolina doble de una proteína SARS-CoV-2 S de tipo salvaje.
8. La composición de la reivindicación 7, en donde la nanopartícula lipídica comprende un lípido modificado con PEG, un lípido no catiónico, un estero, un lípido catiónico ionizable o cualquier combinación de estos.
9. La composición de la reivindicación 8, en donde la nanopartícula lipídica comprende 0.5-15 % en moles de lípido modificado con PEG; 5-25 % en moles de lípidos no catiónicos; 25-55 % en moles de estero; y 20-60 % en moles de lípido catiónico ionizable.
10. Un ácido ribonucleico mensajero (ARNm) que comprende un marco de

lectura abierto (ORF) que comprende una secuencia de nucleótidos que tiene al menos 80 % de identidad con la secuencia de nucleótidos la SEQ ID NO: 28 y codifica un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29.

11. El ARNm de la reivindicación 10, en donde el ORF comprende una secuencia de nucleótidos que tiene al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o al menos 98 % de identidad con la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 28.

12. El ARNm de la reivindicación 10, en donde el ORF comprende una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 28.

13. El ARNm de la reivindicación 10, en donde el ARNm comprende una secuencia de nucleótidos que tiene al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o al menos 98 % de identidad con la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 27.

14. El ARNm de la reivindicación 10, en donde el ARNm comprende una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 27.

15. El ARNm de la reivindicación 10, en donde el ARN comprende una región no traducida (UTR) 5' y una UTR 3'.

16. El ARNm de la reivindicación 15, en donde la UTR 5' comprende la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 36.

17. El ARNm de la reivindicación 15, en donde la UTR 3' comprende la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 37.

18. El ARNm de cualquiera de las reivindicaciones 10-17, en donde el ARNm comprende una modificación química.

19. El ARNm de la reivindicación 18, en donde el ARNm se modifica químicamente con 1-metil-pseudouridina, de manera que cada U en la secuencia sea una 1-metil-pseudouridina.

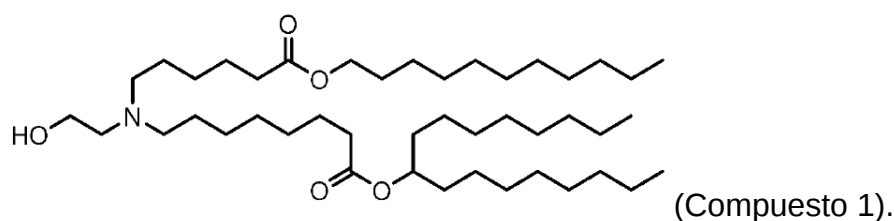
20. Una composición que comprende una nanopartícula lipídica y un ARN mensajero (ARNm) que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que comprende una secuencia de nucleótidos que tiene al menos 80 % de identidad con la secuencia de nucleótidos la SEQ ID NO: 28 y codifica un polipéptido que

comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 29.

21. La composición de la reivindicación 20, en donde la nanopartícula lipídica comprende un lípido modificado con PEG, un lípido no catiónico, un esteroil, un lípido catiónico ionizable o cualquier combinación de estos.

22. La composición de la reivindicación 21, en donde la nanopartícula lipídica comprende 0.5-15 % en moles de lípido modificado con PEG; 5-25 % en moles de lípidos no catiónicos; 25-55 % en moles de esteroil; y 20-60 % en moles de lípido catiónico ionizable.

23. La composición de la reivindicación 22, en donde el lípido modificado con PEG es 1,2 dimiristoil-sn-glicerol, metoxipolietilenglicol (PEG2000 DMG), el lípido no catiónico es 1,2 diestearoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DSPC), el esteroil es colesterol; y el lípido catiónico ionizable tiene la estructura del Compuesto 1:



24. Un ácido ribonucleico mensajero (ARNm) que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que comprende una secuencia de nucleótidos que tiene al menos un 80 % de identidad con la secuencia de nucleótidos de cualquiera de las SEQ ID NO: 3, 7, 10, 13, 16, 19, 22, 25, 31, 48, 50, 52, 54, 56, 61, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, o 106.

25. El ARNm de la reivindicación 24, en donde el ORF comprende una secuencia de nucleótidos que tiene al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 98 % o al menos 100 % de identidad con la secuencia de nucleótidos de cualquiera de las SEQ ID NO: 3, 7, 10, 13, 16, 19, 22, 25, 31, 48, 50, 52, 54, 56, 61, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84 o 106.

26. El ARNm de la reivindicación 24, en donde el ORF codifica un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO: 5, 8, 11, 14, 17, 20, 23, 26, 32, 33, 34, 35, 47, 49, 59, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, u 85.

27. El ARNm de la reivindicación 24, en donde el ORF codifica un polipéptido

que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 % o al menos 98 % de identidad con cualquiera de las SEQ ID NO: 5, 8, 11, 14, 17, 20, 23, 26, 32, 33, 34, 35, 47, 49, 59, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, u 85.

