

REIVINDICACIONES

1. Un polipéptido F de prefusión antigénico del metapneumovirus humano (hMPV), o una molécula de ácido nucleico que codifica el mismo, en donde dicho polipéptido F de prefusión carece de un dominio transmembrana y carece de una cola citoplásmica, y comprende un sitio de escisión por proteasa del rinovirus humano 3C (RVH-3C).

2. El polipéptido F o la molécula de ácido nucleico de la reivindicación 1, en donde dicho polipéptido F de prefusión comprende adicionalmente una mutación en el sitio de escisión de F₀ que comprende las sustituciones de aminoácidos Q100R y S101R, que reemplazan la glutamina en la posición de aminoácido 100 de SEQ ID NO: 1 por arginina, y que reemplazan la serina en la posición de aminoácido 101 de SEQ ID NO: 1 por arginina.

3. El polipéptido F o la molécula de ácido nucleico de la reivindicación 1 o 2, en donde dicho polipéptido F de prefusión comprende un péptido señal.

4. El polipéptido F o la molécula de ácido nucleico de una cualquiera de las reivindicaciones

1-3, en donde dicho polipéptido F de prefusión comprende al menos una secuencia etiqueta que es opcionalmente una etiqueta 8x His y/o una etiqueta Strep II.

5. El polipéptido F o la molécula de ácido nucleico de una cualquiera de las reivindicaciones

1-4, en donde dicho polipéptido F de prefusión comprende un dominio foldón.

6. El polipéptido F o la molécula de ácido nucleico de una cualquiera de las reivindicaciones

1-5, en donde dicho polipéptido F de prefusión comprende una sustitución de aminoácidos que reemplaza la treonina en la posición de aminoácido 160 de SEQ ID NO: 1, y una sustitución de aminoácidos que reemplaza a la asparragina en la posición de aminoácido 46 de SEQ ID NO: 1.

7. Un polipéptido F de prefusión antigénico de metapneumovirus humano (hMPV), o una molécula de ácido nucleico que codifica el mismo, en donde dicho polipéptido F de prefusión carece de un dominio transmembrana y carece de una cola citoplásmica, y comprende:

una mutación en el sitio de escisión F₀ que comprende las sustituciones de aminoácidos Q100R y S101R; que reemplaza la glutamina en la posición de aminoácido 100 de SEQ ID NO: 1 por arginina, y que reemplaza la serina en la posición de aminoácido 101 de SEQ ID NO: 1 por arginina;

un sitio de escisión por proteasa de rinovirus humano 3C (RVH-3C);

un péptido señal heterólogo;

una etiqueta 8x His y/o una etiqueta Strep II; y

un dominio foldón.

8. Un polipéptido F de prefusión antigénico del metapneumovirus humano (hMPV), o una molécula de ácido nucleico que codifica el mismo, en donde dicho polipéptido F de prefusión

carece de un dominio transmembrana y carece de una cola citoplásmica, y comprende una sustitución de aminoácidos que reemplaza el aminoácido de tipo salvaje en la posición 160 de SEQ ID NO: 1, y una sustitución de aminoácidos que reemplaza el aminoácido de tipo salvaje en la posición 46 de SEQ ID NO: 1.

9. Un polipéptido F de prefusión antigénico del metapneumovirus humano (hMPV), o una molécula de ácido nucleico que codifica el mismo, en donde dicho polipéptido F de prefusión carece de un dominio transmembrana y carece de una cola citoplásmica, y comprende una sustitución de aminoácidos que reemplaza la treonina en la posición de aminoácido 160 de SEQ ID NO: 1, y una sustitución de aminoácidos que reemplaza la asparragina en la posición de aminoácido 46 de SEQ ID NO: 1.

10. El polipéptido F de hMPV o la molécula de ácido nucleico de la reivindicación 8 o 9, en donde dicho polipéptido F de prefusión comprende una sustitución de aminoácidos que reemplaza el aminoácido en la posición 160 por fenilalanina, triptófano, tirosina, valina, alanina, isoleucina o leucina.

11. El polipéptido F de hMPV o la molécula de ácido nucleico de la reivindicación 10, en donde dicho polipéptido F de prefusión comprende una sustitución de aminoácidos que reemplaza el aminoácido en la posición 160 por fenilalanina.

12. El polipéptido F de hMPV o la molécula de ácido nucleico de una cualquiera de las reivindicaciones 8-11, en donde dicho polipéptido F de prefusión comprende una sustitución de aminoácidos que reemplaza el aminoácido en la posición 46 por valina, alanina, isoleucina, leucina, fenilalanina, tirosina o prolina.

