

## BREVET D'INVENTION

Date de priorité : 16/09/2013

Classification internationale : A61K 39/21, C07K 14/16

Numéro de dépôt : 2013/0761

Date de dépôt : 08/11/2013

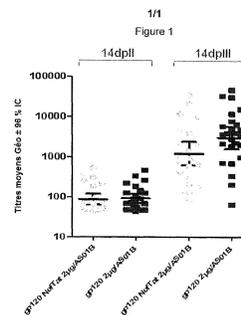
Titulaire :

GLAXOSMITHKLINE BIOLOGICALS SA  
1330, RIXENSART  
Belgique

Inventeur :

## NOUVELLES COMPOSITIONS

L'invention concerne une composition immunogène particulière comprenant un polypeptide apparenté à gp120 et un adjuvant, dans laquelle l'adjuvant comprend un saponine et un lipopolysaccharide. De telles compositions sont sensiblement dépourvues de polypeptide apparenté à NefTat, comprennent entre 10 et 40 µg d'un lipopolysaccharide et entre 10 et 40 µg d'une saponine immunologiquement active dérivée de l'écorce *Quillaja saponaria* Molina présentée sous la forme d'un liposome ou ont une concentration de chlorure de sodium de 130 mµ ou moins.



NOUVELLES COMPOSITIONS

La présente invention concerne des compositions immunogènes particulières comprenant un polypeptide apparenté à la gp120 et un adjuvant, dans lesquelles l'adjuvant comprend une saponine et un lipopolysaccharide. Des procédés de préparation de telles compositions immunogènes et des kits apparentés sont également proposés.

Le VIH est la cause principale du syndrome de l'immunodéficience acquise (SIDA) qui est considéré comme l'un des problèmes de santé majeurs au monde. Il y avait approximativement 34 millions de personnes vivant avec le VIH en 2011 (WHO HIV/AIDS Fact sheet number 360, juin 2013) et plus de 4 millions de nouvelles infections apparaissent chaque année. Le VIH a revendiqué plus de 25 millions de vies au cours des trois décennies passées. Bien qu'une thérapie antirétrovirale prolonge les vies de nombreuses personnes infectées par le VIH, pour être efficace, la thérapie antirétrovirale requiert de se conformer strictement à des régimes souvent complexes d'administration de multiples médicaments et ne guérit pas l'infection. Les nouvelles infections dépassent largement le nombre de personnes pouvant être traitées grâce aux efforts financiers globaux actuels. Il existe un besoin concernant un vaccin permettant de prévenir de nouvelles infections mais le développement d'un vaccin sain et efficace contre le VIH pose un défi majeur.

Deux types de VIH ont été caractérisés : le VIH-1 et le VIH-2. Le VIH-1 est hautement virulent et infectieux et constitue globalement la cause de la majorité des infections par le VIH, alors que le VIH-2 a de plus faibles virulence et infectivité et est grandement confiné à l'Afrique de l'ouest (Gilbert et al., *Stat In Med* 22(4) : 573 à 593 (2003) et Reeves et Doms *J Gen Vir* 83 : 1253 à 1265 (2002)). Il existe de nombreux sous-types génétiquement distincts (également connus sous le nom de « clades ») du VIH-1 et les séquences d'acides aminés justes des glycoprotéines d'enveloppe (gp120 et gp41) peuvent varier de 25 à 30 % entre les sous-types (Kalish et al., *AIDS* 9 : 851 à 857 (1995)). La diversité génétique du VIH-1 conjointement avec le taux de mutation élevé constituent des obstacles majeurs pour le développement d'un vaccin contre le VIH-1.

Bien que des recherches étendues aient été conduites de par le monde pour produire un vaccin, il reste encore beaucoup de travail à faire.

#### La protéine d'enveloppe gp120 du VIH et d'autres protéines du VIH-1

La gp120 est la protéine virale qui est utilisée pour l'attache à une cellule hôte. Cette attache est médiée par des molécules de surface de liaison à la gp120 de cellules T auxiliaires et de macrophages incluant l'un des deux récepteurs de chimiokine CCR-5 ou CXCR-4. La protéine gp120 est tout d'abord exprimée comme une plus grande molécule précurseur (gp160), qui est ensuite clivée post-traductionnellement pour donner

gp120 et gp41. La protéine gp120 est retenue sur la surface du virion, associée de manière non covalente à la molécule gp41, qui est insérée dans la membrane virale. Trois hétérodimères de glycoprotéine d'enveloppe gp120 et gp41 associés de manière non covalente forment le spicule Env trimérique sur la surface du VIH-1.

Des protéines non-enveloppes du VIH-1 ont été décrites et incluent par exemple des protéines structurelles internes telles que d'autres produits du gène *Env* (tels que gp160 et gp41), les produits des gènes *gag* et *pol* (tels que MA, CA, SP1, NC, SP2 et P6 ; et RT, RNase H, IN et PR, respectivement) et d'autres protéines non structurelles telles que Rev, Nef, Vif, Vpr, Vpu et Tat (Greene et al., *New Eng J Med*, 324, 5, 308 et seq (1991) et Bryant et al. (Ed. Pizzo), *Pediatr Infect Dis J*, 11, 5, 390 et seq (1992)).

#### Travail précédent dans le domaine

La gp120 était parmi les premières cibles de la recherche de vaccin contre le VIH et a été considérée comme utile en tant que composant antigénique dans des vaccins censés susciter des réponses immunitaires à médiation cellulaire. La protéine gp120 contient des épitopes qui sont reconnus par des lymphocytes T cytotoxiques (LTC). Ces cellules effectrices sont capables d'éliminer des cellules infectées par le virus, et constituent donc un mécanisme immunitaire antiviral. Certains épitopes de LTC semblent être relativement conservés parmi les différentes souches du VIH. Néanmoins, les vaccins actuels à base de LTC ne

protègent pas d'une infection dans des modèles animaux du VIH (Amara et al., *Science* 292(5514) : 69 à 74 (2001)). En outre, les vaccins à base de LTC étudiés jusqu'à ce jour chez les humains n'ont pas induit ces  
5 réponses recherchées chez tous les receveurs (Goepfert et al., *J Infect Dis* 192(7) : 1249 à 1259 (2005)). De tels vaccins à base de LTC ne pouvaient pas protéger contre une infection, ni impacter la charge virale post-infection (l'« étude HVTN-505 »).

10 La protéine gp120 est une cible majeure des anticorps neutralisants (Pantophlet et al., *Annu Rev Immunol* 24 : 739 à 769 (2006)) et l'on a antérieurement pensé que les anticorps neutralisants constituaient un corrélat potentiel de protection Bruck et al., *Vaccine*  
15 12(12) : 1141 à 1148 (1994) et Plotkin, *Pediatr Infect Dis J* 20 : 63 à 75 (2001)).

Une région de la protéine gp120 en particulier, la « boucle V3 », est ciblée par les anticorps neutralisants. Des anticorps présents dans des sérums  
20 immunitaires d'individus infectés se lient à des peptides de la boucle V3 (Spenlehauer et al., *J Vir*, 72(12) : 9855-9864 (1998)). Par conséquent, la recherche s'est concentrée en grande partie sur la boucle V3 de la protéine gp120. Néanmoins, la boucle V3 est  
25 malheureusement hautement variable et hautement spécifiquement de la souche (Vaine et al., *PLoS One*, 5(11) : e13916, (2010), Jones et al., *J Infect Dis*, 179 : 558 à 566 (1999) et McCormack et al., *Vaccine* 18(13) : 1166 à 1177 (2000)).

30 Il a été montré que la vaccination avec la gp120 n'induisait pas toujours les anticorps neutralisants

contre le VIH et le VIHS, et lorsque les anticorps neutralisants sont induits, ces anticorps conféraient rarement une protection contre des virus divergents (Voss et al., *J Vir* 77(2) : 1049 à 1058 (2003),  
5 Plotkin, *Pediatr Infect Dis J* 20 : 63 à 75 (2001), Wren et Kent, *Hum Vacc* 7(4) : 466 à 473 (2011)).

On a montré que l'utilisation des protéines recombinantes NefTat de VIH-1, gp120<sub>W61D</sub> et Nef du VIS formulées avec le système d'adjuvant AS02A (50 µg de  
10 QS-21 et 50 µg de 3D-MPL dans une émulsion huile dans l'eau) protégeait contre le SIDA dans un système de modèle animal du VIHS de macaque rhésus lorsque les animaux étaient défiés avec la souche VIHS89.6p du VIS/VIH. Toutefois, la gp120<sub>W61D</sub> du VIH-1 formulée seule  
15 avec AS02A ne conférait pas de protection. On a suggéré que le manque de protection après immunisation avec gp120<sub>W61D</sub> formulée seule avec AS02A était lié à la nature hétérologue du virus de défi (20,2 % de différence de séquence pour la gp120), car on avait  
20 montré antérieurement que gp120<sub>W61D</sub> formulée dans AS02A induisait une immunité stérile contre un défi au VIHSW61D homologue (Voss et al., *J Virol* 77(2) : 1049 à 1058 (2003) et Mooij et al., *AIDS* 12 : F15 à F22 (1998)).

25 De la NefTat et de la gp120<sub>W61D</sub> formulée dans AS02A ont été administrées à des individus séronégatifs au VIH dans une étude de sécurité et d'immunogénicité. Toutefois, les anticorps neutralisants suscités par ce vaccin avaient une médiocre activité inter-sous-type  
30 (Leroux-Roels et al., *Vaccine* 28 : 7016 à 7024 (2010) - « l'essai PRO HIV-002 »). De plus, la gp120 avait un

impact négatif sur les réponses d'anticorps et de cellules T (titre moyen géométrique d'anticorps et prolifération de lymphocytes) en comparaison de l'administration de NefTat et de gp120 contre NefTat  
5 seule (Goepfert et al., *Vaccine* 25 : 510 à 518 (2007) - l'étude « HVTN-041 »). Par conséquent, on a trouvé que (i) un vaccin comprenant de la gp120 avec un adjuvant comprenant QS-21 et 3D-MPL avait une médiocre réactivité inter-sous-type et (ii) il semble que la  
10 gp120 puisse avoir un impact préjudiciable sur des marqueurs potentiels antérieurement acceptés de l'efficacité de vaccins du VIH contenant d'autres antigènes.

A la lumière des résultats illustrés ci-dessus, on  
15 a pensé que l'utilisation de gp120 en tant qu'antigène vaccinal pour susciter des réponses humorales (en particulier lors d'une administration avec un adjuvant comprenant QS-21 et 3D-MPL) était d'utilisation limitée pour un vaccin à large portée de protection et, en  
20 conséquence, l'intérêt porté à cette protéine s'est étiolé.

L'essai du vaccin contre le VIH-1 RV144 a été le premier à démontrer des preuves de protection contre une infection par le VIH-1, avec une efficacité estimée  
25 du vaccin de 31,2 % (Rerks-Ngarm et al, *N Engl J Med* 361 : 2209 à 2220 (2009)). Le protocole consistait en quatre injections initiales d'ALVAC-VIH (vCP1521), et deux injections de rappel d'AIDSVAX B/E. L'ALVAC-VIH étaient administrées à la ligne de base (jour 0),  
30 4 semaines, 12 semaines et 24 semaines. L'AIDSVAX B/E a été administré aux semaines 12 et 24. L'ALVAC-VIH

(vCP1521) est un vecteur recombinant du poxvirus du canari contenant de la gp120 provenant du sous-type E du VIH-1 (CRF01\_AE) souche 92TH023, liée à la portion d'ancrage transmembranaire de gp41 (portant une  
5 déléation dans la région immunodominante) du sous-type B du VIH-1 souche LAI. Le vecteur contenait également les gènes gag et pol du VIH<sub>LAI</sub>. L'AIDSVAX B/E est une préparation de gp120 MN sous-type B du VIH-1 recombinant, de gp120 A244 sous-type E de CM244 et d'un  
10 adjuvant alun.

Afin d'identifier des corrélats de risque d'infection par le VIH-1 dans RV144, on a analysé des spécimens plasmatiques issus de participants à l'étude RV144 (Haynes et al., *N Engl J Med* 366 : 1275 à 1286  
15 (2012)). On a réalisé des dosages sur des échantillons, obtenus deux semaines après immunisation finale, auprès de 41 vaccinés qui sont devenus infectés et 205 vaccinés non infectés. Ces dosages examinaient les rôles des réponses de cellule T, d'anticorps IgG et  
20 d'anticorps IgA dans la modulation du risque d'infection. On a trouvé que des taux d'anticorps spécifiques à gp70-V1V2 (une protéine échafaudée portant les première et seconde régions variables de gp120 du VIH-1 fusionnées au virus de leucémie murine  
25 gp70 - voir Pinter et al., *Vaccine* 16(19) : 1803 à 1811 (1998)) étaient corrélés à un risque d'infection plus faible et que la liaison d'anticorps IgA plasmatiques à des protéines d'enveloppe se corrélait à un risque d'infection plus élevé. De surcroît, depuis que cette  
30 analyse a été effectuée, on a trouvé que des anticorps V2 induits dans l'essai RV144 réagissaient de manière

croisée avec de multiples sous-types du VIH-1 (Zolla-Pazner et al., *PlosOne*, 8(1) : e53629 (2013)). Par conséquent, pour les raisons ci-dessus, on a conclu que des vaccins qui induisent des taux plus élevés  
5 d'anticorps V1V2 pouvaient avoir une efficacité améliorée contre une infection par le VIH-1.

Pour produire un vaccin contre le VIH, il est donc hautement souhaitable d'identifier une composition capable de susciter un taux élevé d'anticorps  
10 spécifiques de la région V1V2 de la gp120.

Pour résumer, le travail antérieur dans le domaine a démontré que :

- la gp120 dans l'adjuvant AS02A (émulsion huile dans l'eau de QS-21 et 3D-MPL) ne conférait pas de  
15 protection contre un défi à un virus hétérologue dans un modèle de primate,

- la gp120 pouvait avoir un impact préjudiciable sur des marqueurs de l'efficacité de vaccin et

- les anticorps contre la région V1V2 de gp120  
20 constituaient un corrélat de protection contre le VIH-1.

Des compositions immunogènes de la présente invention peuvent avoir un ou plusieurs des avantages suivants en comparaison à des compositions de l'art  
25 antérieur :

(i) atteindre une réponse immunitaire humorale plus forte, par exemple un titre sérique plus élevé d'anticorps se liant à la région V1V2 de gp120,

(ii) atteindre une réponse immunitaire cellulaire  
30 plus forte, par exemple prolifération et libération de cytokines par des cellules T polyfonctionnelles,

- (iii) atteindre une réponse immunitaire humorale plus large, par exemple atteindre un titre d'anticorps se liant à la région V1V2 de gp120 dans une plus grande proportion de vaccinés,
- 5 (iv) atteindre une réponse immunitaire cellulaire plus large, par exemple prolifération et libération de cytokines par des cellules T polyfonctionnelles dans une plus grande proportion de vaccinés,
- (v) atteindre une plus forte réponse immunitaire  
10 humorale contre un sous-type particulier de VIH-1,
- (vi) atteindre une plus forte réponse immunitaire cellulaire contre un sous-type particulier de VIH-1,
- (vii) requérir un plus petit nombre de composants,
- (viii) requérir des composants non vivants,
- 15 (ix) impliquer un régime posologique plus simple,
- (x) être plus simple à produire,
- (xi) être plus facilement stocké,
- (xii) présenter une utilité dans le traitement ou la prévention d'une infection par le VIH-1,
- 20 (xiii) présenter une utilité dans le traitement ou la prévention d'une infection par le VIH-1 par un premier sous-type de VIH-1 lorsque le polypeptide apparenté à la gp120 de la composition est dérivé d'un deuxième sous-type de VIH-1,
- 25 (xiv) atteindre une réponse immunitaire plus durable, par exemple basée sur la grandeur de taux de réponse et/ou de répondeur,
- (xv) atteindre une plus grande réduction de charge virale,
- 30 (xvi) induire un niveau de protection plus élevé contre l'infection.

Les présents inventeurs ont administré des compositions contenant soit (a) gp120<sub>W61D</sub> et AS01B soit (b) gp120<sub>W61D</sub>, AS01B et NefTat à des souris et ont analysé la réponse sérologique des souris.

5 Les présents inventeurs ont trouvé étonnamment que des souris se voyant administrer gp120<sub>W61D</sub> et AS01B (sans NefTat) avaient un taux moyen plus élevé d'anticorps anti-V1V2 dans leur sérum que des souris se voyant administrer gp120<sub>W61D</sub>, AS01B et NefTat.

10 On pourrait prévoir que les compositions immunogènes revendiquées suscitent un taux élevé d'anticorps anti-V1V2, et aient une utilité dans la prophylaxie d'une infection par le VIH.

La présente invention propose une composition  
15 immunogène qui se présente sous la forme d'une dose humaine comprenant un polypeptide apparenté à la gp120 et un adjuvant, dans laquelle l'adjuvant comprend entre 10 et 40  $\mu$ g d'un lipopolysaccharide et entre 10 et 40  $\mu$ g d'une fraction de saponine immunologiquement  
20 active dérivée de l'écorce de Quillaja saponaria Molina présentée sous la forme d'un liposome.

Il est également proposé une composition immunogène comprenant un polypeptide apparenté à la gp120 et un adjuvant, dans laquelle l'adjuvant comprend  
25 un lipopolysaccharide et une fraction de saponine immunologiquement active dérivée de l'écorce de Quillaja saponaria Molina présentée sous la forme d'un liposome dans laquelle :

(i) la conductivité de la composition est de  
30 13 mS/cm ou moins ; et/ou

(ii) la concentration en sels dans ladite composition est de 130 mM ou moins, et/ou

(iii) la concentration en chlorure de sodium dans ladite composition est de 130 mM ou moins.

5 Il est en outre proposé une composition immunogène comprenant un polypeptide apparenté à la gp120 et un adjuvant, dans laquelle l'adjuvant comprend un lipopolysaccharide et une fraction de saponine immunologiquement active dérivée de l'écorce de  
 10 Quillaja saponaria Molina présentée sous la forme d'un liposome et dans laquelle la composition est sensiblement dépourvue de polypeptide apparenté à NefTat, dans lequel le polypeptide apparenté à NefTat est un polypeptide consistant en SEQ ID NO : 4.

15 Figure 1 : comparaison de sérologie anti-V1V2 de souris.

#### Description des séquences

SEQ ID NO : 1 gp120<sub>W61D</sub>  
 SEQ ID NO : 2 Nef  
 20 SEQ ID NO : 3 Tat  
 SEQ ID NO : 4 NefTat  
 SEQ ID NO : 5 gp120<sub>ZM18</sub>  
 SEQ ID NO : 6 séquence de polynucléotide codant gp120<sub>ZM18</sub>  
 25 SEQ ID NO : 7 gp120<sub>ZM18</sub> native  
 SEQ ID NO : 8 séquence de polynucléotide codant gp120<sub>ZM18</sub> native.

#### Polypeptides

Telle qu'utilisée ici, l'expression « un  
 30 polypeptide apparenté à la gp120 » se réfère à un polypeptide comprenant la région V1V2 de SEQ ID NO : 1

ou un dérivé ou fragment immunogène de la région V1V2 de SEQ ID NO : 1, ou un polypeptide comprenant la région V1V2 de SEQ ID NO : 5 ou un dérivé ou fragment immunogène de la région V1V2 de SEQ ID NO : 5.

5 Adéquatement, le polypeptide apparenté à la gp120 se réfère à un polypeptide consistant en la région V1V2 de SEQ ID NO : 1 ou un dérivé ou fragment immunogène de la région V1V2 de SEQ ID NO : 1, ou un polypeptide consistant en la région V1V2 de SEQ ID NO : 5 ou un

10 dérivé ou fragment immunogène de la région V1V2 de SEQ ID NO : 5.

La région V1V2 d'un polypeptide apparenté à la gp120 est l'étirement de résidus définis par deux résidus cystéine particuliers qui forment un pont

15 disulfure dans l'état replié du polypeptide. La région V1V2 elle-même exclut ces résidus cystéine. Un exemple de la région V1V2 dans le cas du polypeptide gp120<sub>W61D</sub> (SEQ ID NO : 1) est l'étirement de résidus allant du résidu 90 au résidu 184. L'homme du métier appréciera

20 que la position de ces résidus cystéine donc la position de la région V1V2 dans un polypeptide apparenté à la gp120 donné puisse varier. Cela est illustré par un autre polypeptide apparenté à la gp120, gp120<sub>ZM18</sub> (SEQ ID NO : 5) dans lequel la région V1V2 est

25 l'étirement de résidus allant des résidus 90 à 172.