28. El ARNm de la reivindicación 24, en donde el ARN comprende una región no traducida (UTR) 5' y una UTR 3'.

29. El ARNm de la reivindicación 28, en donde la UTR 5' comprende la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 36.

30. El ARNm de la reivindicación 28, en donde la UTR 3' comprende la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 37.

31. El ARNm de la reivindicación 24, en donde el ARNm comprende una modificación química.

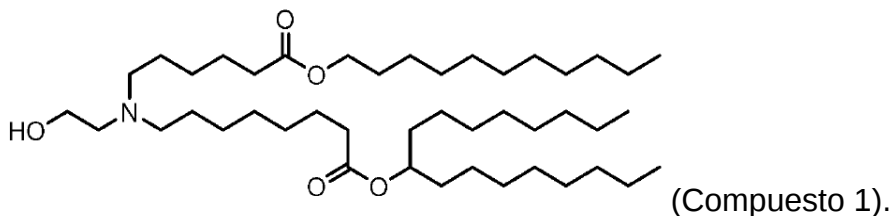
32. El ARNm de la reivindicación 31, en donde el ARNm se modifica químicamente con 1-metil-pseudouridina, de manera que cada U en la secuencia sea una 1-metil-pseudouridina.

33. Una composición que comprende una nanopartícula lipídica y un ARN mensajero (ARNm), en donde el ARNm es un ARNm de cualquiera de las reivindicaciones 24-33.

34. La composición de la reivindicación 33, en donde la nanopartícula lipídica comprende un lípido modificado con PEG, un lípido no catiónico, un estero, un lípido catiónico ionizable o cualquier combinación de estos.

35. La composición de la reivindicación 34, en donde la nanopartícula lipídica comprende 0.5-15 % en moles de lípido modificado con PEG; 5-25 % en moles de lípidos no catiónicos; 25-55 % en moles de estero; y 20-60 % en moles de lípido catiónico ionizable.

36. La composición de la reivindicación 35, en donde el lípido modificado con PEG es 1,2 dimiristoil-sn-glicerol, metoxipolietilenglicol (PEG2000 DMG), el lípido no catiónico es 1,2 diestearoil-sn-glicero-3-fosfolina (DSPC); el estero es colesterol y el lípido catiónico ionizable tiene la estructura del Compuesto 1:



37. Un método que comprende administrar a un sujeto un ácido ribonucleico mensajero (ARNm) que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que codifica un antígeno de proteína de pico (S) de SARS-CoV-2 que tiene una mutación estabilizadora de prolina doble en una cantidad eficaz para inducir una respuesta de anticuerpos neutralizantes contra SARS-CoV-2 en el sujeto.
38. El método de la reivindicación 37, en donde la mutación estabilizadora de prolina doble está en posiciones correspondientes a K986 y V987 de una proteína SARS-CoV-2 S de tipo salvaje.
39. El método de cualquiera de las reivindicaciones 37-38, en donde el ARNm se administra en una cantidad eficaz para inducir una respuesta inmune de células T, opcionalmente una respuesta inmune de células T CD4⁺ y/o CD8⁺, contra SARS-CoV-2 en el sujeto.
40. El método de cualquiera de las reivindicaciones 37-39, en donde el sujeto está inmunodeprimido.
41. El método de cualquiera de las reivindicaciones 37-39, en donde el sujeto tiene una enfermedad pulmonar.
42. El método de cualquiera de las reivindicaciones 37-39, en donde el sujeto tiene 65 años de edad o más.
43. El método de cualquiera de las reivindicaciones 37-39, que comprende administrar al sujeto al menos dos dosis de la composición.
44. El método de cualquiera de las reivindicaciones 37-43, en donde se producen niveles detectables de la proteína SARS-CoV-2 S en el suero del sujeto entre 1-72 horas luego de la administración del ARN o composición que comprende el ARN.
45. El método de cualquiera de las reivindicaciones 37-43, en donde se produce un título de anticuerpo neutralizante de al menos 100 NU/ml, al menos 500 NU/ml o al menos 1000 NU/ml en el suero del sujeto a 1-72 horas luego de la

administración del ARN o composición que comprende el ARN.

46. Una composición inmunizante que comprende:

(a) un primer ácido ribonucleico (ARN) que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que codifica un antígeno de coronavirus capaz de inducir una respuesta inmune, tal como una respuesta de anticuerpos neutralizantes, a un SARS-CoV-2;
y

(b) un segundo ácido ribonucleico (ARN) que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que codifica un antígeno de coronavirus capaz de inducir una respuesta inmune, como una respuesta de anticuerpos neutralizantes, a un SARS-CoV-2, en donde el ORF del primer ARN es diferente del ORF del segundo ARN.