13. El polipéptido F de hMPV o la molécula de ácido nucleico de la reivindicación 12, en donde dicho polipéptido F de prefusión comprende una sustitución de aminoácidos que reemplaza el aminoácido en la posición 46 por valina.

14. El polipéptido F de hMPV o la molécula de ácido nucleico de la reivindicación 8, en donde dicho polipéptido F de prefusión comprende al menos 95% de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 7.

15. El polipéptido F de hMPV o la molécula de ácido nucleico de una cualquiera de las reivindicaciones 8-14, en donde dicho polipéptido F de prefusión comprende adicionalmente una mutación del sitio de escisión de F_0 que comprende las sustituciones de aminoácidos Q100R y S101R, que reemplazan la glutamina en la posición de aminoácido 100 de SEQ ID NO: 1 por arginina, y que reemplazan la serina en la posición de aminoácido 101 de SEQ ID NO: 1 por arginina.

16. El polipéptido F de hMPV o la molécula de ácido nucleico de una cualquiera de las reivindicaciones 8-15, en donde dicho polipéptido F de prefusión comprende un péptido señal.

17. El polipéptido F de hMPV o la molécula de ácido nucleico de una cualquiera de las reivindicaciones 8-16, en donde dicho polipéptido F de prefusión comprende al menos una secuencia etiqueta que es opcionalmente una etiqueta 8x His y/o una etiqueta Strep II.

18. El polipéptido F de hMPV o la molécula de ácido nucleico de una cualquiera de las

reivindicaciones 8-17, en donde dicho polipéptido F de prefusión comprende un dominio foldón.

19. Un polipéptido F de prefusión antigénico de metapneumovirus humano (hMPV), o una molécula de ácido nucleico que codifica el mismo, en donde dicho polipéptido F de prefusión carece de un dominio transmembrana y carece de una cola citoplásmica, y comprende:

una sustitución de aminoácidos T160F que reemplaza la treonina en la posición de aminoácido 160 de SEQ ID NO: 1 por fenilalanina, y una sustitución de aminoácidos N46V que reemplaza la asparragina en la posición de aminoácido 46 de SEQ ID NO: 1 por valina;

una mutación en el sitio de escisión F_0 que comprende las sustituciones de aminoácidos Q100R y S101R; que reemplazan la glutamina en la posición de aminoácido 100 de SEQ ID NO: 1 por arginina, y que reemplazan la serina en la posición de aminoácido 101 de SEQ ID NO: 1 por arginina;

un sitio de escisión por proteasa del rinovirus humano 3C (RVH-3C);

un péptido señal;

una etiqueta 8x His y/o una etiqueta Strep II; y

un dominio foldón.

20. El polipéptido F o la molécula de ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el hMPV es la cepa A o la cepa B.

21. El polipéptido F o la molécula de ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el hMPV es del subtipo A1, del subtipo A2, del subtipo B1 o del subtipo B2.

22. El polipéptido F o la molécula de ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde dicho polipéptido F de prefusión comprende al menos 95% de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 3 o comprende SEQ ID NO: 3.

23. Un polipéptido F del metapneumovirus humano (hMPV), o una molécula de ácido nucleico que codifica el mismo, en donde dicho polipéptido F comprende al menos 95% de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 7.

24. El polipéptido F o la molécula de ácido nucleico de la reivindicación 23, en donde el polipéptido F es un polipéptido F de prefusión.

25. El polipéptido F o la molécula de ácido nucleico de la reivindicación 23, en donde el polipéptido F es antigénico.

26. El polipéptido F o la molécula de ácido nucleico de la reivindicación 23, en donde el polipéptido F comprende la sustitución de aminoácidos T160F que reemplaza la treonina en la posición de aminoácido 160 por fenilalanina, y la sustitución de aminoácidos N46V que reemplaza la asparragina en la posición de aminoácido 46 por valina.

27. El polipéptido F o la molécula de ácido nucleico de la reivindicación 23, en donde el polipéptido F comprende SEQ ID NO: 7.

28. Una molécula de ácido nucleico que codifica el polipéptido de una cualquiera de las reivindicaciones 23-27.

29. La molécula de ácido nucleico de la reivindicación 28, que tiene al menos 95% de

identidad de secuencia con SEQ ID NO: 8 o que comprende SEQ ID NO: 8.

30. La molécula de ácido nucleico de la reivindicación 28, que tiene al menos 95% de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 18 o SEQ ID NO: 19, o que comprende SEQ ID NO: 18 o SEQ ID NO: 19.