Adéquatement, l'expression « un polypeptide apparenté à la gp120 » se réfère à un polypeptide comprenant SEQ ID NO : 1 ou un dérivé ou fragment immunogène de SEQ ID NO : 1, ou un polypeptide

30 comprenant SEQ ID NO : 5 ou un dérivé ou fragment immunogène de SEQ ID NO : 5. Adéquatement, le

polypeptide apparenté à la gp120 se réfère à un polypeptide consistant en SEQ ID NO : 1 ou un dérivé ou fragment immunogène de SEQ ID NO : 1, ou un polypeptide consistant en SEQ ID NO : 5 ou un dérivé ou fragment  
5 immunogène de SEQ ID NO : 5.

Tel qu'utilisé ici, le terme « dérivé » se réfère à un polypeptide qui est modifié par rapport à la séquence de référence. Les dérivés immunogènes sont suffisamment similaires à la séquence de référence pour  
10 rester capable de susciter une réponse immunitaire contre la région V1V2 de la séquence de référence. Adéquatement, les dérivés immunogènes sont suffisamment similaires à la séquence de référence pour conserver d'autres propriétés immunogènes clés de la séquence de  
15 référence telles que le fait d'éviter l'introduction d'épitopes immunodominants. Un dérivé peut, par exemple, comprendre une version modifiée de la séquence de référence ou, en variante, peut consister en une version modifiée de la séquence de référence.

20 Adéquatement, le polypeptide apparenté à la gp120 comprend ou consiste en un polypeptide de gp120 dérivé de VIH-1 ou VIH-2, adéquatement des groupes M, N, O ou P du VIH-1, adéquatement du sous-type A, B, C, D, E, F, G, H, I, J ou K du groupe M. Adéquatement, le  
25 polypeptide apparenté à la gp120 comprend ou consiste en un polypeptide de gp120 dérivé du VIH-1, adéquatement du groupe M, plus adéquatement du sous-type B. Par exemple, le polypeptide apparenté à la gp120 comprend ou consiste en le polypeptide de gp120  
30 provenant du VIH-1 ou du VIH-2, adéquatement du VIH-1 du groupe M, N, O ou P, adéquatement d'un sous-type A,

B, C, D, E, F, G, H, I, J ou K de VIH-1 de groupe M. Adéquatement, le polypeptide apparenté à la gp120 comprend ou consiste en le polypeptide de gp120 provenant du VIH-1, adéquatement d'un groupe M du VIH-1, plus adéquatement d'un groupe M sous-type B du VIH-1.

L'homme du métier reconnaîtra que des substitutions, délétions ou additions individuelles au polypeptide apparenté à la gp120 qui modifient, ajoutent ou délètent un seul acide aminé ou un petit pourcentage d'acides aminés est un « dérivé immunogène » où la ou les modifications conduisent à la substitution/délétion/addition de résidus qui n'impactent sensiblement pas la fonction immunogène. Par « n'impactent sensiblement pas la fonction immunogène », on veut dire au moins 50 %, adéquatement, au moins 75 % et adéquatement au moins 90 % de l'activité de la séquence de référence dans un dosage du taux d'anticorps se liant à la région V1V2 de gp120 (par exemple, ELISA) produits à un instant donné après immunisation avec le polypeptide apparenté à la gp120.

Des tables de substitutions conservatives fournissant des acides aminés fonctionnellement similaires sont bien connues dans l'art. En général, de telles substitutions conservatives entrent dans l'un des groupements d'acides aminés spécifiés ci-dessous, bien que dans certaines circonstances, d'autres substitutions puissent être possibles sans affecter sensiblement les propriétés immunogènes de l'antigène. Les huit groupes suivants contiennent chacun des acides

aminés qui sont typiquement des substitutions conservatives les unes pour les autres :

- 1) alanine (A), glycine (G);
  - 2) acide aspartique (D), acide glutamique (E) ;
  - 5 3) asparagine (N), glutamine (Q) ;
  - 4) arginine (R), lysine (K) ;
  - 5) isoleucine (I), leucine (L), méthionine (M),  
valine (V) ;
  - 6) phénylalanine (F), tyrosine (Y),
  - 10 tryptophane (W) ;
  - 7) sérine (S), thréonine (T) ; et
  - 8) cystéine (C), méthionine (M)
- (voir, par exemple, Creighton, Proteins 1984).

Adéquatement, de telles substitutions  
15 n'apparaissent pas dans la région d'un épitope, et  
n'ont donc pas d'impact significatif sur les propriétés  
immunogènes de l'antigène. Adéquatement, un dérivé  
immunogène contiendra des substitutions allant jusqu'à  
20 résidus (par exemple jusqu'à 5 résidus) par rapport  
20 à la séquence de référence.

Les dérivés immunogènes peuvent également inclure  
ceux dans lesquels les acides aminés additionnels sont  
insérés par rapport à la séquence de référence.  
Adéquatement, de telles insertions ne se produisent pas  
25 dans la région d'un épitope, et n'ont donc pas d'impact  
significatif sur les propriétés immunogènes de  
l'antigène. Adéquatement, un dérivé immunogène  
contiendra des additions de jusqu'à 5 résidus (par  
exemple 1 ou 2 résidus) en 0 à 5 emplacements (par  
30 exemple 0 à 2 emplacements) par rapport à la séquence  
de référence. Un exemple d'insertion inclut un court

étirement de résidus histidine (par exemple 6 résidus) pour assister la purification de l'antigène en question.

Les dérivés immunogènes incluent ceux dans  
5 lesquels les acides aminés ont été délétés par rapport à la séquence de référence. Adéquatement, de telles délétions ne se produisent pas dans la région d'un épitope, et n'ont donc pas d'impact significatif sur les propriétés immunogènes de l'antigène. Adéquatement,  
10 un dérivé immunogène contiendra des délétions allant jusqu'à 5 résidus (par exemple 1 ou 2 résidus) en 0 à 5 emplacements (par exemple 0 à 2 emplacements) par rapport à la séquence de référence.

Adéquatement, le polypeptide apparenté à la gp120  
15 comprendra, tel que consistera en, un dérivé immunogène de la région V1V2 de SEQ ID NO : 1 ayant un petit nombre de délétions, insertions et/ou substitutions, tel qu'un dérivé de la région V1V2 de SEQ ID NO : 1 ayant des délétions de jusqu'à 5 résidus (par exemple 1  
20 ou 2 résidus) en 0 à 5 emplacements (par exemple 0 à 2 emplacements), des insertions jusqu'à 5 résidus (par exemple 1 ou 2 résidus) en 0 à 5 emplacements (par exemple 0 à 2 emplacements) et des substitutions de jusqu'à 20 résidus (par exemple jusqu'à 5 résidus).

25 En variante, le polypeptide apparenté à la gp120 comprendra, tel que consistera en, un dérivé immunogène de la région V1V2 de SEQ ID NO : 5 ayant un petit nombre de délétions, insertions et/ou substitutions, tel qu'un dérivé de la région V1V2 de SEQ ID NO : 5  
30 ayant des délétions de jusqu'à 5 résidus (par exemple 1 ou 2 résidus) en 0 à 5 emplacements (par exemple 0 à 2

emplacements), des insertions de jusqu'à 5 résidus (par exemple 1 ou 2 résidus) en 0 à 5 emplacements (par exemple 0 à 2 emplacements) et des substitutions de jusqu'à 20 résidus (par exemple jusqu'à 5 résidus).

5 Adéquatement, le polypeptide apparenté à la gp120 comprendra, tel que consistera en, un dérivé immunogène de SEQ ID NO : 1 ayant un petit nombre de délétions, insertions et/ou substitutions, tel qu'un dérivé de SEQ ID NO : 1 ayant des délétions de jusqu'à 5 résidus  
10 en 0 à 5 emplacements, des insertions de jusqu'à 5 résidus en 0 à 5 emplacements et des substitutions de jusqu'à 20 résidus.

En variante, le polypeptide apparenté à la gp120 comprendra, tel que consistera en, un dérivé immunogène  
15 de SEQ ID NO : 5 ayant un petit nombre de délétions, insertions et/ou substitutions, tel qu'un dérivé de SEQ ID NO : 5 ayant des délétions de jusqu'à 5 résidus en 0 à 5 emplacements, des insertions de jusqu'à 5 résidus en 0 à 5 emplacements et des substitutions de  
20 jusqu'à 20 résidus.

Adéquatement, le polypeptide apparenté à la gp120 comprend un polypeptide avec au moins 70 % d'identité, plus adéquatement au moins 80 % d'identité, plus adéquatement au moins 85 % d'identité, plus  
25 adéquatement au moins 90 % d'identité, plus adéquatement au moins 95 % d'identité, plus adéquatement au moins 98 % d'identité, plus adéquatement au moins 99 % d'identité avec la région V1V2 de SEQ ID NO : 1. Adéquatement, le polypeptide  
30 apparenté à la gp120 comprend la région V1V2 de SEQ ID NO : 1.

Adéquatement, le polypeptide apparenté à la gp120  
consiste en un polypeptide avec au moins 70 %  
d'identité, adéquatement au moins 80 % d'identité, plus  
adéquatement au moins 85 % d'identité, plus  
5 adéquatement au moins 90 % d'identité, plus  
adéquatement au moins 95 % d'identité, plus  
adéquatement au moins 98 % d'identité, plus  
adéquatement au moins 99 % d'identité avec la région  
V1V2 de SEQ ID NO : 1. Adéquatement, le polypeptide  
10 apparenté à la gp120 consiste en la région V1V2 de  
SEQ ID NO : 1.

Adéquatement, le polypeptide apparenté à la gp120  
comprend un polypeptide avec au moins 70 % d'identité,  
plus adéquatement au moins 80 % d'identité, plus  
15 adéquatement au moins 85 % d'identité, plus  
adéquatement au moins 90 % d'identité, plus  
adéquatement au moins 95 % d'identité, plus  
adéquatement au moins 98 % d'identité, plus  
adéquatement au moins 99 % d'identité avec la région  
20 V1V2 de SEQ ID NO : 5. Adéquatement, le polypeptide  
apparenté à la gp120 comprend la région V1V2 de  
SEQ ID NO : 5.

Adéquatement, le polypeptide apparenté à la gp120  
consiste en un polypeptide avec au moins 70 %  
25 d'identité, adéquatement au moins 80 % d'identité, plus  
adéquatement au moins 85 % d'identité, plus  
adéquatement au moins 90 % d'identité, plus  
adéquatement au moins 95 % d'identité, plus  
adéquatement au moins 98 % d'identité, plus  
30 adéquatement au moins 99 % d'identité avec la région  
V1V2 de SEQ ID NO : 5. Adéquatement, le polypeptide

apparenté à la gp120 consiste en la région V1V2 de  
SEQ ID NO : 5.

Adéquatement, le polypeptide apparenté à la gp120  
comprend un polypeptide avec au moins 70 % d'identité,  
5 plus adéquatement au moins 80 % d'identité, plus  
adéquatement au moins 85 % d'identité, plus  
adéquatement au moins 90 % d'identité, plus  
adéquatement au moins 95 % d'identité, plus  
adéquatement au moins 98 % d'identité, plus  
10 adéquatement au moins 99 % d'identité avec  
SEQ ID NO : 1. Adéquatement, le polypeptide apparenté à  
la gp120 comprend SEQ ID NO : 1.

Adéquatement, le polypeptide apparenté à la gp120  
consiste en un polypeptide avec au moins 70 %  
15 d'identité, adéquatement au moins 80 % d'identité, plus  
adéquatement au moins 85 % d'identité, plus  
adéquatement au moins 90 % d'identité, plus  
adéquatement au moins 95 % d'identité, plus  
adéquatement au moins 98 % d'identité, plus  
20 adéquatement au moins 99 % d'identité avec  
SEQ ID NO : 1. Adéquatement, le polypeptide apparenté à  
la gp120 consiste en SEQ ID NO : 1.

En variante, le polypeptide apparenté à la gp120  
comprend un polypeptide avec au moins 70 % d'identité,  
25 plus adéquatement au moins 80 % d'identité, plus  
adéquatement au moins 85 % d'identité, plus  
adéquatement au moins 90 % d'identité, plus  
adéquatement au moins 95 % d'identité, plus  
adéquatement au moins 98 % d'identité, plus  
30 adéquatement au moins 99 % d'identité avec

SEQ ID NO : 5. Adéquatement, le polypeptide apparenté à la gp120 comprend SEQ ID NO : 5.

Adéquatement, le polypeptide apparenté à la gp120 consiste en un polypeptide avec au moins 70 %  
5 d'identité, adéquatement au moins 80 % d'identité, plus adéquatement au moins 85 % d'identité, plus adéquatement au moins 90 % d'identité, plus adéquatement au moins 95 % d'identité, plus  
10 adéquatement au moins 98 % d'identité, plus adéquatement au moins 99 % d'identité avec SEQ ID NO : 5. Adéquatement, le polypeptide apparenté à la gp120 consiste en SEQ ID NO : 5.

Les termes « identique » ou « % d'identité », dans le contexte de deux séquences de polypeptides ou plus,  
15 se réfèrent à deux séquences ou sous-séquences ou plus qui sont les mêmes ou ont un pourcentage spécifié de résidus d'acides aminés qui sont les mêmes sur une région spécifiée, lorsqu'ils sont comparés et alignés pour une correspondance maximale sur une fenêtre de  
20 comparaison, ou une région désignée telle que mesurée en utilisant l'un des algorithmes de comparaison de séquences suivants ou par alignement manuel et inspection visuelle. Cette définition se réfère également au complément d'une séquence d'essai.  
25 Facultativement, l'identité existe sur une région qui a une longueur d'au moins 300 acides aminés, telle qu'au moins 400 acides aminés ou au moins 500 acides aminés. Le plus adéquatement, la comparaison est réalisée sur une fenêtre correspondant à la longueur entière de la  
30 séquence de référence (en opposition à la séquence dérivée).

Pour une comparaison de séquences, une séquence agit comme la séquence de référence, à laquelle les séquences d'essai sont comparées. Lors de l'utilisation d'un algorithme de comparaison de séquences, des séquences d'essai et de référence sont entrées dans un ordinateur, des coordonnées de sous-séquence sont désignées, si nécessaire, et des paramètres de programme d'algorithme de séquence sont désignés. Des paramètres de programme par défaut peuvent être utilisés, ou bien des paramètres alternatifs peuvent être désignés. L'algorithme de comparaison de séquences calcule alors les identités de séquence en pourcentage pour les séquences d'essai par rapport aux séquences de référence, en se basant sur les paramètres de programme.

Une « fenêtre de comparaison », telle qu'utilisée ici, se réfère à un segment dans lequel une séquence peut être comparée à une séquence de référence du même nombre de positions contiguës après que les deux séquences sont alignées optimalement. Des méthodes d'alignement de séquences pour comparaison sont bien connues dans l'art. Un alignement optimal de séquences pour comparaison peut être conduit, par exemple, par l'algorithme d'homologie locale de Smith & Waterman, *Adv. Appl. Math.* 2:482 (1981), par l'algorithme d'alignement d'homologie de Needleman & Wunsch, *J. Mol. Biol.* 48 : 443 (1970), par la méthode de recherche de similarité de Pearson & Lipman, *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 85 : 2444 (1988), par des implémentations informatisées de ces algorithmes (GAP, BESTFIT, FASTA et TFASTA dans le progiciel Wisconsin Genetics, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI),

ou par alignement manuel ou inspection visuelle (voir, par exemple, *Curr Pro Mol Biol* (Ausubel et al., éd. 1995 supplément)).

Un exemple d'un algorithme qui convient pour  
5 déterminer l'identité de séquence en pour cent et la similarité de séquence est les algorithmes BLAST et BLAST 2.0, qui sont décrits dans Altschul et al., *Nuc. Acids Res.* 25 : 3389 à 3402 (1977) et Altschul et al., *J. Mol. Biol.* 215 : 403 à 410 (1990), respectivement.

10 Un logiciel pour réaliser des analyses BLAST est publiquement disponible auprès du National Center for Biotechnology Information (site internet [www.ncbi.nlm.nih.gov/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/)). Cet algorithme implique tout d'abord l'identification de paires de séquences de  
15 haute cotation (PSH) en identifiant de courts mots de longueur  $W$  dans la séquence d'interrogation, qui soit concordent avec, soit satisfont une cote seuil  $T$  de de valeur positive lorsqu'elles sont alignées avec un mot de la même longueur dans une séquence de base de  
20 données.  $T$  est désigné comme le seuil de cote de mot de voisinage (Altschul et al., *supra*). Ces occurrences de mots de voisinage initiaux agissent comme des germes pour initier des recherches en vue de trouver de plus  
25 longues PSH les contenant. Les occurrences de mots sont étendues dans les deux directions le long de chaque séquence tant que la cote d'alignement cumulative peut être augmentée. Des cotes cumulatives sont calculées en utilisant, pour des séquences de nucléotides, les paramètres  $M$  (cote de récompense pour une paire de  
30 résidus concordants ; toujours  $> 0$ ) et  $N$  (cote de pénalité pour des résidus non concordants ; toujours

< 0). Pour des séquences d'acides aminés, une matrice de cotation est utilisée pour calculer la cote cumulative. Une extension des occurrences de mots dans chaque direction est arrêtée lorsque : la cote d'alignement cumulative chute de la quantité X par rapport à sa valeur maximale atteinte ; la cote cumulative passe à zéro ou moins, en raison de l'accumulation d'un ou plusieurs alignements de résidus de cotation négative ; ou la fin de l'une ou l'autre des séquences est atteinte. Les paramètres W, T et X de l'algorithme BLAST déterminent la sensibilité et la vitesse de l'alignement. Le programme BLASTN (pour des séquences de nucléotides) utilise comme défauts une longueur de mot (W) de 11, une attente (E) de 10, M = 5, N = -4 et une comparaison des deux brins. Pour des séquences d'acides aminés, le programme BLASTP utilise comme défauts une longueur de mot de 3, une attente (E) de 10, et la matrice de cotation BLOSUM62 (voir Henikoff & Henikoff, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89 : 10915 (1989)) des alignements (B) de 50, une attente (E) de 10, M = 5, N = -4, et une comparaison des deux brins.

L'algorithme BLAST réalise également une analyse statistique de la similarité entre deux séquences (voir, par exemple, Karlin & Altschul, *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 90 : 5873 à 5787 (1993)). Une mesure de similarité fournie par l'algorithme BLAST est la plus petite probabilité de somme (P(N)), qui fournit une indication de la probabilité par laquelle une concordance entre deux séquences de nucléotides ou d'acides aminés se produirait par chance. Par exemple,

un acide nucléique est considéré similaire à une séquence de référence si la plus petite probabilité de somme dans une comparaison de l'acide nucléique d'essai à l'acide nucléique de référence est inférieure à environ 0,2, plus adéquatement inférieure à 0,01, et le plus adéquatement inférieur à environ 0,001.

Un « fragment immunogène » contiendra une séquence contiguë d'acides aminés provenant du polypeptide apparenté à la gp120 dont il est un fragment. Adéquatement, le fragment contient au moins 15 à 50 acides aminés, au moins 51 à 150, au moins 300 acides aminés, au moins 350, au moins 400 ou au moins 450 acides aminés contigus provenant de SEQ ID NO : 1.

En variante, le fragment contient au moins 15 à 50 acides aminés, au moins 51 à 150 acides aminés, au moins 300, au moins 350, au moins 400 ou au moins 450 acides aminés contigus provenant de SEQ ID NO : 5.

Le fragment immunogène restera capable de susciter une réponse immunitaire contre la région V1V2 de la séquence de référence. Par « reste capable de susciter une réponse immunitaire contre la région V1V2 de la séquence de référence », on veut dire au moins 50 %, adéquatement au moins 75 % et adéquatement au moins 90 % d'activité de la séquence de référence dans le dosage du taux d'anticorps se liant à la région V1V2 de gp120 (par exemple, ELISA) produits à un instant donné après immunisation avec le polypeptide apparenté à gp120.

Le polypeptide apparenté à gp120 peut, par exemple, contenir 2 000 résidus d'acides aminés ou

moins, tels que 1 500 résidus d'acides aminés ou moins, en particulier 1 000 résidus d'acides aminés ou moins, spécialement 800 résidus d'acides aminés ou moins.

Les protéines de fusion (également connues sous le nom de protéines chimériques) sont des protéines créées par la liaison covalente de deux séquences de polypeptides ou plus qui ne sont pas jointes dans la nature, tel que par une liaison peptidique. Par exemple, le polypeptide apparenté à gp120 peut être fourni sous la forme d'une protéine de fusion comprenant également un second antigène de VIH.

La dose d'un polypeptide apparenté à gp120 est adéquatement capable de produire une réponse immunitaire adéquate chez un humain tout en ayant un profil de réactogénicité acceptable.

Adéquatement, la composition immunogène comprend environ 1 à 200  $\mu\text{g}$  de polypeptide apparenté à la gp120, adéquatement entre 1 et 100  $\mu\text{g}$ , adéquatement entre 2 et 50  $\mu\text{g}$ , tel qu'entre 3 et 30  $\mu\text{g}$ , en particulier entre 5 et 15  $\mu\text{g}$  ou entre 16 et 25  $\mu\text{g}$ , entre 9 et 11  $\mu\text{g}$  ou entre 19 et 21  $\mu\text{g}$ , le plus adéquatement de 10  $\mu\text{g}$  ou 20  $\mu\text{g}$ .

Adéquatement, la composition immunogène est fournie dans un volume qui convient à une administration à un humain sous forme de dose unique. Le volume qui peut être administré à un humain dépend de la méthode, de la voie et/ou de l'emplacement de l'administration. Dans un mode de réalisation, la dose humaine est entre 0,1 et 1 mL, plus adéquatement entre 0,3 et 0,75 mL, tel qu'entre 0,45 et 0,55 mL, en particulier 0,5 mL. Des volumes entre 0,1 et 1 mL

conviennent plus particulièrement à une administration par des voies telles que l'apport sous-cutané et en particulier l'apport intramusculaire. Dans un autre mode de réalisation, la dose humaine est entre 0,05 et 5 0,2 mL, adéquatement entre 0,075 et 0,15 mL, en particulier 0,1 mL. Les volumes entre 0,05 et 0,2 mL conviennent tout particulièrement à une administration par des voies dans lesquelles un volume limité peut être administré, telle que l'apport intradermique.

10 Un polypeptide de gp120 peut être préparé par des méthodes décrites dans l'art ou des méthodes qui leur sont analogues.

Telle qu'utilisée ici, l'expression « un polypeptide apparenté à Nef » se réfère au polypeptide 15 fourni dans SEQ ID NO : 2, ou un dérivé ou fragment immunogène de celui-ci.

Telle qu'utilisée ici, l'expression « un polypeptide apparenté à Tat » se réfère au polypeptide 20 fourni dans SEQ ID NO : 3, ou un dérivé ou fragment immunogène de celui-ci.

Telle qu'utilisée ici, l'expression « un polypeptide apparenté à NefTat » se réfère au polypeptide fourni dans SEQ ID NO : 4, ou un dérivé ou 25 fragment immunogène de celui-ci.

Adéquatement, le polypeptide apparenté à Nef 30 comprendra, tel que consistera en, un dérivé immunogène de SEQ ID NO : 2, ayant facultativement un petit nombre de délétions, insertions et/ou substitutions. Un exemple est un dérivé de SEQ ID NO : 2 ayant des délétions de jusqu'à 5 résidus en 0 à 5 emplacements, des insertions de jusqu'à 5 résidus en 0 à

5 emplacements et des substitutions de jusqu'à 20 résidus.

Adéquatement, le polypeptide apparenté à Tat comprendra, tel que consistera en, un dérivé immunogène de SEQ ID NO : 3, ayant facultativement un petit nombre de délétions, insertions et/ou substitutions. Un exemple est un dérivé de SEQ ID NO : 3 ayant des délétions de jusqu'à 5 résidus en 0 à 5 emplacements, des insertions de jusqu'à 5 résidus en 0 à 5 emplacements et des substitutions de jusqu'à 20 résidus.

Adéquatement, le polypeptide apparenté à NefTat comprendra, tel que consistera en, un dérivé immunogène de SEQ ID NO : 4, ayant facultativement un petit nombre de délétions, insertions et/ou substitutions. Un exemple est un dérivé de SEQ ID NO : 4 ayant des délétions de jusqu'à 5 résidus en 0 à 5 emplacements, des insertions de jusqu'à 5 résidus en 0 à 5 emplacements et des substitutions de jusqu'à 20 résidus.

Adéquatement, le polypeptide apparenté à Nef comprend SEQ ID NO : 2. Adéquatement, le polypeptide apparenté à Nef comprend un polypeptide avec au moins 99 % d'identité, adéquatement au moins 98 % d'identité, plus adéquatement au moins 95 % d'identité, plus adéquatement au moins 90 % d'identité, plus adéquatement au moins 85 % d'identité, plus adéquatement au moins 80 % d'identité, plus adéquatement au moins 75 % d'identité, plus adéquatement au moins 70 % d'identité avec SEQ ID NO : 2.

Adéquatement, le polypeptide apparenté à Tat comprend SEQ ID NO : 3. Adéquatement, le polypeptide apparenté à Tat comprend un polypeptide avec au moins 99 % d'identité, adéquatement au moins 98 % d'identité, 5 plus adéquatement au moins 95 % d'identité, plus adéquatement au moins 90 % d'identité, plus adéquatement au moins 85 % d'identité, plus adéquatement au moins 80 % d'identité, plus adéquatement au moins 75 % d'identité, plus 10 adéquatement au moins 70 % d'identité avec SEQ ID NO : 3.

Adéquatement, le polypeptide apparenté à NefTat comprend SEQ ID NO : 4. Adéquatement, le polypeptide apparenté à NefTat comprend un polypeptide avec au moins 99 % d'identité, adéquatement au moins 98 % 15 d'identité, plus adéquatement au moins 95 % d'identité, plus adéquatement au moins 90 % d'identité, plus adéquatement au moins 85 % d'identité, plus adéquatement au moins 80 % d'identité, plus 20 adéquatement au moins 75 % d'identité, plus adéquatement au moins 70 % d'identité avec SEQ ID NO : 4.

Adéquatement, le polypeptide apparenté à Nef consiste en SEQ ID NO : 2. Adéquatement, le polypeptide 25 apparenté à Nef consiste en un polypeptide avec au moins 99 % d'identité, adéquatement au moins 98 % d'identité, plus adéquatement au moins 95 % d'identité, plus adéquatement au moins 90 % d'identité, plus adéquatement au moins 85 % d'identité, plus 30 adéquatement au moins 80 % d'identité, plus adéquatement au moins 75 % d'identité, plus

adéquatement au moins 70 % d'identité avec SEQ ID NO : 2.

Adéquatement, le polypeptide apparenté à Tat consiste en SEQ ID NO : 3. Adéquatement, le polypeptide  
5 apparenté à Tat consiste en un polypeptide avec au moins 99 % d'identité, adéquatement au moins 98 % d'identité, plus adéquatement au moins 95 % d'identité, plus adéquatement au moins 90 % d'identité, plus adéquatement au moins 85 % d'identité, plus  
10 adéquatement au moins 80 % d'identité, plus adéquatement au moins 75 % d'identité, plus adéquatement au moins 70 % d'identité avec SEQ ID NO : 3.

Adéquatement, le polypeptide apparenté à NefTat  
15 consiste en SEQ ID NO : 4. Adéquatement, le polypeptide apparenté à NefTat consiste en un polypeptide avec au moins 99 % d'identité, adéquatement au moins 98 % d'identité, plus adéquatement au moins 95 % d'identité, plus adéquatement au moins 90 % d'identité, plus  
20 adéquatement au moins 85 % d'identité, plus adéquatement au moins 80 % d'identité, plus adéquatement au moins 75 % d'identité, plus adéquatement au moins 70 % d'identité avec SEQ ID NO : 4.

25 Dans un mode de réalisation, un polypeptide apparenté à Nef est un polypeptide apparenté à NefTat. Dans un autre mode de réalisation, un polypeptide apparenté à Tat est un polypeptide apparenté à NefTat.

Des dérivés particuliers d'un polypeptide  
30 apparenté à Nef, polypeptide apparenté à Tat ou polypeptide apparenté à NefTat incluent ceux avec des

résidus His additionnels à la terminaison N (par exemple, une étiquette polyhistinine de six résidus His, qui peut être utilisée pour une purification par affinité au nickel).

5 Adéquatement, les compositions de la présente invention sont sensiblement dépourvues d'un polypeptide apparenté à Nef. Adéquatement, les compositions de la présente invention contiennent un rapport polypeptide apparenté à Nef : polypeptide apparenté à la gp120 de  
10 moins de 1 : 20, adéquatement de moins de 1 : 25, adéquatement de moins de 1 : 50, adéquatement de moins de 1 : 100, adéquatement de moins de 1 : 200, adéquatement de moins de 1 : 500, plus adéquatement de moins de 1 : 1000 en poids.

15 Adéquatement, les compositions de la présente invention contiennent un polypeptide apparenté à Nef à un taux de moins de 5  $\mu\text{g}$ , adéquatement de moins de 4  $\mu\text{g}$ , adéquatement de moins de 3  $\mu\text{g}$ , adéquatement de moins de 2  $\mu\text{g}$ , adéquatement de moins de 1  $\mu\text{g}$ , adéquatement de  
20 moins de 0,5  $\mu\text{g}$ , adéquatement de moins de 0,2  $\mu\text{g}$ , adéquatement de moins de 0,1  $\mu\text{g}$ , adéquatement de moins de 0,05  $\mu\text{g}$ , plus adéquatement de moins de 0,01  $\mu\text{g}$  par dose humaine.

Le plus adéquatement, les compositions de la  
25 présente invention sont dépourvues d'un polypeptide apparenté à Nef.

Adéquatement, les compositions de la présente invention sont sensiblement dépourvues d'un polypeptide apparenté à Tat. Adéquatement, les compositions de la  
30 présente invention contiennent un rapport polypeptide apparenté à Tat : polypeptide apparenté à la gp120 de

moins de 1 : 20, adéquatement de moins de 1 : 25, adéquatement de moins de 1 : 50, adéquatement de moins de 1 : 100, adéquatement de moins de 1 : 200, adéquatement de moins de 1 : 500, plus adéquatement de  
5 moins de 1 : 1000 en poids.

Adéquatement, les compositions de la présente invention contiennent un polypeptide apparenté à Tat à un taux de moins de 5  $\mu\text{g}$ , adéquatement de moins de 4  $\mu\text{g}$ , adéquatement de moins de 3  $\mu\text{g}$ , adéquatement de moins de  
10 2  $\mu\text{g}$ , adéquatement de moins de 1  $\mu\text{g}$ , adéquatement de moins de 0,5  $\mu\text{g}$ , adéquatement de moins de 0,2  $\mu\text{g}$ , adéquatement de moins de 0,1  $\mu\text{g}$ , adéquatement de moins de 0,05  $\mu\text{g}$ , plus adéquatement de moins de 0,01  $\mu\text{g}$  par dose humaine.

15 Le plus adéquatement, les compositions de la présente invention sont dépourvues d'un polypeptide apparenté à Tat.

Adéquatement, les compositions de la présente invention sont sensiblement dépourvues d'un polypeptide  
20 apparenté à NefTat. Adéquatement, les compositions de la présente invention contiennent un rapport polypeptide apparenté à NefTat : polypeptide apparenté à la gp120 de moins de 1 : 20, adéquatement de moins de 1 : 25, adéquatement de moins de 1 : 50, adéquatement  
25 de moins de 1 : 100, adéquatement de moins de 1 : 200, adéquatement de moins de 1 : 500, plus adéquatement de moins de 1 : 1000 en poids.

Adéquatement, les compositions de la présente invention contiennent un polypeptide apparenté à NefTat  
30 à un taux de moins de 5  $\mu\text{g}$ , adéquatement de moins de 4  $\mu\text{g}$ , adéquatement de moins de 3  $\mu\text{g}$ , adéquatement de

moins de 2  $\mu\text{g}$ , adéquatement de moins de 1  $\mu\text{g}$ ,  
adéquatement de moins de 0,5  $\mu\text{g}$ , adéquatement de moins  
de 0,2  $\mu\text{g}$ , adéquatement de moins de 0,1  $\mu\text{g}$ ,  
adéquatement de moins de 0,05  $\mu\text{g}$ , plus adéquatement de  
5 moins de 0,01  $\mu\text{g}$  par dose humaine.

Le plus adéquatement, les compositions de la  
présente invention sont dépourvues d'un polypeptide  
apparenté à NefTat.

La présence de protéines de VIH supplémentaires  
10 peut augmenter l'efficacité de la composition de  
l'invention. Adéquatement, la composition de  
l'invention peut comprendre des protéines  
additionnelles qui peuvent être des produits  
supplémentaires du gène *Env* (tels que gp160 et gp41 ou  
15 un polypeptide apparenté à la gp120 supplémentaire),  
les produits des gènes gag et pol (tels que MA, CA, SP1,  
NC, SP2 et P6 ; et RT, RNase H, IN et PR,  
respectivement) et d'autres protéines non structurales  
telles que Rev, Vif, Vpr et Vpu (ou des dérivés ou  
20 fragments immunogènes de celles-ci).

Le gène gag du VIH code une protéine précurseur  
p55, qui peut s'assembler spontanément en particules  
semblables à un virus (PSV) immatures. Le précurseur  
est clivé protéolytiquement en les protéines  
25 structurales majeures CA (capside) et MA (matrice), et  
en plusieurs protéines plus petites. Tant la protéine  
précurseur p55 que ses dérivés majeurs CA et MA peuvent  
être considérés comme des antigènes vaccinaux  
appropriés qui peuvent augmenter l'efficacité de la  
30 composition de l'invention. Le précurseur p55 et la  
protéine de capsid CA peuvent être utilisés comme des

PSV ou comme des protéines monomériques. Adéquatement, la composition de la présente invention peut comprendre une ou plusieurs de ces protéines.

Adéquatement, la composition de la présente invention peut comprendre un polynucléotide codant un polypeptide décrit ci-dessus incluant, par exemple, un polypeptide apparenté à la gp120. Le polynucléotide peut se présenter sous la forme d'ADN plasmidique ou sous la forme d'un vecteur vivant recombinant.

Dans un mode de réalisation, la composition de la présente invention ne comprend pas d'antigènes de VIH additionnels. Dans un deuxième mode de réalisation de l'invention, la composition comprend 1 à 5 antigènes de VIH additionnels, tels que 1 ou 2 antigènes de VIH additionnels. Des antigènes de VIH additionnels peuvent être fournis sous la forme de protéines ou de polynucléotides codant des protéines.

Adéquatement, la composition immunogène comprend un total d'environ 1 à 500  $\mu\text{g}$  de matière antigénique, adéquatement entre 1 à 200  $\mu\text{g}$ , tel qu'entre 5 à 100  $\mu\text{g}$ , Le plus adéquatement entre 5 et 50  $\mu\text{g}$ .

Adéquatement, les polypeptides et polynucléotides utilisés dans la présente invention sont isolés. Un polypeptide ou polynucléotide « isolé » est enlevé de son environnement d'origine. Par exemple, une protéine présente à l'état naturel est isolée si elle est séparée de tout ou partie de matières coexistantes dans le système naturel. De préférence, de tels polypeptides sont au moins purs à environ 90 %, plus adéquatement purs à environ 99 % et le plus adéquatement au moins purs à environ 99 %. Un polynucléotide est considéré

comme isolé si, par exemple, il est cloné en un vecteur qui ne fait pas partie de son environnement naturel.

### Adjuvant

#### 5 Saponines

La composition immunogène de l'invention comprend une fraction de saponine immunologiquement active (« une saponine ») en tant qu'adjuvant ou composant d'un adjuvant. Une saponine convenant tout  
10 particulièrement pour une utilisation dans la présente invention est Quil A et ses dérivés. Quil A est une préparation de saponine isolée de l'arbre d'Amérique du Sud *Quillaja saponaria* Molina et a été décrite pour la première fois par Dalsgaard et al. en 1974 (« Saponin  
15 adjuvants », Archiv. für die gesamte Virusforschung, vol. 44, Springer Verlag, Berlin, pages 243 à 254) pour avoir une activité d'adjuvant. Des fragments purifiés de Quil A ont été isolés par HPLC, lesquels conservent l'activité d'adjuvant sans la toxicité associée à Quil  
20 A (US5604106), par exemple QS-7 et QS-21 (également connus sous QA7 et QA21). QS-21 est une saponine naturelle dérivée de l'écorce de *Quillaja saponaria* Molina, qui induit des cellules T cytotoxiques (LTC) CD8+, des cellules Th1 et une réponse d'anticorps IgG2a  
25 prédominante et est une saponine préférée dans le contexte de la présente invention.

Dans une forme convenable de la présente invention, l'adjuvant saponine au sein de la composition immunogène est un dérivé de *saponaria molina* quil A,  
30 adéquatement une fraction immunologiquement active de Quil A, telle que QS-7 ou QS-21, adéquatement QS-21.

Dans un mode de réalisation, les compositions de l'invention contiennent la fraction de saponine immunologiquement active sous forme sensiblement pure. Adéquatement, les compositions de l'invention  
5 contiennent QS-21 sous forme sensiblement pure, c'est-à-dire que la QS-21 est pure à au moins 90 %, par exemple pure à au moins 95 % ou pure à au moins 98 %.

Dans un mode de réalisation spécifique, QS-21 est fournie dans une composition moins réactogène où elle  
10 est éteinte avec un stérol exogène, tels que le cholestérol par exemple. Plusieurs formes particulières de compositions moins réactogènes dans lesquelles l'activité lytique de QS-21 est éteinte avec un cholestérol exogène existent. Dans un mode de  
15 réalisation spécifique, la saponine/le stérol se présente sous la forme d'une structure de liposome (document US 6 846 489, exemple 1). Dans ce mode de réalisation, le liposome contient adéquatement un lipide neutre, par exemple la phosphatidylcholine, qui  
20 est adéquatement non cristalline à température ambiante, par exemple la phosphatidylcholine de jaune d'œuf, la dioléoyl phosphatidylcholine (DOPC) ou la dilauryl phosphatidylcholine. Les liposomes peuvent également contenir un lipide chargé qui augmente la stabilité de  
25 la structure liposome-QS-21 pour des liposomes composés de lipides saturés. Dans ces cas, la quantité de lipide chargé est adéquatement de 1 à 20 % p/p, adéquatement de 5 à 10 %. Le rapport stérol sur phospholipide est de 1 à 50 % (mol/mol), adéquatement 20 à 25 %.

30 Les stérols convenables incluent le bêta-sitostérol, le stigmastérol, l'ergostérol,

l'ergocalciférol et le cholestérol. Dans un mode de réalisation particulier, la composition d'adjuvant comprend du cholestérol en tant que stérol. Ces stérols sont bien connus dans l'art, par exemple le cholestérol divulgué dans le Merck Index, 11<sup>e</sup> éd, page 341, en tant que stérol présent à l'état naturel que l'on trouve dans des graisses animales.

Le stérol selon l'invention est pris pour désigner un stérol exogène, c'est-à-dire un stérol qui n'est pas endogène pour l'organisme duquel la préparation antigénique est prélevée mais est ajouté à la préparation d'antigène ou ultérieurement au moment de la formulation. Typiquement, le stérol peut être ajouté pendant une formulation ultérieure de la préparation d'antigène avec l'adjuvant saponine, en utilisant, par exemple, la saponine sous sa forme dans laquelle son activité lytique est éteinte avec le stérol. Adéquatement, le stérol exogène est associé à l'adjuvant saponine comme décrit dans le document US 6 846 489.

Lorsque la fraction de saponine active est QS-21, le rapport QS-21 : stérol sera typiquement de l'ordre de 1 : 100 à 1 : 1 (p/p), adéquatement entre 1 : 10 et 1 : 1 (p/p), et adéquatement 1 : 5 à 1 : 1 (p/p). Adéquatement, le stérol en excès est présent, le rapport QS-21 : stérol étant d'au moins 1 : 2 (p/p). Dans un mode de réalisation, le rapport QS-21 : stérol est de 1 : 5 (p/p).