31. Una composición farmacéutica que comprende el polipéptido F, o una molécula de ácido nucleico que codifica el mismo, de una cualquiera de las reivindicaciones 23-27, o la molécula de ácido nucleico de una cualquiera de las reivindicaciones 28-30.

32. La composición farmacéutica de la reivindicación 31, que comprende una vacuna.

33. Un ARN mensajero (ARNm) que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que codifica el polipéptido F de una cualquiera de las reivindicaciones 1-27.

34. Un ARN mensajero (ARNm) que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que codifica un antígeno del polipéptido F de metapneumovirus humano (hMPV), en donde el antígeno del polipéptido F de hMPV comprende una secuencia de aminoácidos con al menos 95% de identidad con SEQ ID NO: 11 o consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11.

35. El ARNm de la reivindicación 33 o 34, en donde el antígeno del polipéptido F de hMPV es un polipéptido F de prefusión.

36. El ARNm de una cualquiera de las reivindicaciones 33-35, en donde el ORF tiene codones optimizados.

37. El ARNm de una cualquiera de las reivindicaciones 33-36, en donde el ARNm comprende al menos una región no traducida 5' (UTR 5'), al menos una región no traducida 3' (UTR 3'), y al menos una secuencia de poliadenilación (poli(A)).

38. El ARNm de una cualquiera de las reivindicaciones 33-37, en donde el ARNm comprende al menos una modificación química.

39. El ARNm de una cualquiera de las reivindicaciones 33-38, en donde al menos 20%, al menos 30%, al menos 40%, al menos 50%, al menos 60%, al menos 70%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 95% o el 100% de los nucleótidos de uracilo del ARNm están modificados químicamente.

40. El ARNm de una cualquiera de las reivindicaciones 33-39, en donde al menos 20%, al menos 30%, al menos 40%, al menos 50%, al menos 60%, al menos 70%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 95% o el 100% de los nucleótidos de uracilo en el ORF están modificados químicamente.

41. El ARNm de una cualquiera de las reivindicaciones 37-39, en donde la modificación química se selecciona del grupo que consiste en pseudouridina, N1-metilpseudouridina, 2-tiouridina, 4'-tiouridina, 5-metilcitosina, 2-tio-l-metil-1-desaza-pseudouridina, 2-tio-l-metil-pseudouridina, 2-tio-5-aza-uridina, 2-tio-dihidropsudouridina, 2-tio-dihidrouridina, 2-tio-pseudouridina, 4-metoxi-2-tio-pseudouridina, 4-metoxi-pseudouridina, 4-tio-l-metil-pseudouridina, 4-tio-pseudouridina, 5-aza-uridina, dihidropsudouridina, 5-metiluridina, 5-metiluridina, 5-metoxiuridina, y 2'-O-metil uridina.

42. El ARNm de la reivindicación 41, en donde la modificación química se selecciona del

grupo que consiste en pseudouridina, N1-metilpseudouridina, 5-metilcitosina, 5-metoxiuridina y una combinación de las mismas.

43. El ARNm de la reivindicación 41, en donde la modificación química es N1-metilpseudouridina.

44. El ARNm de una cualquiera de las reivindicaciones 33-43, en donde el ARNm está formulado en una nanopartícula lipídica (NPL).

45. El ARNm de la reivindicación 44, en donde la NPL comprende al menos un lípido catiónico.

46. El ARNm de la reivindicación 45, en donde el lípido catiónico es biodegradable.

47. El ARNm de la reivindicación 45, en donde el lípido catiónico no es biodegradable.

48. El ARNm de la reivindicación 45, en donde el lípido catiónico es escindible.

49. El ARNm de la reivindicación 45, en donde el lípido catiónico no es escindible.

50. El ARNm de la reivindicación 45, en donde el lípido catiónico se selecciona del grupo que consiste en OF-02, cKK-E10, GL-HEPES-E3-E10-DS-3-E18-1, GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10 y GL-HEPES-E3-E12-DS-3-E14.

51. El ARNm de la reivindicación 50[9], en donde el lípido catiónico es cKK-E10.

52. El ARNm de la reivindicación 50, en donde el lípido catiónico es GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10.

53. El ARNm de una cualquiera de las reivindicaciones 44-52, en donde la NPL comprende adicionalmente un lípido conjugado con polietilenglicol (PEG) (PEGilado), un lípido basado en colesterol y un lípido auxiliar.