D'autres saponines qui ont été décrites dans la littérature incluent l'escine, qui a été décrite dans Merck index (12<sup>e</sup> éd : entrée 3737) en tant que mélange

de saponines apparaissant dans la semence du marronnier d'Inde, Lat : *Aesculus hippocastanum*. Son isolement est décrit par chromatographie et purification (Fiedler, *Arzneimittel-Forsch.* 4, 213 (1953)), et par des résines échangeuses d'ions (Erbring et al., document US 3 238 190). Des fractions d'escine ont été purifiées et on a montré qu'elles étaient biologiquement actives (Yoshikawa M. et al. *Chem Pharm Bull* (Tokyo) 1996 44(8) : 1454 à 1464)). De la sapoalbine provenant de *Gypsophilla struthium* (R. Vochten et al., 1968, *J Pharm Belg*, 42, 213 à 226) a également été décrite en relation avec la production d'ISCOM par exemple. Une autre saponine utile est celles dérivées de la plante *Gyophilla struthium*.

Adéquatement, la quantité totale de saponine dans la composition immunogène de la présente invention, en particulier dans une dose humaine de la composition immunogène de la présente invention, est entre 1 et 100  $\mu\text{g}$ .

Dans un mode de réalisation, il est proposé une composition immunogène comprenant QS-21 à un taux d'environ 50  $\mu\text{g}$ , par exemple entre 38 et 100  $\mu\text{g}$ , adéquatement entre 40 et 75  $\mu\text{g}$  ou entre 45 et 60  $\mu\text{g}$ , plus adéquatement 49 à 51, le plus adéquatement 50  $\mu\text{g}$ .

Dans un mode de réalisation supplémentaire, il est proposé une composition immunogène comprenant QS-21 à un taux d'environ 25  $\mu\text{g}$ , par exemple entre 10 et 37  $\mu\text{g}$ , adéquatement entre 15 et 30  $\mu\text{g}$  ou entre 20 et 27  $\mu\text{g}$ , plus adéquatement 24 à 26, plus adéquatement 25  $\mu\text{g}$ .

Dans un autre mode de réalisation, il est proposé une composition immunogène dans un volume qui convient

à une dose humaine, laquelle dose humaine de la composition immunogène comprend QS-21 à un taux d'environ 50  $\mu\text{g}$ , par exemple entre 38 et 100  $\mu\text{g}$ , adéquatement entre 40 et 75  $\mu\text{g}$  ou entre 45 et 60  $\mu\text{g}$ ,  
5 plus adéquatement 49 à 51, le plus adéquatement 50  $\mu\text{g}$ .

Dans un autre mode de réalisation, il est proposé une composition immunogène dans un volume qui convient à une dose humaine, laquelle dose humaine de la composition immunogène comprend QS-21 à un taux  
10 d'environ 25  $\mu\text{g}$ , par exemple entre 10 et 37  $\mu\text{g}$ , adéquatement entre 15 et 30  $\mu\text{g}$  ou entre 20 et 27  $\mu\text{g}$ , plus adéquatement 24 à 26, plus adéquatement 25  $\mu\text{g}$ .

La dose de QS-21 est adéquatement apte à renforcer une réponse immunitaire à un antigène chez un humain.  
15 En particulier, une quantité de QS-21 convenable est celle qui améliore le potentiel immunologique de la composition par rapport à la composition non adjuvantée, ou par rapport à la composition adjuvantée avec une autre quantité de QS-21, tout en étant acceptable d'un  
20 point de vue réactogénicité.

#### Adjuvants de lipopolysaccharide

Les lipopolysaccharides (LPS) sont la molécule de surface majeure de, et apparaissent exclusivement dans,  
25 le feuillet externe de la membrane extérieure des bactéries Gram-négatif. Les LPS gênent la destruction de bactéries par les compléments sériques et les cellules phagocytaires, et sont impliqués dans l'adhérence pour colonisation. Les LPS constituent un  
30 groupe de molécules complexes structurellement apparentées d'approximativement 10 000 Daltons de

taille et consistent en trois régions liées de manière covalente :

- (i) une chaîne de polysaccharide spécifique à O (antigène à O) au niveau de la région extérieure
- 5 (ii) une région centrale l'oligosaccharide de cœur
- (iii) lipide A - la région la plus intérieure qui sert d'ancre hydrophobe, elle comprend des motifs glucosamine disaccharide qui portent les acides gras à longue chaîne.

10 On a montré que les activités biologiques des LPS, telles que la toxicité létale, la pyrogénicité et la possibilité de servir comme adjuvant, étaient liées à la fraction lipide A. Par contraste, l'immunogénicité est associée au composant polysaccharide spécifique à O  
15 (antigène à O). Le LPS et le lipide A sont tous deux connus depuis longtemps pour leurs forts effets d'adjuvant, mais la haute toxicité de ces molécules a exclu leur utilisation dans des formulations de vaccin. Des efforts significatifs ont donc été faits dans  
20 l'objectif de réduire la toxicité du LPS ou du lipide A tout en maintenant leur possibilité de servir comme adjuvant.

Le R595 mutant de *Salmonella minnesota* a été isolé en 1966 d'une culture de la souche parente (lisse)  
25 (Luderitz et al. 1966 *Ann N Y Acad Sci* 133 : 349 à 374). On a criblé la susceptibilité à la lyse des colonies sélectionnées par un panel de phages, et on a sélectionné uniquement les colonies qui affichaient une large plage de sensibilité (prédisposition à un ou deux  
30 phages uniquement) pour étude complémentaire. Cet effort a conduit à l'isolement d'une souche mutante

rugueuse profonde qui est déficiente en biosynthèse de LPS et désignée par R595 de *S. minnesota*.

En comparaison à d'autres LPS, ceux produits par le R595 de *S. minnesota* mutant ont une structure  
5 relativement simple.

(i) ils ne contiennent aucune région Spécifique à O - une caractéristique qui est responsable du passage du phénotype lisse de type sauvage en phénotype rugueux mutant et conduit à une perte de virulence

10 (ii) la région de cœur est très courte - cette caractéristique augmente la sensibilité de la souche à une variété de produits chimiques

(iii) la fraction lipide A est hautement acylée avec jusqu'à 7 acides gras.

15 Le 4'-monophosphoryl lipide A (MPL), qui peut être obtenu par hydrolyse acide de LPS extrait d'une souche mutante rugueuse profonde de bactéries à Gram-négatif, conserve les propriétés adjuvantes du LPS tout en démontrant une toxicité qui est réduite d'un facteur de  
20 plus de 1 000 (telle que mesurée par la dose létale dans des œufs d'embryon de poulet) (Johnson et al. 1987 *Rev Infect Dis* 9 Suppl : S512 à S516). Le LPS est typiquement mis au reflux dans des solutions d'acide minéral de force modérée (par exemple, HCl à 0,1 M)  
25 pendant une période d'approximativement 30 minutes. Ce processus conduit à la déphosphorylation en position 1, et à la décarbohydratation en position 6', donnant le MPL.

Le monophosphoryl lipide A 3-O-désacylé (3D-MPL),  
30 qui peut être obtenu par hydrolyse alcaline douce de MPL, a une toxicité davantage réduite tout en

maintenant encore la possibilité de servir comme adjuvant, voir le document US 4 912 094 (Ribi Immunochemicals). Une hydrolyse alcaline est typiquement réalisée dans un solvant organique, tel qu'un mélange de chloroforme/méthanol, par saturation avec une solution aqueuse de base faible, tel que le carbonate de sodium à 0,5 M à pH 10,5. Des informations supplémentaires sur la préparation de 3D-MPL sont disponibles, par exemple, dans le document US 4 912 094 (Corixa Corporation).

La composition comprend en outre un adjuvant additionnel qui est un lipopolysaccharide, adéquatement un dérivé non toxique du lipide A, en particulier le monophosphoryl lipide A ou plus particulièrement le monophosphoryl lipide A 3-désacylé (3D-MPL).

Le 3D-MPL est vendu sous le nom MPL par GlaxoSmithKline Biologicals N.A. et est désigné partout dans le document par MPL ou 3D-MPL. Voir, par exemple, les documents US 4 436 727 ; US 4 877 611 ; US 4 866 034 et US 4 912 094. Le 3D-MPL peut être produit selon les méthodes divulguées dans le document US 4 912 094. Chimiquement, il s'agit d'un mélange de monophosphoryl lipide A 3-désacylé avec 3, 4, 5 ou 6 chaînes acylées. Adéquatement, dans les compositions de la présente invention, on utilise du 3D-MPL à petites particules. Le 3D-MPL à petites particules a une taille de particule telle qu'il peut être filtré de manière stérile sur un filtre de 0,25  $\mu\text{m}$ . De telles préparations sont décrites dans le document US 5 776 468.

Adéquatement, la quantité totale de lipopolysaccharide dans la composition immunogène de la présente invention, en particulier dans une dose humaine de la composition immunogène de la présente invention est entre 1 et 100  $\mu\text{g}$ .

Dans un mode de réalisation, il est proposé une composition immunogène comprenant du 3D-MPL à un taux d'environ 50  $\mu\text{g}$ , par exemple entre 38 et 100  $\mu\text{g}$ , adéquatement entre 40 et 75  $\mu\text{g}$  ou entre 45 et 60  $\mu\text{g}$ , plus adéquatement 49 à 51, le plus adéquatement 50  $\mu\text{g}$ .

Dans un mode de réalisation supplémentaire, il est proposé une composition immunogène comprenant du 3D-MPL à un taux d'environ 25  $\mu\text{g}$ , par exemple entre 10 et 37  $\mu\text{g}$ , adéquatement entre 15 et 30  $\mu\text{g}$  ou entre 20 et 27  $\mu\text{g}$ , plus adéquatement 24 à 26, plus adéquatement 25  $\mu\text{g}$ .

Dans un autre mode de réalisation, il est proposé une composition immunogène dans un volume qui convient à une dose humaine, laquelle dose humaine de la composition immunogène comprend du 3D-MPL à un taux d'environ 50  $\mu\text{g}$ , par exemple entre 38 et 100  $\mu\text{g}$ , adéquatement entre 40 et 75  $\mu\text{g}$  ou entre 45 et 60  $\mu\text{g}$ , plus adéquatement 49 à 51, le plus adéquatement 50  $\mu\text{g}$ .

Dans un autre mode de réalisation, il est proposé une composition immunogène dans un volume qui convient à une dose humaine, laquelle dose humaine de la composition immunogène comprend du 3D-MPL à un taux d'environ 25  $\mu\text{g}$ , par exemple entre 10 et 37  $\mu\text{g}$ , adéquatement entre 15 et 30  $\mu\text{g}$  ou entre 20 et 27  $\mu\text{g}$ , plus adéquatement 24 à 26, plus adéquatement 25  $\mu\text{g}$ .

Les compositions convenables de l'invention sont celles dans lesquelles des liposomes sont initialement préparés sans MPL (comme décrit dans le document US 6 846 489), et du MPL est ensuite ajouté, adéquat

5 adéquatement sous forme de petites particules de particules en dessous de 100 nm ou des particules qui sont sensibles à une filtration stérile sur une membrane de 0,22  $\mu\text{m}$ . Le MPL n'est donc pas contenu dans la membrane vésiculaire (connu sous le nom MPL out).

10 Des compositions où le MPL est contenu au sein de la membrane vésiculaire (connu sous le nom MPL in) forment également un aspect de l'invention. L'antigène peut être contenu dans la membrane vésiculaire ou contenu à l'extérieur de la membrane vésiculaire. Adéquat

15 des antigènes solubles sont à l'extérieur et des antigènes hydrophobes ou lipidés sont contenus soit à l'intérieur soit à l'extérieur de la membrane.

L'invention comprend à la fois un lipopolysaccharide et une saponine immunologiquement active. Dans un mode de réalisation spécifique de l'invention, le lipopolysaccharide est du 3D-MPL et la saponine immunologiquement active est QS-21. Dans un mode de réalisation de l'invention la composition comprend un lipopolysaccharide et une saponine

20 immunologiquement active dans une formulation liposomale. Adéquatement, dans une forme de ces modes de réalisation, la composition comprend du 3D-MPL et QS-21, avec facultativement un stérol qui est adéquat

25 adéquatement le cholestérol.

30 Dans un mode de réalisation supplémentaire de l'invention, la composition d'adjuvant comprend dans

une formulation liposomale un lipopolysaccharide et une saponine immunologiquement active en combinaison avec un ou plusieurs immunostimulants ou adjuvants supplémentaires. Adéquatement, dans une forme de ce mode de réalisation, le lipopolysaccharide est le 3D-MPL et la saponine immunologiquement active est QS-21.

Dans un mode de réalisation spécifique, QS-21 et le 3D-MPL sont présents dans un rapport en poids entre 1 : 2 et 2 : 1. Adéquatement QS-21 et le 3D-MPL sont présents dans la même quantité finale par dose humaine de la composition immunogène. Dans un aspect de ce mode de réalisation, une dose humaine de composition immunogène comprend un taux final de 50 µg de 3D-MPL et 50 µg de QS-21. Dans un autre aspect, une dose humaine de composition immunogène comprend un taux final de 25 µg de 3D-MPL et 25 µg de QS-21. Dans un mode de réalisation supplémentaire, une dose humaine de composition immunogène comprend un taux final de 10 µg de chacun du 3D-MPL et du QS-21.

La préparation de vaccin est décrite de manière générale dans *New Trends and Developments in Vaccines*, édité par Voller et al., University Park Press, Baltimore, Maryland, Etats-Unis 1978. L'encapsulation au sein des liposomes est décrite, par exemple, dans le document US 4 235 877. La conjugaison de protéines à des macromolécules est divulguée, par exemple dans les documents US 4 372 945 et US 4 474 757.

#### Concentration en sel

Quelques antigènes sont sensibles à la présence de sels. Sans en faire une théorie, on pense que ces

antigènes sont impactés de manière préjudiciable par un phénomène connu sous le nom de « relargage » qui peut être défini comme la précipitation d'une protéine depuis sa solution par interaction avec des sels, tels que le chlorure de sodium. Ces antigènes s'agrègent et précipitent à une concentration en chlorure de sodium aussi faible que 150 mM. En conséquence, on peut améliorer la stabilité de compositions immunogènes comprenant un polypeptide apparenté à la gp120 par une réduction de la concentration en chlorure de sodium.

Les compositions immunogènes de l'invention seront adéquatement des préparations aqueuses.

En conséquence, la présente invention propose une composition immunogène comprenant un polypeptide apparenté à la gp120, dans laquelle la conductivité de la composition est de 13 mS/cm ou moins. En particulier, la présente invention propose des compositions immunogènes dans lesquelles la conductivité de la composition immunogène est de 12 mS/cm ou moins, par exemple 10 mS/cm ou moins, 8 mS/cm ou moins, 6 mS/cm ou moins, 5 mS/cm ou moins, 4 mS/cm ou moins ou 3 mS/cm ou moins. Dans un mode de réalisation particulier, la conductivité de la composition immunogène est de 2,5 mS/cm ou moins, telle que 2,25 mS/cm ou moins ou 2,0 mS/cm ou moins. Dans un mode de réalisation spécifique supplémentaire, la conductivité de la composition immunogène est de 1,5 à 2,5 mS/cm.

Il est en outre proposé une composition immunogène comprenant un polypeptide apparenté à la gp120, dans laquelle la concentration en sels dans ladite composition est de 130 mM ou moins. En particulier, la

présente invention propose des compositions immunogènes dans laquelle la concentration en sels dans ladite composition est de 100 mM ou moins, par exemple 90 mM ou moins, 80 mM ou moins, 70 mM ou moins, 60 mM ou moins, 50 mM ou moins, ou 40 mM ou moins. Dans un mode de réalisation particulier, la concentration en sels dans ladite composition est de 35 mM ou moins, telle que 30 mM ou moins ou 25 mM ou moins. Dans un mode de réalisation spécifique supplémentaire, la concentration en sels dans ladite composition est de 20 à 40 mM, telle que de 25 à 35 mM.

La présente invention propose également une composition immunogène comprenant un polypeptide apparenté à la gp120, dans laquelle la concentration en chlorure de sodium dans ladite composition est de 130 mM ou moins. En particulier, la présente invention propose des compositions immunogènes dans lesquelles la concentration en chlorure de sodium est de 100 mM ou moins, par exemple 90 mM ou moins, 80 mM ou moins, 70 mM ou moins, 60 mM ou moins, 50 mM ou moins, 40 mM ou moins, 30 mM ou moins, 20 mM ou moins ou 15 mM ou moins. Dans un mode de réalisation particulier, la concentration en chlorure de sodium dans la composition immunogène est de 10 mM ou moins, telles que 7,5 mM ou moins. Adéquatement, la concentration en chlorure de sodium dans la composition immunogène est à 5 mM ou en dessous. Dans un mode de réalisation spécifique supplémentaire, la composition immunogène est sensiblement dépourvue de chlorure de sodium. Par essentiellement dépourvue, on veut dire que la concentration en chlorure de sodium est à zéro mM ou

très près de celui-ci (telle que 3 mM ou moins, 2 mM ou moins ou 1 mM ou moins).

Adéquatement, la concentration en  $\text{CaCl}_2$  dans les compositions immunogènes sera de 40 mM ou moins, 30 mM  
5 ou moins, 20 mM ou moins, 15 mM ou moins ou 10 mM ou moins.

Adéquatement, la concentration en  $\text{MgSO}_4$  dans les compositions immunogènes sera de 80 mM ou moins, 60 mM  
ou moins, 40 mM ou moins, 30 mM ou moins, 20 mM ou  
10 moins ou 10 mM ou moins.

Adéquatement, la concentration totale en ions  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  et  $\text{Ca}^{2+}$  dans les compositions immunogènes sera de 80 mM ou moins, 60 mM ou moins, 40 mM ou moins, 30 mM  
ou moins, 20 mM ou moins ou 10 mM ou moins.

15 Il est bien connu que pour une administration parentérale, les solutions doivent avoir une osmolalité pharmaceutiquement acceptable pour éviter une distorsion ou une lyse des cellules. Une osmolalité pharmaceutiquement acceptable signifiera généralement  
20 que les solutions auront une osmolalité qui est approximativement isotonique ou légèrement hypertonique. Adéquatement, les compositions immunogènes de la présente invention auront une osmolalité dans la plage de de 250 à 750 mOsm/kg, par exemple, l'osmolalité peut  
25 être dans la plage de 250 à 550 mOsm/kg, telle que dans la plage de 280 à 500 mOsm/kg.

L'osmolalité peut être mesurée selon des techniques connues dans l'art, telles que par l'utilisation d'un osmomètre disponible dans le  
30 commerce, par exemple le Advanced® Model 2020

disponible auprès de Advanced Instruments Inc. (Etats-Unis).

Un « agent d'isotonicité » est un composé qui est physiologiquement toléré et communique une tonicité  
5 convenable à une formulation pour empêcher le flux net d'eau à travers des membranes cellulaires qui sont en contact avec la formulation.

Dans un mode de réalisation particulier, il est proposé des compositions immunogènes comprenant en  
10 outre un agent de tonicité non ionique. Un agent de tonicité non ionique pour une utilisation dans une composition immunogène aura lui-même besoin d'être pharmaceutiquement acceptable, par exemple convenable pour une utilisation chez les humains, ainsi que  
15 compatibles avec l'antigène apparenté à la gp120 et en outre compatible avec d'autres composants tels que le(s) immunostimulant(s).

Dans un mode de réalisation de la présente invention, les agents de tonicité non ioniques  
20 convenables sont des polyols, des sucres (en particulier le saccharose, le fructose, le dextrose ou le glucose) ou des acides aminés tels que la glycine. Dans un mode de réalisation, le polyol est un alcool de sucre, spécialement un alcool de sucre en C<sub>3</sub> à 6. Les  
25 exemples d'alcools de sucre incluent le glycérol, l'érythritol, le thréitol, l'arabitol, le xylitol, le ribitol, le sorbitol, le mannitol, le dulcitol et l'iditol. Dans un exemple spécifique de ce mode de réalisation, un agent de tonicité non ionique  
30 convenable est le sorbitol. L'homme du métier reconnaîtra qu'une osmolalité appropriée peut être

atteinte par l'utilisation d'un mélange d'agents de tonicité différents. Dans un mode de réalisation particulier de l'invention, l'agent de tonicité non ionique dans les compositions de l'invention incorpore du saccharose et/ou du sorbitol.