54. El ARNm de una cualquiera de las reivindicaciones 44-52, en donde la NPL comprende:

un lípido catiónico a una razón molar de 35% a 55%,

un lípido conjugado con polietilenglicol (PEG) (PEGilado) a una razón molar de 0.25% a 2.75%,

un lípido basado en colesterol a una razón molar de 20% al 45%, y

un lípido auxiliar a una razón molar de 5% a 35%,

en donde todas las razones molares son relativas al contenido total de lípidos de la NPL.

55. El ARNm de la reivindicación 54, en donde la NPL comprende:

un lípido catiónico a una razón molar de 40%,

un lípido PEGilado a una razón molar de 1.5%,

un lípido basado en colesterol a una razón molar de 28.5%, y

un lípido auxiliar a una razón molar de 30%.

56. El ARNm de una cualquiera de las reivindicaciones 53-55, en donde el lípido PEGilado es dimiristoil-PEG2000 (DMG-PEG2000) o 2-[(polietilenglicol)-2000]-N,N-ditetradecilacetamida (ALC-0159).

57. El ARNm de una cualquiera de las reivindicaciones 53-55, en donde el lípido basado

en colesterol es colesterol.

58. El ARNm de una cualquiera de las reivindicaciones 53-55, en donde el lípido auxiliar es 1,2-dioleoil-SN-glicero-3-fosfoetanolamina (DOPE) o 1,2-distearoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DSPC).

59. El ARNm de una cualquiera de las reivindicaciones 44-55, en donde la NPL comprende:

GL-HEPES-E3-E12-DS-4-E10 a una razón molar de 40%,

DMG-PEG2000 a una razón molar de 1.5%,

colesterol a una razón molar de 28.5%, y

DOPE a una razón molar de 30%.

60. El ARNm de una cualquiera de las reivindicaciones 44-55, en donde la NPL comprende:

cKK-E10 a una razón molar de 40%,

DMG-PEG2000 a una razón molar de 1.5%,

colesterol a una razón molar de 28.5%, y

DOPE a una razón molar de 30%.

61. El ARNm de una cualquiera de las reivindicaciones 44-60[9], en donde la NPL tiene un diámetro medio de 30 nm a 200 nm.

62. El ARNm de la reivindicación 61, en donde la NPL tiene un diámetro medio de 80 nm a 150 nm.

63. Una composición farmacéutica que comprende el ARNm de una cualquiera de las reivindicaciones 33-62.

64. La composición farmacéutica de la reivindicación 63, que comprende una vacuna.

65. Un método para provocar una respuesta inmunitaria contra el hMPV o para proteger a un sujeto contra la infección por hMPV, que comprende la administración de la vacuna de la reivindicación 32 o 64 a un sujeto.

66. El método de la reivindicación 65, en donde el sujeto tiene una concentración sérica comparable de anticuerpos neutralizantes contra el hMPV tras la administración de la vacuna, con relación a un sujeto al que se le administra una vacuna proteica contra el hMPV.

67. El método de la reivindicación 66, en donde la vacuna proteica contra el hMPV se coadministra con un adyuvante.

68. El método de la reivindicación 65, en donde la vacuna aumenta la concentración sérica de anticuerpos neutralizantes en un sujeto con inmunidad preexistente al hMPV.

69. Una vacuna para su uso en la obtención de una respuesta inmunitaria al hMPV o la protección de un sujeto contra la infección por hMPV, que comprende la administración de la vacuna de la reivindicación 32 o 64 a un sujeto.

70. El uso de la vacuna de la reivindicación 32 o 64 en la fabricación de un medicamento para provocar una respuesta inmunitaria al hMPV o para proteger a un sujeto contra la infección por

hMPV.

71. Un método para provocar una respuesta inmunitaria en un sujeto que lo necesite, que comprende administrar al sujeto, opcionalmente por vía intramuscular, intranasal, intravenosa, subcutánea o intradérmica, una cantidad profilácticamente eficaz del polipéptido F o la molécula de ácido nucleico de una cualquiera de las reivindicaciones 1-27, una cantidad profilácticamente eficaz del ARNm de una cualquiera de las reivindicaciones 33-62, o una cantidad profilácticamente eficaz de la vacuna de una cualquiera de las reivindicaciones 32, 64 y 69.

72. Un método de prevención de una infección por el hMPV o de reducción de uno o más síntomas de una infección por hMPV, que comprende administrar al sujeto, opcionalmente por vía intramuscular, intranasal, intravenosa, subcutánea o intradérmica una cantidad profilácticamente eficaz del polipéptido F o la molécula de ácido nucleico de una cualquiera de las reivindicaciones 1-27, una cantidad profilácticamente eficaz del ARNm de una cualquiera de las reivindicaciones 33-62, o una cantidad profilácticamente eficaz de la vacuna de una cualquiera de las reivindicaciones 32, 64 y 69.