Dans un mode de réalisation, une concentration convenable en polyol dans la composition immunogène est entre environ 2,5 et environ 15 % (p/v), en particulier entre environ 2,5 et environ 10 % (p/v) par exemple entre environ 3 et environ 7% (p/v), tel qu'entre environ 4 et environ 6 % (p/v). Dans un exemple spécifique de ce mode de réalisation, le polyol est le sorbitol.

Dans un autre mode de réalisation, la composition immunogène comprend du saccharose et du sorbitol. Dans de telles circonstances, la composition immunogène peut adéquatement contenir entre environ 2,5 et environ 15 % (p/v) de saccharose et entre environ 2,5 et environ 15 % (p/v) de sorbitol, en particulier entre environ 2,5 et environ 10 % (p/v) de saccharose et entre environ 2,5 et environ 10 % (p/v) de sorbitol, par exemple, entre environ 3 et environ 7 % (p/v) de saccharose et entre environ 3 et environ 7 % (p/v) de sorbitol, tel qu'entre environ 4 et environ 6 % (p/v) de saccharose et entre environ 4 et environ 6 % (p/v) de sorbitol.

Le pH des compositions immunogènes devrait convenir à une administration parentérale. Typiquement, le pH sera dans la plage de 6,0 à 9,0. Adéquatement, le pH sera dans la plage de 7,0 à 9,0, spécialement 7,25 à 8,75, telle que 7,5 à 8,5, en particulier pH 7,75 à

8,25. Un pH d'environ 8,0 est particulièrement intéressant.

Le pH peut être contrôlé par l'utilisation de tampons, incluant par exemple les tampons Tris ou  
5 phosphate.

La conductivité d'une composition immunogène de l'invention peut être mesurée en utilisant des techniques connues dans l'art, par exemple en utilisant un conductivimètre dédié ou un autre instrument ayant  
10 la capacité de mesurer la conductivité. Un instrument convenable est le Zetasizer Nano ZS de chez Malvern Instruments (R.-U.).

L'homme du métier peut aisément mettre à l'essai la concentration en ions à la fois sodium ( $\text{Na}^+$ ) et  
15 chlorure ( $\text{Cl}^-$ ) en utilisant des techniques et des kits connus. Par exemple, on peut déterminer le sodium en utilisant un kit tel que le kit Sodium Enzymatic Assay (numéro de catalogue : BQ011EAEL) de chez Biosupply. Le chlorure peut être déterminé en utilisant un kit tel  
20 que le kit Chloride Enzymatic Assay (numéro de catalogue : BQ006EAEL) de chez Biosupply.

#### Propriétés immunogènes de la composition immunogène de la présente invention

25 Dans la présente invention, la composition immunogène est adéquatement capable d'induire une réponse humorale chez un mammifère, tel qu'un humain, auquel on a administré la composition immunogène.

Les réponses humorales peuvent être détectées en  
30 utilisant un dosage à base d'anticorps approprié. Par exemple, la présence ou l'absence dans le sérum d'une

réponse d'anticorps immunoglobuline G (IgG) à un polypeptide apparenté à la gp120 peut être analysée par ELISA. L'induction de réponses humorales telles que des anticorps IgG, adéquatement des anticorps IgG se liant  
5 à la région V1V2 de gp120 indique l'immunogénicité des compositions immunogènes de l'invention.

Dans un mode de réalisation supplémentaire, la composition immunogène est capable d'induire une réponse immunitaire de cellule T CD4 améliorée.

10 Par « réponse immunitaire de cellule T CD4 améliorée », on veut dire qu'une réponse de CD4 supérieure est obtenue chez un mammifère, tel qu'un humain, après administration de la composition immunogène adjuvantée.

15 En particulier mais non exclusivement, ladite « réponse immunitaire de cellule T CD4 améliorée » est obtenue chez un patient immunologiquement non déclenché, c'est-à-dire un patient qui est séronégatif au VIH.

La réponse immunitaire de cellule T CD4 améliorée  
20 (qui peut être fournie par des cellules T « polyfonctionnelles ») peut être estimée en mesurant le nombre de cellules produisant l'un quelconque des marqueurs immunogènes suivants :

- des cellules T CD4 qui expriment au moins un  
25 marqueur immunogène

- des cellules produisant au moins deux marqueurs immunogènes différents (par exemple CD40L, IL-2 et/ou IFN-gamma, TNF-alpha)

- des cellules produisant au moins le CD40L et un  
30 autre marqueur immunogène (par exemple, IL-2, TNF-gamma et/ou IFN-gamma)

- des cellules produisant au moins IL-2 et un autre marqueur immunogène (par exemple, CD40L, TNF-alpha et/ou IFN-gamma)

- des cellules produisant au moins IFN-gamma et un autre marqueur immunogène (par exemple, IL-2, TNF-alpha et/ou CD40L)

- des cellules produisant au moins TNF-alpha et un autre marqueur immunogène (par exemple, IL-2, CD40L et/ou IFN-gamma).

10 Il y aura une réponse immunitaire de cellule T CD4 améliorée lorsque des cellules produisant l'un quelconque des marqueurs immunogènes précédents seront dans une quantité plus élevée après administration. Typiquement au moins une, adéquatement deux des six  
15 conditions mentionnées ci-avant seront satisfaites. Dans un mode de réalisation particulier, les cellules produisant chacun des quatre marqueurs immunogènes seront présentes dans une quantité plus élevée.

La réponse immunitaire de cellule T CD4 améliorée  
20 conférée par la composition de gp120 de la présente invention peut être idéalement obtenue après une seule administration.

Dans un autre mode de réalisation, l'administration de ladite composition immunogène  
25 induit une réponse de cellule mémoire B améliorée chez un mammifère, tel qu'un humain, auquel on administre la composition immunogène. Une réponse de cellule mémoire B améliorée est censée désigner une fréquence accrue de lymphocytes B de sang périphérique capables de  
30 différenciation en des cellules de plasma sécrétant les

anticorps lors de la rencontre d'un antigène telle que mesurée par stimulation de différenciation *in vitro*.

Dans un mode de réalisation spécifique, l'administration de ladite composition immunogène induit au moins deux des réponses suivantes : (i) une  
5 réponse immunitaire de cellule T CD4 améliorée, (ii) une réponse de cellule mémoire B améliorée, (iii) une réponse humorale améliorée, contre au moins l'un du ou des antigènes constitutifs ou de la  
10 composition antigénique en comparaison à l'une ou l'autre des réponses immunitaires obtenues avec d'autres compositions.

La grandeur d'une réponse immunitaire peut également être exprimée comme le titre (ou  
15 concentration) d'anticorps spécifiques à l'antigène induits par la composition immunogène comme déterminé par un essai sérologique approprié. La grandeur d'une réponse de cellules T peut être exprimée comme la  
fréquence (ou le nombre) de cellules spécifiques à  
20 l'antigène induites par la composition immunogène parmi la population totale de cellules T, qui peut être surveillée par la production de cytokine.

Adéquatement, la composition de la présente invention suscite une réponse immunitaire capable de  
25 réactivité croisée. La réactivité croisée doit ici être considérée comme signifiant la capacité de réponses immunitaires induites par une composition immunogène de l'invention à reconnaître des souches de VIH-1 issues de sous-types qui ne sont pas représentés dans la  
30 composition immunogène. Par exemple, une composition immunogène de l'invention comprenant un polypeptide

apparenté à la gp120 comprenant une souche de VIH-1 du sous-type B est considérée comme réactive de manière croisée si la réponse immunitaire spécifique au VIH, telle que l'anticorps spécifique au VIH ou la réponse  
5 de cellule T CD4+ (en particulier une réponse d'anticorps à la boucle V1V2 de la gp120), induite par la composition mise à réagir avec une ou plusieurs souches différentes de VIH-1 qui ne sont pas dans la composition, par exemple avec une souche de VIH-1 issue  
10 d'un sous-type autre que le sous-type B. Adéquatement, la réactivité croisée sera par rapport à une souche de VIH-1 issue d'un sous-type différent, en particulier par rapport à une souche de VIH-1 issue d'un groupe différent.

15 Adéquatement, le niveau de réactivité croisée observé va jusqu'à 10 %, jusqu'à 15 %, jusqu'à 20 %, jusqu'à 25 %, jusqu'à 30 %, jusqu'à 35 %, jusqu'à 40 %, jusqu'à 45 %, jusqu'à 50 %, jusqu'à 55 %, jusqu'à 60 %, jusqu'à 65 % jusqu'à 70 %, jusqu'à 80 %, jusqu'à 90 %  
20 ou jusqu'à 100 % de cellules spécifiques de l'antigène induites par la composition immunogène parmi la population totale de cellules T ou le titre (ou la concentration) d'anticorps spécifiques à l'antigène induits par la composition immunogène.

25 Lors de la mesure de la réactivité croisée en termes du pourcentage de répondeurs aux souches de VIH-1 issues de différents sous-types, le nombre ou le pourcentage d'individus vaccinés qui présentent une réponse positive dans un dosage immunologique après  
30 défi ultérieur peut être mesuré. Un répondeur peut répondre à un ou plusieurs épitopes d'un antigène. Un

répondeur peut également répondre à un ou plusieurs polypeptides dans une composition immunogène de l'invention et/ou à un ou plusieurs antigènes dans une composition immunogène de l'invention.

5 Des dosages immunologiques tels que des essais sérologiques qui peuvent être utilisés pour analyser le pourcentage de répondeurs ou la grandeur d'une réponse immunitaire sont connus dans l'art. Des exemples de tels dosages sont connus de l'homme du métier.

10 Adéquatement, le niveau de réactivité croisée observé va jusqu'à 10 %, jusqu'à 15 %, jusqu'à 20 %, jusqu'à 25 %, jusqu'à 30 %, jusqu'à 35 %, jusqu'à 40 %, jusqu'à 45 %, jusqu'à 50 %, jusqu'à 55 %, jusqu'à 60 %, jusqu'à 65 % jusqu'à 70 %, jusqu'à 80 %, jusqu'à 90 %  
15 ou jusqu'à 100 % des sujets dans un échantillon s'ils sont répondeurs.

Dans un mode de réalisation, la composition immunogène de l'invention est destinée à une utilisation dans le fait de susciter des nombres élevés  
20 et de longue durée d'anticorps spécifiques du VIH-1 chez un individu non infecté par le VIH.

Dans un mode de réalisation supplémentaire, la composition immunogène de l'invention est destinée à être utilisée dans le fait de susciter des nombres  
25 élevés et de longue durée d'anticorps spécifiques du VIH-1 chez un individu présentant un risque d'infection par une souche de VIH-1 provenant d'un ou plusieurs clades différents des un ou plusieurs clades de VIH-1 desquels le polypeptide apparenté à la gp120 dans la  
30 composition immunogène est dérivé.

Dans un mode de réalisation, la composition immunogène de l'invention est destinée à être utilisée dans le contrôle ou la réduction de la virémie chez un individu infecté par le VIH.

5 Adéquatement, après administration de la composition, la charge virale du sujet reste en dessous de 100 000 copies/mL pour au moins quatre mois après administration. Dans un mode de réalisation  
10 supplémentaire, la charge virale du sujet reste en dessous de 100 000 copies/mL de sérum pour au moins six mois, au moins douze mois, au moins dix-huit mois, au moins deux ans, au moins trois ans, au moins quatre ans, au moins cinq ans, au moins six ans, au moins sept ans, au moins huit ans, au moins neuf ans ou au moins dix  
15 ans. Dans un autre mode de réalisation, le sujet maintient une charge virale en dessous de 50,000 copies/ mL, en dessous de 10 000 copies/mL, en dessous de 5 000 copies/mL, en dessous de 1 000 copies/ mL ou en dessous de 500 copies/mL. Adéquatement, la charge  
20 virale est maintenue ou réduite pendant au moins six mois, au moins douze mois, au moins dix-huit mois, au moins deux ans, au moins trois ans, au moins quatre ans, au moins cinq ans, au moins six ans, au moins sept ans, au moins huit ans, au moins neuf ans ou au moins dix  
25 ans après administration de la composition.

Adéquatement, l'administration de la composition inventive conduit à une réponse durable. Une réponse durable est par exemple la capacité à détecter, dans le sérum d'un individu, un anticorps IgG capable de se  
30 lier à la région V1V2 du polypeptide apparenté à la gp120 de la composition au moins 24 semaines, au moins

48 semaines, au moins 72 semaines, au moins 96 semaines,  
au moins deux ans, au moins trois ans, au moins quatre  
ans, au moins cinq ans, au moins six ans, au moins sept  
ans, au moins huit ans, au moins neuf ans ou au moins  
5 dix ans après la seule administration de la composition,  
ou la première administration de la composition au  
cours d'administrations répétées, à l'individu.  
Adéquatement, les taux d'anticorps seront détectés à un  
niveau d'au moins 5 %, plus adéquatement au moins 10 %  
10 et en particulier au moins 20 % du titre sérique deux  
semaines après la première administration. Adéquatement,  
l'anticorps sera détectable chez au moins 50 % des  
individus, plus adéquatement au moins 60 % des  
individus et en particulier au moins 75 %.

15 Adéquatement, une réponse durable est par exemple  
la capacité à détecter, dans le sérum d'un individu, un  
anticorps IgG se liant à la région V1V2 du polypeptide  
apparenté à la gp120 de la composition au moins 2  
semaines, au moins 6 mois, au moins 12 mois, au moins  
20 18 mois, au moins deux ans, au moins trois ans, au  
moins quatre ans, au moins cinq ans, au moins six ans,  
au moins sept ans, au moins huit ans, au moins neuf ans  
ou au moins dix ans après l'administration finale de la  
composition au cours d'administrations répétées à  
25 l'individu. Adéquatement, les taux d'anticorps seront  
détectés à un niveau d'au moins 5 %, plus adéquatement  
au moins 10 % et en particulier au moins 20 % du titre  
sérique deux semaines après l'administration finale.  
Adéquatement, l'anticorps sera détectable chez au moins  
30 50 % des individus, plus adéquatement au moins 60 % des  
individus et en particulier au moins 75 %.

Adéquatement, la présente invention est capable d'atteindre une réponse immunitaire plus durable d'après les taux de répondeurs. Adéquatement, jusqu'à 10 %, jusqu'à 15 %, jusqu'à 20 %, jusqu'à 25 %, jusqu'à 5 30 %, jusqu'à 35 %, jusqu'à 40 %, jusqu'à 45 %, jusqu'à 50 %, jusqu'à 55 %, jusqu'à 60 %, jusqu'à 65 % jusqu'à 70 %, jusqu'à 80 %, jusqu'à 90 % ou jusqu'à 100 % des individus vaccinés montent une réponse humorale accrue telle qu'un taux sérique accru d'anticorps IgG se liant 10 à la région V1V2 du polypeptide apparenté à la gp120 de la composition.

#### Moyen de vaccination

Les compositions immunogènes de l'invention 15 peuvent être administrées par toute voie d'apport convenable, telle que par voie intradermique, muqueuse, par exemple intranasale, orale, intramusculaire ou sous-cutanée. D'autres voies d'apport sont bien connues dans l'art. La voie d'apport intramusculaire est 20 préférée pour la composition immunogène.

L'apport intradermique est une autre voie convenable. Tout dispositif convenable peut être utilisé pour l'apport intradermique, par exemple des dispositifs à courte aiguille tels que ceux décrits 25 dans le document US 4 886 499. Des vaccins intradermiques peuvent également être administrés par des dispositifs qui limitent la longueur de pénétration efficace d'une aiguille dans la peau. Conviennent également des dispositifs d'injection à jet qui 30 délivrent des vaccins liquides au derme via un injecteur à jet liquide ou bien une aiguille qui perce

le stratum corneum et produit un jet qui atteint le derme. Des dispositifs d'injection à jet sont décrits par exemple dans le document US 5 480 381. Conviennent également des dispositifs d'apport de poudre/particules balistiques qui utilisent un gaz comprimé pour accélérer le vaccin sous forme de poudre à travers les couches externes de la peau vers le derme. Additionnellement, on peut utiliser des seringues classiques dans la méthode de Mantoux classique d'administration intradermique.

Une autre voie d'administration convenable est la voie sous-cutanée. Tout dispositif convenable peut être utilisé pour l'apport sous-cutané, par exemple une aiguille classique. Adéquatement, un dispositif d'injection à jet sans aiguille est utilisé, tel que publié dans le document US 6 623 446. Plus adéquatement, ledit dispositif est prérempli avec la formulation de vaccin liquide.

En variante, le vaccin est administré par voie intranasale. Typiquement, le vaccin est administré par voie locale à la zone nasopharyngée, adéquatement sans être inhalé dans les poumons. Il est souhaitable d'utiliser un dispositif d'apport intranasal qui délivre la formulation de vaccin à la zone nasopharyngée, sans ou sensiblement sans qu'elle n'entre dans les poumons.

Dans un aspect spécifique de la présente invention, la composition immunogène peut être donnée par voie intramusculaire pour la première administration, et une composition de rappel peut être administrée par une

voie différente, par exemple intradermique, sous-cutanée ou intranasale.

Dans un aspect de l'invention, un programme de vaccination avec la composition immunogène peut  
5 comprendre l'administration séquentielle (« injection initiale-rappel ») concomitante ou simultanée de la composition immunogène et d'ADN codant l'une quelconque des protéines susmentionnées.

Dans un mode de réalisation, le programme de  
10 vaccination avec la composition immunogène consiste en trois à cinq (par exemple quatre) administrations de la composition immunogène à un individu sur une période de quatre à huit (par exemple cinq à sept) mois. Adéquatement, le programme de vaccination avec la  
15 composition immunogène consiste en quatre administrations de la composition immunogène à un individu sur une période de cinq à sept mois.

Adéquatement, le polypeptide apparenté à la gp120 de l'invention peut être remplacé par un polynucléotide  
20 codant le polypeptide apparenté à la gp120 de l'invention. Adéquatement, le polynucléotide est optimisé en codon.

L'ADN peut être apporté sous forme d'ADN plasmidique ou sous la forme d'un vecteur vivant  
25 recombinant, par exemple un vecteur de poxvirus ou tout autre vecteur vivant convenable tel qu'un rétrovirus, un lentivirus, un adénovirus, un virus adéno-associé et le virus de la vaccine d'Ankara modifiée (VAM). Adéquatement, on utilise un adénovirus. En variante, on  
30 peut utiliser un poxvirus du canari.

La composition immunogène peut être injectée une ou plusieurs fois après une ou plusieurs administrations d'ADN. L'ADN peut être utilisé tout d'abord pour une ou plusieurs administrations suivies  
5 par une ou plusieurs immunisations avec la composition immunogène. En variante, la composition immunogène peut être injectée une ou plusieurs fois conjointement avec des administrations d'ADN.

#### 10 Antirétroviraux

Le VIH est un rétrovirus. La conversion de son ARN en ADN est accomplie par l'action de l'enzyme transcriptase inverse. Des composés qui inhibent la fonction de la transcriptase inverse inhibent la  
15 répllication du VIH dans des cellules infectées. Des médicaments incorporant de tels composés sont utiles dans la prévention ou le traitement d'une infection par le VIH chez des humains et peuvent être utilisés conjointement avec une composition de la présente  
20 invention.

La composition de la présente invention peut être administrée conjointement avec (c'est-à-dire, avant, pendant ou après l'administration de) une thérapie aux antirétroviraux (TAR) tels que des inhibiteurs de  
25 transcriptase inverse nucléosidiques ou non-nucléosidiques, des inhibiteurs de protéase, des inhibiteurs de fusion, des inhibiteurs d'entrée, des inhibiteurs de maturation, des inhibiteurs cellulaires et des inhibiteurs de transfert de brin d'intégrase.