73. El uso del polipéptido F o la molécula de ácido nucleico de una cualquiera de las reivindicaciones 1-27, una cantidad profilácticamente eficaz del ARNm de una cualquiera de las reivindicaciones 33-62, o la vacuna de una cualquiera de las reivindicaciones 32, 64 y 69, para la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de un sujeto que lo necesite, opcionalmente en un método de la reivindicación 71 o 72.

74. El polipéptido F o la molécula de ácido nucleico de una cualquiera de las reivindicaciones 1-27, una cantidad profilácticamente eficaz del ARNm de una cualquiera de las reivindicaciones 33-62, o la vacuna de una cualquiera de las reivindicaciones 32, 64 y 69, para su uso en el tratamiento de un sujeto que lo necesite, opcionalmente en un método de la reivindicación 71 o 72.

75. Un kit que comprende un recipiente que contiene una dosis de un solo uso o de varios usos del polipéptido F o la molécula de ácido nucleico de una cualquiera de las reivindicaciones 1-27, una cantidad profilácticamente eficaz del ARNm de una cualquiera de las reivindicaciones 33-62, o la vacuna de una cualquiera de las reivindicaciones 32, 64 o 69, opcionalmente en donde el recipiente es un vial o una jeringa precargada o un inyector.

76. Una vacuna que comprende un antígeno del polipéptido F del metapneumovirus humano (hMPV) o una molécula de ácido nucleico que codifica el mismo, en donde el polipéptido F comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 95% de identidad con SEQ ID NO: 7 o que consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7.

77. La vacuna de la reivindicación 76, en donde el polipéptido F de hMPV es un polipéptido F de pre-fusión.

78. Un método para provocar una respuesta inmunitaria contra hMPV o para proteger a un sujeto contra la infección por hMPV, que comprende la administración de la vacuna de la reivindicación 76 o 77 a un sujeto.

79. El método de la reivindicación 77, en donde la vacuna se coadministra con un adyuvante.

80. El método de la reivindicación 78 o 79, en donde la vacuna se administra combinada con una vacuna adicional.

81. El método de la reivindicación 80, en donde la vacuna adicional es una vacuna contra el virus respiratorio sincitial (VRS) o una vacuna contra la gripe.

82. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 78-81, en donde el sujeto es humano.

83. El método de la reivindicación 82, en donde el sujeto humano es un lactante, un niño pequeño o un adulto mayor.

84. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 78-83, en donde la vacuna aumenta la concentración sérica de anticuerpos neutralizantes, y en donde el sujeto tiene una inmunidad preexistente al hMPV.

85. Una vacuna para su uso en la obtención de una respuesta inmunitaria al hMPV o la protección de un sujeto contra la infección por hMPV, que comprende la administración de la vacuna de la reivindicación 76 o 77 a un sujeto.

86. El uso de la vacuna de la reivindicación 76 o 77 en la fabricación de un medicamento para provocar una respuesta inmunitaria al hMPV o para proteger a un sujeto contra la infección por hMPV.

87. Un método para provocar una respuesta inmunitaria en un sujeto que lo necesite, que comprende administrar al sujeto, opcionalmente por vía intramuscular, intranasal, intravenosa, subcutánea o intradérmica, una cantidad profilácticamente eficaz de la vacuna de la reivindicación 76 o 77.

88. Un método para prevenir una infección por hMPV o reducir uno o más síntomas de una infección por hMPV, que comprende administrar al sujeto, opcionalmente por vía intramuscular, intranasal, intravenosa, subcutánea o intradérmica, una cantidad profilácticamente eficaz de la vacuna de la reivindicación 76 o 77.

89. El uso de la vacuna de la reivindicación 76 o 77 para la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de un sujeto que lo necesite, opcionalmente en un método de la reivindicación 87 u 88.

90. La vacuna de la reivindicación 76 o 77 para su uso en el tratamiento de un sujeto que lo necesite, opcionalmente en un método de la reivindicación 87 u 88.

91. Un kit que comprende un recipiente que contiene una dosis de un solo uso o de varios usos de la vacuna de la reivindicación 76 o 77, opcionalmente en donde el recipiente es un vial o una jeringa precargada o un inyector.

92. Un vector de expresión que codifica el polipéptido F o la molécula de ácido nucleico de una cualquiera de las reivindicaciones 1-27, o el ARNm de una cualquiera de las reivindicaciones 33-62.

93. Una célula que comprende el vector de expresión de la reivindicación 92.