30 Les médicaments antirétroviraux incluent la lamivudine et la zidovudine, l'emtricitabine (FTC), la

zidovudine (ZDV), l'azidothymidine (AZT), la lamivudine (3TC), la zalcitabine, la didésoxycytidine (ddC), le fumarate de ténofovir disoproxil (TDF), la didanosine (ddI), la stavudine (d4T), le sulfate d'abacavir (ABC),  
5 l'étravirine, la délavirdine (DLV), l'éfavirenz (EFV), la névirapine (NVP), l'amprénavir (APV), le tipranavir (TPV), l'indinavir (IDV), le saquinavir, le mésylate de saquinavir (SQV), le lopinavir (LPV), le ritonavir (RTV), le fosamprénavir calcium (FOS-APV), le ritonavir,  
10 RTV, le darunavir, le sulfate d'atazanavir (ATV), le mésylate de nelfinavir (NFV), l'enfuvirtide, le T-20, le maraviroc, le dolutégravir et le raltégravir. Les médicaments TAR peuvent également inclure des anticorps, tels que l'ibalizumab, ciblant des protéines du VIH ou  
15 des protéines cellulaires associées à une progression de la maladie. Sont également incluses des immunothérapies, telles que l'IL-2, l'IL-12 et l'alpha-épi-bromure. Chacun de ces médicaments peut être administré seul ou en combinaison avec tout autre  
20 médicament TAR. On peut trouver des informations à propos des médicaments TAR et leur administration dans de nombreuses pharmacopées, telle que la Pharmacopée des Etats-Unis (USP) ou en accédant en ligne, tel que sur [www.aidsmeds.com](http://www.aidsmeds.com) (accédé le 5 septembre 2013). Les  
25 noms commerciaux de ces médicaments et des combinaisons de ces médicaments incluent Atripla (éfavirenz, emtricitabine et fumarate de ténofovir disoproxil), Complera (emtricitabine, rilpivirine et fumarate de ténofovir disoproxil), Stribild (elvitégravir,  
30 cobicistat, emtricitabine, fumarate de ténofovir disoproxil), Combivir (lamivudine et zidovudine),

Emtriva (emtricitabine, FTC), Epivir (lamivudine, 3TC),  
Epzicom (abacavir et lamivudine), Hivid (zalcitabine,  
didésoxycytidine, ddC), Retrovir (zidovudine,  
azidothymidine, AZT, ZDV), Trizivir (abacavir,  
5 zidovudine et lamivudine), Truvada (fumarate de  
ténofovir disoproxil et emtricitabine), Videx EC  
(didanosine à enrobage entérique, ddI EC), Videx  
(didanosine, didésoxyinosine, ddI), Viread (fumarate de  
ténofovir disoproxil, TDF), Zerit (stavudine, d4T),  
10 Ziagen (sulfate d'abacavir, ABC), rilpivirine,  
étravirine, Rescriptor (délavirdine, DLV), Sustiva  
(éfavirenz, EFV), Viramune (névirapine, NVP), Agenerase  
(amprénavir, APV), Aptivus (tipranavir, TPV),  
saquinavir, Invirase (mésylate de saquinavir, SQV),  
15 Kaletra (lopinavir et ritonavir, LPV/RTV), Lexiva  
(fosamprénavir calcium, FOS-APV), Norvir (ritonavir,  
RTV), darunavir, Reyataz (sulfate d'atazanavir, ATV),  
Viracept (mésylate de nelfinavir, NFV), Fuzeon  
(enfuvirtide, T-20), maraviroc, raltégravir,  
20 dolutégravir.

Dans un mode de réalisation, la composition  
immunogène est administrée à un patient qui prend  
également des antirétroviraux. Dans un mode de  
réalisation supplémentaire, la composition immunogène  
25 est administrée à un patient qui a pris antérieurement  
des antirétroviraux. Dans un mode de réalisation  
supplémentaire, la composition immunogène est  
administrée à un patient qui ne prend pas et n'a pas  
pris antérieurement d'antirétroviraux.

30 Dans un mode de réalisation, la composition  
immunogène est administrée à un patient ayant une

numération CD4 de 200 ou plus, adéquatement 500 ou plus,  
Le plus adéquatement entre 500 et 1700 cellules par  
millimètre cube de sang. Dans un mode de réalisation  
supplémentaire, la composition immunogène est  
5 administrée à un patient ayant une numération CD4 nadir  
de 200 ou plus, plus adéquatement 500 ou plus cellules  
par millimètre cube de sang.

Dans un mode de réalisation, la composition  
immunogène est administrée à un sujet, tel qu'un humain,  
10 qui n'est pas infecté par le VIH. Dans un mode de  
réalisation, la composition immunogène est administrée  
à un sujet, tel qu'un humain, qui est infecté par le  
VIH.

Dans un aspect de l'invention, il est proposé une  
15 protéine apparentée à la gp120 pour une utilisation  
dans la fabrication d'une composition immunogène telle  
que décrite ici, tel que pour la prophylaxie ou une  
infection par le VIH. En variante, la composition peut  
être destinée au traitement d'une infection par le VIH.

20 Dans un aspect supplémentaire, il est proposé un  
procédé de prophylaxie d'une infection par le VIH par  
administration d'une composition immunogène telle que  
décrite ici à un mammifère, tel qu'un humain. Une telle  
administration peut réduire le risque d'infection par  
25 le VIH et/ou la sévérité de l'infection par le VIH.

Dans un aspect supplémentaire, il est proposé un  
procédé de traitement d'une infection par le VIH par  
administration d'une composition immunogène telle que  
décrite ici à un mammifère infecté par le VIH, tel  
30 qu'un humain. Une telle administration peut réduire la  
sévérité d'une infection par le VIH.

Dans un aspect supplémentaire, il est proposé un procédé de réduction du risque de transmission du VIH d'un individu infecté par le VIH à un partenaire dudit individu infecté par le VIH, par administration d'une  
5 composition immunogène telle que décrite ici à l'individu infecté par le VIH.

Il est également proposé une composition immunogène telle que décrite ici pour une utilisation dans la prophylaxie d'une infection par le VIH.

10 Il est également proposé une composition immunogène telle que décrite ici pour une utilisation dans le traitement d'une infection par le VIH.

L'invention est illustrée à l'aide des clauses suivantes.

15 Clause 1. Composition immunogène comprenant un polypeptide apparenté à la gp120 et un adjuvant, dans laquelle l'adjuvant comprend un lipopolysaccharide et une fraction de saponine immunologiquement active dérivée de  
20 l'écorce de Quillaja saponaria Molina présentée sous la forme d'un liposome et dans laquelle la composition est sensiblement dépourvue de polypeptide apparenté à NefTat, dans laquelle le polypeptide apparenté à  
25 NefTat est un polypeptide consistant en SEQ ID NO : 4.

Clause 2. Composition immunogène qui se présente sous la forme d'une dose humaine comprenant un polypeptide apparenté à la gp120 et un  
30 adjuvant, dans laquelle l'adjuvant comprend entre 10 et 40  $\mu$ g d'un lipopolysaccharide et

entre 10 et 40  $\mu\text{g}$  d'une fraction de saponine immunologiquement active dérivée de l'écorce de Quillaja saponaria Molina présentée sous la forme d'un liposome.

5 Clause 3. Composition immunogène comprenant un polypeptide apparenté à la gp120 et un adjuvant, dans laquelle l'adjuvant comprend un lipopolysaccharide et une fraction de saponine immunologiquement active dérivée de  
10 l'écorce de Quillaja saponaria Molina présentée sous la forme d'un liposome dans laquelle :

(i) la conductivité de la composition est de 13 mS/cm ou moins ; et/ou

15 (ii) la concentration en sels dans ladite composition est de 130 mM ou moins ; et/ou

(iii) la concentration en chlorure de sodium dans ladite composition est de 130 mM ou moins.

20 Clause 4. Composition immunogène selon l'une quelconque des clauses 2 ou 3, qui est sensiblement dépourvue d'un polypeptide apparenté à NefTat, dans laquelle le polypeptide apparenté à NefTat est un polypeptide consistant en  
25 SEQ ID NO : 4.

Clause 5. Composition immunogène selon l'une quelconque des clauses 1 ou 4, qui contient un rapport polypeptide apparenté à NefTat : polypeptide apparenté à la gp120 de moins de 1 : 20.

- Clause 6. Composition immunogène selon l'une quelconque des clauses 1 ou 4, qui contient moins de 1  $\mu$ g de polypeptide apparenté à NefTat.
- 5 Clause 7. Composition immunogène selon l'une quelconque des clauses 5 ou 6 dans laquelle la composition est dépourvue de polypeptide apparenté à NefTat.
- 10 Clause 8. Composition immunogène selon l'une quelconque des clauses 1 ou 4 à 7, dans laquelle le polypeptide apparenté à NefTat comprend un polypeptide avec au moins 99 % d'identité avec SEQ ID NO : 4.
- 15 Clause 9. Composition immunogène selon la clause 8, dans laquelle le polypeptide apparenté à NefTat comprend un polypeptide avec au moins 90 % d'identité avec SEQ ID NO : 4.
- 20 Clause 10. Composition immunogène selon la clause 9, dans laquelle le polypeptide apparenté à NefTat comprend un polypeptide avec au moins 80 % d'identité avec SEQ ID NO : 4.
- Clause 11. Composition immunogène selon la clause 10, dans laquelle le polypeptide apparenté à NefTat comprend un polypeptide avec au moins 70 % d'identité avec SEQ ID NO : 4.
- 25 Clause 12. Composition immunogène selon l'une quelconque des clauses 1 ou 4, qui contient un rapport polypeptide apparenté à Nef : polypeptide apparenté à la gp120 de moins de 1 : 20.

- Clause 13. Composition immunogène selon l'une quelconque des clauses 1 ou 4, qui contient moins de 1  $\mu$ g de polypeptide apparenté à Nef.
- 5 Clause 14. Composition immunogène selon l'une quelconque des clauses 12 ou 13, dans laquelle la composition est dépourvue de polypeptide apparenté à Nef.
- 10 Clause 15. Composition immunogène selon l'une quelconque des clauses 1, 4 ou 12 à 14, dans laquelle le polypeptide apparenté à Nef comprend un polypeptide avec au moins 99 % d'identité avec SEQ ID NO : 2.
- 15 Clause 16. Composition immunogène selon la clause 15, dans laquelle le polypeptide apparenté à Nef comprend un polypeptide avec au moins 90 % d'identité avec SEQ ID NO : 2.
- 20 Clause 17. Composition immunogène selon la clause 16, dans laquelle le polypeptide apparenté à Nef comprend un polypeptide avec au moins 80 % d'identité avec SEQ ID NO : 2.
- Clause 18. Composition immunogène selon la clause 17, dans laquelle le polypeptide apparenté à Nef comprend un polypeptide avec au moins 70 % d'identité avec SEQ ID NO : 2.
- 25 Clause 19. Composition immunogène selon l'une quelconque des clauses 1 ou 4, qui contient un rapport polypeptide apparenté à Tat : polypeptide apparenté à la gp120 de moins de 1 : 20.

- Clause 20. Composition immunogène selon l'une quelconque des clauses 1 ou 4, qui contient moins de 1  $\mu\text{g}$  de polypeptide apparenté à Tat.
- 5 Clause 21. Composition immunogène selon l'une quelconque des clauses 19 ou 20, dans laquelle la composition est dépourvue de polypeptide apparenté à Tat.
- 10 Clause 22. Composition immunogène selon l'une quelconque des clauses 1, 4 ou 19 à 21, dans laquelle le polypeptide apparenté à Tat comprend un polypeptide avec au moins 99 % d'identité avec SEQ ID NO : 3.
- 15 Clause 23. Composition immunogène selon la clause 22, dans laquelle le polypeptide apparenté à Tat comprend un polypeptide avec au moins 90 % d'identité avec SEQ ID NO : 3.
- 20 Clause 24. Composition immunogène selon la clause 23, dans laquelle le polypeptide apparenté à Tat comprend un polypeptide avec au moins 80 % d'identité avec SEQ ID NO : 3.
- Clause 25. Composition immunogène selon la clause 24, dans laquelle le polypeptide apparenté à Tat comprend un polypeptide avec au moins 70 % d'identité avec SEQ ID NO : 3.
- 25 Clause 26. Composition immunogène selon l'une quelconque des clauses 1 ou 3 à 25, dans laquelle le lipopolysaccharide est présent à un taux entre 10 et 100  $\mu\text{g}$ .
- 30 Clause 27. Composition immunogène selon la clause 26, dans laquelle le lipopolysaccharide est présent à un taux entre 15 et 80  $\mu\text{g}$ .

- Clause 28. Composition immunogène selon la clause 27, dans laquelle le lipopolysaccharide est présent à un taux entre 20 et 65  $\mu\text{g}$ .
- 5 Clause 29. Composition immunogène selon la clause 28, dans laquelle le lipopolysaccharide est présent à un taux entre 30 et 60  $\mu\text{g}$ .
- Clause 30. Composition immunogène selon la clause 29, dans laquelle le lipopolysaccharide est présent à un taux entre 45 et 55  $\mu\text{g}$ .
- 10 Clause 31. Composition immunogène selon la clause 30, dans laquelle le lipopolysaccharide est présent à un taux de 50  $\mu\text{g}$ .
- Clause 32. Composition immunogène selon l'une quelconque des clauses 1 ou 3 à 31, dans laquelle la saponine est présente à un taux entre 10 et 100  $\mu\text{g}$ .
- 15 Clause 33. Composition immunogène selon la clause 32, dans laquelle la saponine est présente à un taux entre 15 et 80  $\mu\text{g}$ .
- 20 Clause 34. Composition immunogène selon la clause 33, dans laquelle la saponine est présente à un taux entre 20 et 65  $\mu\text{g}$ .
- Clause 35. Composition immunogène selon la clause 34, dans laquelle la saponine est présente à un taux entre 30 et 60  $\mu\text{g}$ .
- 25 Clause 36. Composition immunogène selon la clause 35, dans laquelle la saponine est présente à un taux entre 45 et 55  $\mu\text{g}$ .
- Clause 37. Composition immunogène selon la clause 36, dans laquelle la saponine est présente à un taux de 50  $\mu\text{g}$ .
- 30

- Clause 38. Composition immunogène selon l'une quelconque des clauses 1 à 25, dans laquelle le lipopolysaccharide est présent à un taux entre 15 à 35  $\mu\text{g}$ .
- 5 Clause 39. Composition immunogène selon la clause 38, dans laquelle le lipopolysaccharide est présent à un taux entre 20 à 30  $\mu\text{g}$ .
- Clause 40. Composition immunogène selon la clause 39, dans laquelle le lipopolysaccharide est  
10 présent à un taux de 25  $\mu\text{g}$ .
- Clause 41. Composition immunogène selon l'une quelconque des clauses 1 à 31, dans laquelle la saponine est présente à un taux entre 15 à 35  $\mu\text{g}$ .
- 15 Clause 42. Composition immunogène selon la clause 41, dans laquelle la saponine est présente à un taux entre 20 à 30  $\mu\text{g}$ .
- Clause 43. Composition immunogène selon la clause 42, dans laquelle la saponine est présente à  
20 un taux de 25  $\mu\text{g}$ .
- Clause 44. Composition immunogène selon l'une quelconque des clauses 1 à 43, dans laquelle le lipopolysaccharide est 3D-MPL.
- Clause 45. Composition immunogène selon l'une  
25 quelconque des clauses 1 à 44, dans laquelle la saponine est QS-21.
- Clause 46. Composition immunogène selon l'une quelconque des clauses 1, 2 ou 4 à 45, dans laquelle :
- 30 (i) la conductivité de la composition est de 13 mS/cm ou moins ; et/ou

(ii) la concentration en sels dans ladite composition est de 130 mM ou moins, et/ou

(iii) la concentration en chlorure de sodium dans ladite composition est de 130 mM ou moins.

5

Clause 47. Composition immunogène selon la clause 46, dans laquelle la conductivité de la composition est de 13 mS/cm ou moins.

10 Clause 48. Composition immunogène selon la clause 47, dans laquelle la conductivité de la composition est de 6 mS/cm ou moins.

Clause 49. Composition immunogène selon la clause 48, dans laquelle la conductivité de la composition est de 1,5 à 2,5 mS/cm.

15 Clause 50. Composition immunogène selon la clause 46, dans laquelle la concentration en sels dans ladite composition est de 130 mM ou moins.

20 Clause 51. Composition immunogène selon la clause 50, dans laquelle la concentration en sels dans ladite composition est de 60 mM ou moins.

Clause 52. Composition immunogène selon la clause 51, dans laquelle la concentration en sels dans ladite composition est de 20 à 40 mM.

25 Clause 53. Composition immunogène selon la clause 46, dans laquelle la concentration en chlorure de sodium dans ladite composition est de 130 mM ou moins.

30 Clause 54. Composition immunogène selon la clause 53, dans laquelle la concentration en

chlorure de sodium dans ladite composition est de 60 mM ou moins.

5 Clause 55. Composition immunogène selon la clause 54, dans laquelle la concentration en chlorure de sodium dans ladite composition est de 10 mM ou moins.

10 Clause 56. Composition immunogène selon l'une quelconque des clauses 1 à 55, dans laquelle la concentration en  $\text{CaCl}_2$  dans la composition immunogène est de 30 mM ou moins.

Clause 57. Composition immunogène selon l'une quelconque des clauses 1 à 56, dans laquelle la concentration en  $\text{MgSO}_4$  dans la composition immunogène est de 60 mM ou moins.

15 Clause 58. Composition immunogène selon l'une quelconque des clauses 1 à 57, la concentration totale en ions  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  et  $\text{Ca}^{2+}$  étant de 40 mM ou moins.

20 Clause 59. Composition immunogène selon l'une quelconque des clauses 1 à 58, qui est une solution aqueuse.

Clause 60. Composition immunogène selon l'une quelconque des clauses 1 à 59, qui est une dose humaine unique.

25 Clause 61. Composition immunogène selon l'une quelconque des clauses 1 à 60, dans laquelle la dose humaine est entre 0,1 et 1 mL.

30 Clause 62. Composition immunogène selon la clause 61, dans laquelle la dose humaine est entre 0,3 and 0,75 mL.

- Clause 63. Composition immunogène selon la clause 62, dans laquelle la dose humaine est de 0,5 mL.
- 5 Clause 64. Composition immunogène selon l'une quelconque des clauses 1 à 60, dans laquelle la dose humaine est entre 0,05 et 0,2 mL.
- Clause 65. Composition immunogène selon l'une quelconque des clauses 1 à 64, dans laquelle l'osmolalité est dans la plage de 250 à 10 750 mOsm/kg.
- Clause 66. Composition immunogène selon la clause 65, dans laquelle l'osmolalité est dans la plage de 250 à 550 mOsm/kg.
- Clause 67. Composition immunogène selon l'une 15 quelconque des clauses 1 à 66, comprenant un agent de tonicité non ionique.
- Clause 68. Composition immunogène selon la clause 67, dans laquelle l'agent de tonicité non ionique est un polyol.
- 20 Clause 69. Composition immunogène selon la clause 68, dans laquelle le polyol est le sorbitol.
- Clause 70. Composition immunogène selon la clause 69, dans laquelle la concentration en sorbitol est entre environ 4 et environ 25 6 % (p/v).
- Clause 71. Composition immunogène selon l'une quelconque des clauses 1 to 70, dans laquelle la concentration en saccharose est entre environ 4 et environ 6 % (p/v).

- Clause 72. Composition immunogène selon l'une quelconque des clauses 1 à 71, dans laquelle le pH est dans la plage de 6,0 à 9,0.
- 5 Clause 73. Composition immunogène selon l'une quelconque des clauses 1 à 72, dans laquelle la composition comprend le polypeptide apparenté à la gp120 à un taux d'environ 1 à 100  $\mu\text{g}$ .
- 10 Clause 74. Composition immunogène selon la clause 73, dans laquelle la composition comprend le polypeptide apparenté à la gp120 à un taux de 3 à 30  $\mu\text{g}$ .
- 15 Clause 75. Composition immunogène selon la clause 74, dans laquelle la composition comprend le polypeptide apparenté à la gp120 à un taux de 5 à 15  $\mu\text{g}$ .
- 20 Clause 76. Composition immunogène selon la clause 74, dans laquelle la composition comprend le polypeptide apparenté à la gp120 à un taux de 16 à 25  $\mu\text{g}$ .
- Clause 77. Composition immunogène selon l'une quelconque des clauses 1 à 76, dans laquelle la composition comprend 1 à 5 antigènes de VIH additionnels.
- 25 Clause 78. Composition immunogène selon la clause 77, dans laquelle la composition comprend des antigènes de VIH additionnels choisis dans la liste consistant en gp160, gp41, MA, CA, SP1, NC, SP2, P6, RT, RNase H, IN, PR, Rev, Vif, 30 Vpr et Vpu.

- Clause 79. Composition immunogène selon l'une quelconque des clauses 1 à 78, dans laquelle la composition comprend un total d'environ 1 à 500  $\mu$ g de matière antigénique.
- 5 Clause 80. Composition selon l'une quelconque des clauses 1 à 79, dans laquelle le polypeptide apparenté à la gp120 comprend un polypeptide de gp120 dérivé de VIH-1.
- 10 Clause 81. Composition selon la clause 80, dans laquelle le polypeptide apparenté à la gp120 comprend un polypeptide de gp120 dérivé de VIH-1 groupe M.
- 15 Clause 82. Composition selon la clause 81, dans laquelle le polypeptide apparenté à la gp120 comprend un polypeptide de gp120 dérivé de VIH-1 groupe M sous-type C.
- 20 Clause 83. Composition selon la clause 82, dans laquelle le polypeptide apparenté à la gp120 comprend un polypeptide de gp120 dérivé de VIH-1 groupe M sous-type B.
- 25 Clause 84. Composition selon l'une quelconque des clauses 1 à 81 et 83, dans laquelle le polypeptide apparenté à la gp120 comprend un polypeptide avec au moins 70 % d'identité avec la région V1V2 de SEQ ID NO : 1.
- 30 Clause 85. Composition selon la clause 84, dans laquelle le polypeptide apparenté à la gp120 comprend un polypeptide avec au moins 80 % d'identité avec la région V1V2 de SEQ ID NO : 1.

- 5 Clause 86. Composition selon la clause 85, dans laquelle le polypeptide apparenté à la gp120 comprend un polypeptide avec au moins 90 % d'identité avec la région V1V2 de SEQ ID NO : 1.
- 10 Clause 87. Composition selon la clause 86, dans laquelle le polypeptide apparenté à la gp120 comprend un polypeptide avec au moins 95 % d'identité avec la région V1V2 de SEQ ID NO : 1.
- 15 Clause 88. Composition selon la clause 87, dans laquelle le polypeptide apparenté à la gp120 comprend un polypeptide avec au moins 98 % d'identité avec la région V1V2 de SEQ ID NO : 1.
- 20 Clause 89. Composition selon la clause 88, dans laquelle le polypeptide apparenté à la gp120 comprend un polypeptide avec au moins 99 % d'identité avec la région V1V2 de SEQ ID NO : 1.
- 25 Clause 90. Composition selon la clause 89, dans laquelle le polypeptide apparenté à la gp120 comprend la région V1V2 de SEQ ID NO : 1.
- Clause 91. Composition selon l'une quelconque des clauses 1 à 81 et 83 à 90, dans laquelle le polypeptide apparenté à la gp120 consiste en un polypeptide avec au moins 70 % d'identité avec la région V1V2 de SEQ ID NO : 1.
- 30 Clause 92. Composition selon la clause 91, dans laquelle le polypeptide apparenté à la gp120 consiste en un polypeptide avec au moins 80 %

d'identité avec la région V1V2 de  
SEQ ID NO : 1.

5 Clause 93. Composition selon la clause 92, dans  
laquelle le polypeptide apparenté à la gp120  
consiste en un polypeptide avec au moins 90 %  
d'identité avec la région V1V2 de  
SEQ ID NO : 1.

10 Clause 94. Composition selon la clause 93, dans  
laquelle le polypeptide apparenté à la gp120  
consiste en un polypeptide avec au moins 95 %  
d'identité avec la région V1V2 de  
SEQ ID NO : 1.

15 Clause 95. Composition selon la clause 94, dans  
laquelle le polypeptide apparenté à la gp120  
consiste en un polypeptide avec au moins 98 %  
d'identité avec la région V1V2 de  
SEQ ID NO : 1.

20 Clause 96. Composition selon la clause 95, dans  
laquelle le polypeptide apparenté à la gp120  
consiste en un polypeptide avec au moins 99 %  
d'identité avec la région V1V2 de  
SEQ ID NO : 1.

25 Clause 97. Composition selon la clause 96, dans  
laquelle le polypeptide apparenté à la gp120  
consiste en la région V1V2 de SEQ ID NO : 1.

30 Clause 98. Composition selon l'une quelconque des  
clauses 1 à 81 et 83 à 97, dans laquelle le  
polypeptide apparenté à la gp120 comprend un  
polypeptide avec au moins 70 % d'identité  
avec SEQ ID NO : 1.

Clause 99. Composition selon la clause 98, dans laquelle le polypeptide apparenté à la gp120 comprend un polypeptide avec au moins 80 % d'identité avec SEQ ID NO : 1.

5 Clause 100. Composition selon la clause 99, dans laquelle le polypeptide apparenté à la gp120 comprend un polypeptide avec au moins 90 % d'identité avec SEQ ID NO : 1.

10 Clause 101. Composition selon la clause 100, dans laquelle le polypeptide apparenté à la gp120 comprend un polypeptide avec au moins 95 % d'identité avec SEQ ID NO : 1.

15 Clause 102. Composition selon la clause 101, dans laquelle le polypeptide apparenté à la gp120 comprend un polypeptide avec au moins 98 % d'identité avec SEQ ID NO : 1.

20 Clause 103. Composition selon la clause 102, dans laquelle le polypeptide apparenté à la gp120 comprend un polypeptide avec au moins 99 % d'identité avec SEQ ID NO : 1.

Clause 104. Composition selon la clause 103, dans laquelle le polypeptide apparenté à la gp120 comprend SEQ ID NO : 1.

25 Clause 105. Composition selon l'une quelconque des clauses 1 à 81 et 83 à 104, dans laquelle le polypeptide apparenté à la gp120 consiste en un polypeptide avec au moins 70 % d'identité avec SEQ ID NO : 1.

30 Clause 106. Composition selon la clause 105, dans laquelle le polypeptide apparenté à la gp120

- consiste en un polypeptide avec au moins 80 %  
d'identité avec SEQ ID NO : 1.
- 5 Clause 107. Composition selon la clause 106, dans  
laquelle le polypeptide apparenté à la gp120  
consiste en un polypeptide avec au moins 90 %  
d'identité avec SEQ ID NO: 1.
- 10 Clause 108. Composition selon la clause 107, dans  
laquelle le polypeptide apparenté à la gp120  
consiste en un polypeptide avec au moins 95 %  
d'identité avec SEQ ID NO : 1.
- Clause 109. Composition selon la clause 108, dans  
laquelle le polypeptide apparenté à la gp120  
consiste en un polypeptide avec au moins 98 %  
d'identité avec SEQ ID NO : 1.
- 15 Clause 110. Composition selon la clause 109, dans  
laquelle le polypeptide apparenté à la gp120  
consiste en un polypeptide avec au moins 99 %  
d'identité avec SEQ ID NO : 1.
- 20 Clause 111. Composition selon la clause 110, dans  
laquelle le polypeptide apparenté à la gp120  
consiste en SEQ ID NO : 1.
- 25 Clause 112. Composition selon l'une quelconque des  
clauses 1 à 82, dans laquelle le polypeptide  
apparenté à la gp120 comprend un polypeptide  
avec au moins 70 % d'identité avec la région  
V1V2 de SEQ ID NO : 5.
- 30 Clause 113. Composition selon la clause 112, dans  
laquelle le polypeptide apparenté à la gp120  
comprend un polypeptide avec au moins 80 %  
d'identité avec la région V1V2 de  
SEQ ID NO : 5.

- 5 Clause 114. Composition selon la clause 113, dans laquelle le polypeptide apparenté à la gp120 comprend un polypeptide avec au moins 90 % d'identité avec la région V1V2 de SEQ ID NO : 5.
- 10 Clause 115. Composition selon la clause 114, dans laquelle le polypeptide apparenté à la gp120 comprend un polypeptide avec au moins 95 % d'identité avec la région V1V2 de SEQ ID NO : 5.
- 15 Clause 116. Composition selon la clause 115, dans laquelle le polypeptide apparenté à la gp120 comprend un polypeptide avec au moins 98 % d'identité avec la région V1V2 de SEQ ID NO : 5.
- 20 Clause 117. Composition selon la clause 116, dans laquelle le polypeptide apparenté à la gp120 comprend un polypeptide avec au moins 99 % d'identité avec la région V1V2 de SEQ ID NO : 5.
- 25 Clause 118. Composition selon la clause 117, dans laquelle le polypeptide apparenté à la gp120 comprend la région V1V2 de SEQ ID NO : 5.
- 30 Clause 119. Composition selon l'une quelconque des clauses 1 à 82 et 112 à 118, dans laquelle le polypeptide apparenté à la gp120 consiste en un polypeptide avec au moins 70 % d'identité avec la région V1V2 de SEQ ID NO : 5.
- Clause 120. Composition selon la clause 119, dans laquelle le polypeptide apparenté à la gp120 consiste en un polypeptide avec au moins 80 %

d'identité avec la région V1V2 de  
SEQ ID NO : 5.

5 Clause 121. Composition selon la clause 120, dans  
laquelle le polypeptide apparenté à la gp120  
consiste en un polypeptide avec au moins 90 %  
d'identité avec la région V1V2 de  
SEQ ID NO : 5.

10 Clause 122. Composition selon la clause 121, dans  
laquelle le polypeptide apparenté à la gp120  
consiste en un polypeptide avec au moins 95 %  
d'identité avec la région V1V2 de  
SEQ ID NO : 5.

15 Clause 123. Composition selon la clause 122, dans  
laquelle le polypeptide apparenté à la gp120  
consiste en un polypeptide avec au moins 98 %  
d'identité avec la région V1V2 de  
SEQ ID NO : 5.

20 Clause 124. Composition selon la clause 123, dans  
laquelle le polypeptide apparenté à la gp120  
consiste en un polypeptide avec au moins 99 %  
d'identité avec la région V1V2 de  
SEQ ID NO : 5.

25 Clause 125. Composition selon la clause 124, dans  
laquelle le polypeptide apparenté à la gp120  
consiste en la région V1V2 de SEQ ID NO : 5.

30 Clause 126. Composition selon l'une quelconque des  
clauses 1 à 82 et 112 à 125, dans laquelle le  
polypeptide apparenté à la gp120 comprend un  
polypeptide avec au moins 70 % d'identité  
avec SEQ ID NO : 5.

- Clause 127. Composition selon la clause 126, dans laquelle le polypeptide apparenté à la gp120 comprend un polypeptide avec au moins 80 % d'identité avec SEQ ID NO : 5.
- 5 Clause 128. Composition selon la clause 127, dans laquelle le polypeptide apparenté à la gp120 comprend un polypeptide avec au moins 90 % d'identité avec SEQ ID NO : 5.
- Clause 129. Composition selon la clause 128, dans  
10 laquelle le polypeptide apparenté à la gp120 comprend un polypeptide avec au moins 95 % d'identité avec SEQ ID NO : 5.
- Clause 130. Composition selon la clause 129, dans  
15 laquelle le polypeptide apparenté à la gp120 comprend un polypeptide avec au moins 98 % d'identité avec SEQ ID NO : 5.
- Clause 131. Composition selon la clause 130, dans  
20 laquelle le polypeptide apparenté à la gp120 comprend un polypeptide avec au moins 99 % d'identité avec SEQ ID NO : 5.
- Clause 132. Composition selon la clause 131, dans laquelle le polypeptide apparenté à la gp120 comprend SEQ ID NO : 5.
- Clause 133. Composition selon l'une quelconque des  
25 clauses 1 à 82 et 112 à 132, dans laquelle le polypeptide apparenté à la gp120 consiste en un polypeptide avec au moins 70 % d'identité avec SEQ ID NO : 5.
- Clause 134. Composition selon la clause 133, dans  
30 laquelle le polypeptide apparenté à la gp120

consiste en un polypeptide avec au moins 80 %  
d'identité avec SEQ ID NO : 5.

5 Clause 135. Composition selon la clause 134, dans  
laquelle le polypeptide apparenté à la gp120  
consiste en un polypeptide avec au moins 90 %  
d'identité avec SEQ ID NO : 5.

10 Clause 136. Composition selon la clause 135, dans  
laquelle le polypeptide apparenté à la gp120  
consiste en un polypeptide avec au moins 95 %  
d'identité avec SEQ ID NO : 5.

Clause 137. Composition selon la clause 136, dans  
laquelle le polypeptide apparenté à la gp120  
consiste en un polypeptide avec au moins 98 %  
d'identité avec SEQ ID NO : 5.

15 Clause 138. Composition selon la clause 137, dans  
laquelle le polypeptide apparenté à la gp120  
consiste en un polypeptide avec au moins 99 %  
d'identité avec SEQ ID NO : 5.

20 Clause 139. Composition selon la clause 138, dans  
laquelle le polypeptide apparenté à la gp120  
consiste en SEQ ID NO : 5.

25 Clause 140. Composition immunogène selon l'une  
quelconque des clauses 1 à 139, dans laquelle  
la composition comprend en outre un stérol,  
dans laquelle le rapport saponine : stérol  
est de 1 : 1 à 1 : 100 p/p.

Clause 141. Composition immunogène selon la clause  
140, dans laquelle le rapport  
saponine : stérol est de 1 : 1 à 1 : 5 p/p.

- Clause 142. Composition immunogène selon l'une quelconque des clauses 140 ou 141, dans laquelle ledit stérol est le cholestérol.
- 5 Clause 143. Composition immunogène selon l'une quelconque des clauses 1 à 142, qui est fournie dans une présentation multidose.
- Clause 144. Composition immunogène selon l'une quelconque des clauses 1 à 143, qui est fournie dans une présentation contenant un  
10 surplus de 1 à 50 % pour tenir compte des pertes pendant l'administration.
- Clause 145. Composition immunogène selon l'une quelconque des clauses 1 à 144, pour une utilisation comme médicament.
- 15 Clause 146. Composition immunogène selon la clause 145, pour une utilisation dans le traitement ou la prévention du VIH-1 issu du groupe M, N, O ou P.
- Clause 147. Composition immunogène selon la clause  
20 146, pour une utilisation dans le traitement ou la prévention du VIH-1 groupe M sous-type A, B, C, D, E, F, G, H, I, J ou K.
- Clause 148. Composition immunogène selon l'une  
25 quelconque des clauses 1 à 147, dans laquelle le polypeptide apparenté à la gp120 est dérivé d'un premier sous-type de VIH-1, pour une utilisation dans le traitement ou la prévention d'une infection par le VIH-1 par un second sous-type de VIH-1.
- 30 Clause 149. Composition immunogène selon l'une quelconque des clauses 1 à 148, dans laquelle

le polypeptide apparenté à la gp120 est dérivé d'un premier sous-type de VIH-1, pour une utilisation dans le traitement ou la prévention d'une infection par le VIH-1 par un second sous-type de VIH-1, dans laquelle les premier et second sous-types de VIH-1 ont des séquences de polypeptide de gp120 natives différentes.

5  
10  
15  
20  
25  
30

Clause 150. Composition immunogène selon la clause 149, dans laquelle le premier sous-type de VIH-1 est choisi dans la liste consistant en A, B, C, D, E, F, G, H, I, J ou K ; du VIH-1 groupe M.

Clause 151. Composition immunogène selon l'une quelconque des clauses 1 à 150, pour une utilisation dans l'induction d'une réponse immunitaire humorale contre des souches de VIH-1 issues d'un ou plusieurs sous-types différents du sous-type de VIH-1 duquel le polypeptide apparenté à la gp120 de la composition est dérivé.

Clause 152. Composition immunogène selon l'une quelconque des clauses 1 à 151, pour une utilisation dans le fait de susciter des anticorps contre la boucle V1V2 de gp120 du VIH-1.

Clause 153. Procédé de traitement ou de prophylaxie d'une infection, comprenant l'étape d'administration d'une composition selon l'une quelconque des clauses 1 à 152 à un individu.

Clause 154. Procédé de traitement ou de prophylaxie d'une infection par le VIH-1 selon la clause 153, comprenant en outre l'administration concomitante d'un médicament antirétroviral.

5 Clause 155. Procédé de traitement ou de prophylaxie d'une infection par le VIH-1 selon l'une ou l'autre des clauses 153 ou 154, dans lequel un anticorps IgG capable de se lier à la région V1V2 du polypeptide apparenté à la  
10 gp120 de la composition est détectable dans le sérum d'un individu au moins 24 semaines après l'administration unique de la composition ou la première administration de la composition au cours d'administrations  
15 répétées à l'individu.

Clause 156. Procédé de traitement ou de prophylaxie d'une infection par le VIH-1 selon la clause 155, dans lequel l'anticorps IgG est  
20 détectable au moins 48 semaines après l'administration unique de la composition ou la première administration de la composition au cours d'administrations répétées à l'individu.

Clause 157. Procédé de traitement ou de prophylaxie  
25 d'une infection par le VIH-1 selon la clause 156, dans lequel l'anticorps IgG est détectable au moins 72 semaines après l'administration unique de la composition ou la première administration de la composition  
30 au cours d'administrations répétées à l'individu.

5 Clause 158. Procédé de traitement ou de prophylaxie d'une infection par le VIH-1 selon la clause 157, dans lequel l'anticorps IgG est détectable au moins 96 semaines après l'administration unique de la composition ou la première administration de la composition au cours d'administrations répétées à l'individu.

10 Clause 159. Procédé de traitement ou de prophylaxie d'une infection par le VIH-1 selon l'une ou l'autre des clauses 153 ou 154, dans lequel un anticorps IgG capable de se lier à la région V1V2 du polypeptide apparenté à la gp120 de la composition est détectable dans  
15 le sérum d'un individu au moins 2 semaines après l'administration finale de la composition au cours d'administrations répétées à l'individu.

20 Clause 160. Procédé de traitement ou de prophylaxie d'une infection par le VIH-1 selon la clause 159, dans lequel l'anticorps IgG est détectable au moins 6 mois après l'administration finale de la composition au cours d'administrations répétées à l'individu.

25 Clause 161. Procédé de traitement ou de prophylaxie d'une infection par le VIH-1 selon la clause 160, dans lequel l'anticorps IgG est détectable au moins 12 mois après l'administration finale de la composition au  
30 cours d'administrations répétées à l'individu.

- 5 Clause 162. Procédé de traitement ou de prophylaxie d'une infection par le VIH-1 selon la clause 161, dans lequel l'anticorps IgG est détectable au moins 18 mois après l'administration finale de la composition au cours d'administrations répétées à l'individu.
- 10 Clause 163. Procédé de traitement ou de prophylaxie d'une infection par le VIH-1 selon l'une quelconque des clauses 155 à 158, dans lequel les taux d'anticorps sont détectables à au moins 5 % du titre sérique deux semaines après la seule administration.
- 15 Clause 164. Procédé de traitement ou de prophylaxie d'une infection par le VIH-1 selon l'une quelconque des clauses 155 à 162, dans lequel les taux d'anticorps sont détectables à au moins 5 % du titre sérique deux semaines après la première administration.
- 20 Clause 165. Procédé de traitement ou de prophylaxie d'une infection par le VIH-1 selon l'une quelconque des clauses 159 à 162, dans lequel les taux d'anticorps sont détectables à au moins 5 % du titre sérique deux semaines après l'administration finale.
- 25 Clause 166. Procédé de traitement ou de prophylaxie selon l'une quelconque des clauses 155 à 165, dans lequel l'anticorps sera détectable chez au moins 50 % des individus auxquels la composition est administrée.
- 30 Clause 167. Procédé de traitement ou de prophylaxie selon la clause 166, dans lequel l'anticorps

sera détectable chez au moins 80 % des individus auxquels la composition est administrée.

5 Clause 168. Procédé de traitement ou de prophylaxie selon l'une quelconque des clauses 153 à 167, dans lequel un polynucléotide codant un polypeptide apparenté à la gp120 est administré à l'individu et ultérieurement, la composition selon l'une quelconque des clauses 1 à 152 est administrée à l'individu.

10 Clause 169. Procédé de traitement ou de prophylaxie selon l'une quelconque des clauses 153 à 167, dans lequel la composition selon l'une quelconque des clauses 1 à 152 est administrée à l'individu et ultérieurement, un polynucléotide codant un polypeptide apparenté à la gp120 est administré à l'individu.

20 Clause 170. Procédé de réduction du risque de transmission du VIH d'un individu infecté par le VIH à un partenaire dudit individu infecté par le VIH comprenant l'étape d'administration de la composition immunogène selon l'une quelconque des clauses 1 à 152 à l'individu infecté par le VIH.

25 Clause 171. Procédé de préparation de la composition selon l'une quelconque des clauses 1 à 152, comprenant l'addition d'un polypeptide dérivé de la gp120 à un lipopolysaccharide et une fraction de saponine immunologiquement active

30

dérivée de l'écorce de Quillaja saponaria Molina présentée sous la forme d'un liposome.

5 Clause 172. Kit de préparation d'une composition immunogène selon l'une quelconque des clauses 1 à 152, comprenant un premier contenant et un second contenant, dans lequel le premier contenant comprend un polypeptide dérivé de la gp120 et le second contenant comprend un lipopolysaccharide et une fraction de saponine immunologiquement active dérivée de l'écorce de Quillaja saponaria Molina présentée sous la forme d'un liposome.

10 Clause 173. Kit selon la clause 172, dans lequel le second contenant comprend une solution aqueuse.

15 Clause 174. Vecteur viral comprenant un polynucléotide codant un polypeptide comprenant le gp120<sub>W61D</sub> de SEQ ID NO : 1.

20 Clause 175. Vecteur viral selon la clause 174, comprenant un polynucléotide codant un polypeptide consistant en le polypeptide gp120<sub>W61D</sub> de SEQ ID NO : 1.

25 Clause 176. Vecteur viral comprenant un polynucléotide codant un polypeptide comprenant le polypeptide gp120<sub>ZM18</sub> de SEQ ID NO : 5.

30 Clause 177. Vecteur viral selon la clause 176, comprenant un polynucléotide codant un polypeptide consistant en le polypeptide gp120<sub>ZM18</sub> de SEQ ID NO : 5.

Clause 178. Vecteur viral selon l'une quelconque des clauses 174 à 177, qui est un adénovirus, un poxvirus du canari ou un virus MVA.

La présente invention sera à présent davantage  
5 décrite au moyen des exemples non limitants suivants.

### Exemples

#### Exemple 1 : comparaison de sérologie

##### Méthode

10 On a préparé une première composition contenant 2  $\mu\text{g}$  de gp120<sub>W61D</sub> et 50  $\mu\text{L}$  de AS01B et une seconde composition contenant 2  $\mu\text{g}$  de gp120<sub>W61D</sub>, 50  $\mu\text{L}$  de AS01B et 2  $\mu\text{g}$  de NefTat. A trois instants (jours 0, 14 et 28), on a administré la première composition par voie  
15 intramusculaire (IM) à un premier groupe de 25 souris CB6F1 et aux trois mêmes instants, on a administré IM la seconde composition à un second groupe de 25 souris CB6F1.

On a comparé le titre d'anticorps anti-V1V2 dans  
20 les sérums des souris dans chaque groupe à 14 jours après la deuxième administration et à 14 jours après la troisième administration. Pour évaluer la quantité d'anticorps IgG anti-V1V2 présents dans chaque échantillon de sérum, on a utilisé la région V1V2 de  
25 gp120 de VIH-1 sous-type B cas A2 échafaudée sur une protéine gp70 murine dans un dosage de liaison à anticorps ELISA Igtot. Pendant le développement du dosage, on a utilisé le CH58 (l'anticorps monoclonal anti-V2 utilisé dans l'essai RV144) comme témoin  
30 positif pour détecter une liaison réussie d'anticorps Igtot sériques à V1V2 échafaudée. De plus, on a utilisé

la protéine gp70 (non liée à une région V1V2) comme témoin négatif pour estimer la spécificité pendant le développement du dosage.

## 5 Résultats

Aux deux instants mis à l'essai, on a observé une tendance allant vers une réponse d'anticorps anti-V1V2 plus élevée dans les échantillons de sérum de souris auxquelles on avait administré la composition qui ne  
10 contenait pas NefTat en comparaison à des échantillons de sérum de souris auxquelles on avait administré la composition contenant NefTat. Cela est particulièrement notable à 14 jours après la troisième administration (voir la figure 1).

15 Toutes les références faites dans cette demande, y compris les brevets et demandes de brevet, sont incorporées ici en référence dans la plus grande mesure possible.

Partout dans le mémoire et les revendications qui  
20 suivent, sauf si le contexte l'exige autrement, le mot « comprendre », et des variations telles que « comprend » et « comprenant » seront comprises comme impliquant l'inclusion d'un entier, d'une étape, un groupe d'entiers ou un groupe d'étapes énoncés mais non  
25 pas l'exclusion de tout autre entier, étape, groupe d'entiers ou groupe d'étapes.

La demande dont cette description et ces revendications font partie peut être utilisée comme  
base de priorité quant à toute demande ultérieure. Les  
30 revendications d'une telle demande ultérieure peuvent viser toute particularité ou combinaison de

particularités décrites ici. Celles-ci peuvent prendre la forme de revendications de type produit, composition, procédé ou utilisation et peuvent inclure, à titre d'exemple et sans limitation, les revendications  
5 suivantes.

Liste de séquencesSEQ ID NO : 1 - gp120<sub>w61D</sub>

AEQLWVTVYYGVPVWKEATTTLFCASDAKAYDTEVHNVWATHACVPTDPNPQEVV  
 LGNVTEYFNMWKNMVDQMHEDIISLWDQSLKPCVKLTPLCVTLDCDDVNTTNST  
 5 TTTSNGWTGEIRKGEIKNCSFNITTSIRDKVQKEYALFYNLDVVPIDDDNATTKN  
KTTRNFRLIHCNSSVMTQACPKVSFEPIPIHYCAPAGFAILKCNKTFDGGKGLCT  
 NVSTVQCTHGIRPVVSTQLLNGLAEVEVIRSDNFMDNTKTIIVQLNESVAIN  
 CTRPNNNTRKGIHIGPGRFYAARKIIGDIRQAHCNLSRAQWNNTLKQIVIKLRE  
 HFGNKTIKFNQSSGGDPEIVRHSFNCGGEFFYCDTTQLFNSTWNGTEGNTEGNS  
 10 TITLPCRKIQIINMWQEVGKAMYAPPIGGQIRCSSNITGLLLTRDGGTEGNGTEN  
ETEIFRPGGDMRDNRSELYKYKVVKVEPLGVAPTRAKRRVVQR

région V1V2 soulignée.

15 SEQ ID NO : 2 - Nef

MGGKWSKSSVVGWPTVRERMRAEPAADGVGAASRDLEKHGAITSSNTAATNAAC  
 AWLEAQEEEEVGFPVTPQVPLRPMTYKAAVDLSHFLKEKGGLEGLIHSQRRQDIL  
 DLWIYHTQGYFPDWQNYTPGPGVRYPLTFGWICYKLVPEPDKVEEANKGENTSLL  
 20 HPVSLHGMDDPEREVLEWRFD SRLAFHHVARELHPEYFKNC

SEQ ID NO : 3 - Tat

EPVDPRLPWPKHGPGSQPKTACTNICYCKKCCFHCQVCFITKALGISYGRKKRRQRR  
 RPPQGSQTHQVSLSKQPTSQSRGDPTGPKE  
 25

SEQ ID NO : 4 - NefTat

MGGKWSKSSVVGWPTVRERMRAEPAADGVGAASRDLEKHGAITSSNTAATNAAC  
 AWLEAQEEEEVGFPVTPQVPLRPMTYKAAVDLSHFLKEKGGLEGLIHSQRRQDIL  
 DLWIYHTQGYFPDWQNYTPGPGVRYPLTFGWICYKLVPEPDKVEEANKGENTSLL  
 30 HPVSLHGMDDPEREVLEWRFD SRLAFHHVARELHPEYFKNC TS EPVDPRLPWP  
HGPGSQPKTACTNICYCKKCCFHCQVCFITKALGISYGRKKRRQRRRPPQGSQTHQV  
SLSKQPTSQSRGDPTGPKE

Portion Nef : acides aminés 1 à 206

35 Portion Tat : acides aminés 209 à 293 (soulignée)

Encadré : acides aminés de liaison additionnels  
introduits dans la protéine de fusion

SEQ ID NO : 5 - gp120<sub>ZM18</sub>

GDNLWVTVYYGVPVWKEAKTTLFCASDAKAYEREVHNVWATHACVPTDPNPQEIV  
 LGNVTENFNMWKNDMVDQMHEDIIRLWDQSLKPCVKLTPLCVTLECGNVNVTHEN  
 STKGEMKNCSFNATTELKDKKQRVYALFYKLDIVPLNENNNSSSEDSSEYRLINCN  
 5 TSAITQACPKVTLDPIP<sup>H</sup>YCAPAGYAILKCN<sup>N</sup>KTFNGTGPCHNVSTVQCTHGIK  
 PVVSTQ<sup>L</sup>LLNGSLAEE<sup>E</sup>II<sup>R</sup>SENLTNNAK<sup>T</sup>IIVHLNESVEIVCTRPSNNTRKSI  
 RIGPG  
 QAFYATGGIIGNIRQAHCNISKENWNKTLQKVGK<sup>L</sup>LAEHFPNKTIKFDQHS<sup>G</sup>GDL  
 EITTHSFNCRGEFFY  
 10 CNTSNLFNSTYKPN<sup>D</sup>TNSTYNPNDTITLPCRIKQIINMWQGVGQAMYAPPIAGNI  
 TCKSNITGLLLTRDG  
 GSNDTTNTETFRPGGDMRDNRSELYKYKVVEIKTLGIAP<sup>T</sup>AAKRRVETR

région V1V2 soulignée.

15

SEQ ID NO : 6 - séquence de polynucléotide codant

gp120<sub>ZM18</sub>

ggagacaacttgtgggtcacagtctattatgggg<sup>t</sup>acctgtgtggaaagaagcaa  
 aaactacttttattctgtgcatcagatgctaaagcatatgagagagaagtgcataa  
 20 tgtctgggctacacatgcctgtgtacccacagaccccaaccacaagaaatagtt  
 ttgggaaatgtaacagaaaattttaacatgtggaaaaatgacatggtggatcaga  
 tgc<sup>at</sup>gaggatataatcagggttatgggatcaaagcttaaagccatgtgtaaagtt  
 gacccactctgtgtcactttagaatgtggaaatgttaatgttaccatgagaat  
 agcacgaagggggaaatgaaaaattgctctttcaatgcaaccacagaactaaaag  
 25 ataaaaacagagagtgtatgcacttttttataaa  
 cttgatatagtaccacttaatgagaataacaactctagtgaggactctagtgagt  
 atagattaataaattgtaatacctcagccataacacaagcctgtccaaaggtcac  
 tttggacccaattcctatacattattgtgctccagctggatatgcgattctaaag  
 t<sup>g</sup>taataataagacattcaatgggacaggaccatgccataatgtcagcacagtac  
 30 aatgtacacacggaatcaagccagtggtatcaactcaactactgttaa<sup>at</sup>ggtag  
 cctagcagaagaagagataataatagggtctgaaaatctaacaacaatgccaaa  
 acaataatagtacatcttaatgaatctgtagaaattgtgtgtacaagaccagca  
 ataatacaagaaaaagtataaggataggaccagga  
 caagcattctatgcaacaggtggcataataggaaacataagacaagcacattgta  
 35 acattagtaaagagaactggaataaaactttacaaaaggtaggaaaaaaattagc  
 agagcacttccttaataaaacaataaaaatttgaccaactcaggaggggaccta  
 gaaattacaacacatagctttaattgtagaggagaatttttctattgcaatacat  
 caaacctgtttaatagtacatataagccta<sup>at</sup>gatacaaatagtacatataatcc  
 taatgatacaatcacactcccatgcagaataaaaca<sup>at</sup>tataaacatgtggcgag  
 40 ggggtaggacaagcaatgtatgccctcccattgcaggaaacataacatgtaaat  
 caaatatcacaggactactattgacacgggatggaggggtcaaatgataaccacaaa  
 cacagagacattcagacctggaggaggagatatgagggacaattggagaagtgaa  
 ctatataaatataaagtggtagaaattaaaacattgggcatagcaccactg<sup>cg</sup>  
 caaaaaggagagtggtggagacgagataa

SEQ ID NO : 7 - gp120<sub>ZM18</sub> native

GDNLWVTVYYGVPVWKEAKTTLFCASDAKAYEREVHNVWATHACVPTDPNPQEIV  
 LGNVTENFNMWKNDMVDQMHEDIIRLWDQSLKPCVKLTPLCVTLECGNVNVTTHEN  
 5 STKGEMKNCSFNATTELKDKKQRVYALFYKLDIVPLNENNNSSSEDSSEYRLINCN  
 TSAITQACPKVTLDPIPIHYCAPAGYAILKCNKTFNGTGPCHNVSTVQCTHGK  
 PVVSTQLLLNGSLAEIIIIRSENLTNNAKTIIVHLNESVEIVCTRPSNNTRKSI  
 RIGPGQAFYATGGIIGNIRQAHCNISKENWNKTLQKVGKLAEHFPNKTIKFDQH  
 SGGDLEITTHSFNCRGEFFYCNTSNLNFNSTYKPNDTNSTYNPNDTITLPCRIKQI  
 10 INMWQGVGQAMYAPPIAGNITCKSNITGLLLTRDGGSDTTNTETFRPGGGMDR  
 NWRSELYKYKVVEIKPLGIAPTAAKRRVETR

La séquence de polypeptide de gp120<sub>ZM18</sub> native  
 contient la proline soulignée au lieu de la  
 15 thréonine.

SEQ ID NO : 8 - séquence de polynucléotide codantgp120<sub>ZM18</sub> native

ggagacaacttgtgggtcacagtctattatgggggtacctgtgtggaagaagcaa  
 20 aaactactttattctgtgcatcagatgctaaagcatatgagagagaagtgcataa  
 tgtctgggctacacatgcctgtgtaccacagacccaaccacaagaaatagtt  
 ttgggaaatgtaacagaaaattttaacatgtggaaaaatgacatggtggatcaga  
 tgcattgaggatataatcagggttatgggatcaaagcttaaagccatgtgtaaagtt  
 gacccactctgtgtcactttagaatgtggaaatgttaatgttacccatgagaat  
 25 agcacgaaggggaaatgaaaaatgctctttcaatgcaaccacagaactaaaag  
 ataaaaaacagagagtgatgcactttttataaa  
 cttgatatagtaccacttaatgagaataacaactctagtgaggactctagtgagt  
 atagattaataaattgtaatacctcagccataacacaagcctgtccaaagggtcac  
 tttggatccaattcctatacattattgtgctccagctggatattgctgattctaaag  
 30 tgaataaataagacattcaatgggacaggaccatgccataatgtcagcacagtac  
 aatgtacacacggaatcaagccagtggtatcaactcaactactgttaaattggtag  
 cctagcagaagaagagataataattaggtctgaaaatctaacaacaatgccaaa  
 acaataatagtacatcttaatgaatctgtagaaattgtgtgtacaagaccagca  
 ataatacaagaaaaagtataaggataggaccagga  
 35 caagcattctatgcaacaggtggcataataggaaacataagacaagcacattgta  
 acattagtaagagaactggaataaaactttacaaaaggtaggaaaaaaattagc  
 agagcacttcctaataaaaacaataaaatttgaccaacactcaggaggggaccta  
 gaaattacaacacatagctttaattgtagaggagaatttttctattgcaatacat  
 caaacctgtttaatagtacatataagcctaatagatacaaatagtacatataatcc  
 40 taatgatacaatcacactcccattgcagaataaaacaattataaacatgtggcag  
 ggggtaggacaagcaatgtatgccctcccattgcaggaaacataacatgtaaat  
 caaatatcacaggactactattgacacgggatgga

gggtcaa atgataccacaaacacagagacattcagacctggaggaggagatatga  
gggacaattggagaagtgaactatataaatataaagtggtagaaattaaccatt  
gggcatagcaccactgcgggcaaaaaggagagtggtggagacgagataa

- 5 Pour produire la séquence de polynucléotide gp120<sub>ZM18</sub> à partir de la séquence de polynucléotide gp120<sub>ZM18</sub> native :
- a) une mutation ponctuelle silencieuse est introduite (C au lieu de T en position 597 (soulignée)).
- 10 b) une mutation ponctuelle non silencieuse A au lieu de C est introduite, en position 1426 (soulignée) modifiant le codon natif CCA (proline) pour le codon ACA (thréonine).

Liste de séquences

<110> GlaxoSmithKline Biologicals s.a.

5 <120> Nouvelles compositions

<130> VB 65567

<160> 8

10

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 485

15 <212> PRT

<213> Virus de l'immunodéficience humaine

<400> 1

Ala Glu Gln Leu Trp Val Thr Val Tyr Tyr Gly Val Pro Val Trp Lys  
 1 5 10 15  
 Glu Ala Thr Thr Thr Leu Phe Cys Ala Ser Asp Ala Lys Ala Tyr Asp  
 20 25 30  
 Thr Glu Val His Asn Val Trp Ala Thr His Ala Cys Val Pro Thr Asp  
 35 40 45  
 Pro Asn Pro Gln Glu Val Val Leu Gly Asn Val Thr Glu Tyr Phe Asn  
 50 55 60  
 Met Trp Lys Asn Asn Met Val Asp Gln Met His Glu Asp Ile Ile Ser  
 65 70 75 80  
 Leu Trp Asp Gln Ser Leu Lys Pro Cys Val Lys Leu Thr Pro Leu Cys  
 85 90 95  
 Val Thr Leu Asp Cys Asp Asp Val Asn Thr Thr Asn Ser Thr Thr Thr  
 100 105 110  
 Thr Ser Asn Gly Trp Thr Gly Glu Ile Arg Lys Gly Glu Ile Lys Asn  
 115 120 125  
 Cys Ser Phe Asn Ile Thr Thr Ser Ile Arg Asp Lys Val Gln Lys Glu  
 130 135 140  
 Tyr Ala Leu Phe Tyr Asn Leu Asp Val Val Pro Ile Asp Asp Asp Asn  
 145 150 155 160  
 Ala Thr Thr Lys Asn Lys Thr Thr Arg Asn Phe Arg Leu Ile His Cys  
 165 170 175  
 Asn Ser Ser Val Met Thr Gln Ala Cys Pro Lys Val Ser Phe Glu Pro  
 180 185 190  
 Ile Pro Ile His Tyr Cys Ala Pro Ala Gly Phe Ala Ile Leu Lys Cys



465

470

475

480

Arg Val Val Gln Arg  
485

&lt;210&gt; 2

&lt;211&gt; 206

5 &lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Virus de l'immunodéficience humaine

&lt;400&gt; 2

Met Gly Gly Lys Trp Ser Lys Ser Ser Val Val Gly Trp Pro Thr Val  
1 5 10 15

Arg Glu Arg Met Arg Arg Ala Glu Pro Ala Ala Asp Gly Val Gly Ala  
20 25 30

Ala Ser Arg Asp Leu Glu Lys His Gly Ala Ile Thr Ser Ser Asn Thr  
35 40 45

Ala Ala Thr Asn Ala Ala Cys Ala Trp Leu Glu Ala Gln Glu Glu Glu  
50 55 60

Glu Val Gly Phe Pro Val Thr Pro Gln Val Pro Leu Arg Pro Met Thr  
65 70 75 80

Tyr Lys Ala Ala Val Asp Leu Ser His Phe Leu Lys Glu Lys Gly Gly  
85 90 95

Leu Glu Gly Leu Ile His Ser Gln Arg Arg Gln Asp Ile Leu Asp Leu  
100 105 110

Trp Ile Tyr His Thr Gln Gly Tyr Phe Pro Asp Trp Gln Asn Tyr Thr  
115 120 125

Pro Gly Pro Gly Val Arg Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Trp Cys Tyr Lys  
130 135 140

Leu Val Pro Val Glu Pro Asp Lys Val Glu Glu Ala Asn Lys Gly Glu  
145 150 155 160

Asn Thr Ser Leu Leu His Pro Val Ser Leu His Gly Met Asp Asp Pro  
165 170 175

Glu Arg Glu Val Leu Glu Trp Arg Phe Asp Ser Arg Leu Ala Phe His  
180 185 190

His Val Ala Arg Glu Leu His Pro Glu Tyr Phe Lys Asn Cys  
195 200 205

<210> 3

<211> 85

5 <212> PRT

<213> Virus de l'immunodéficience humaine

<400> 3

Glu Pro Val Asp Pro Arg Leu Glu Pro Trp Lys His Pro Gly Ser Gln  
1 5 10 15

Pro Lys Thr Ala Cys Thr Asn Cys Tyr Cys Lys Lys Cys Cys Phe His  
20 25 30

Cys Gln Val Cys Phe Ile Thr Lys Ala Leu Gly Ile Ser Tyr Gly Arg  
35 40 45

Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Pro Pro Gln Gly Ser Gln Thr His  
50 55 60

Gln Val Ser Leu Ser Lys Gln Pro Thr Ser Gln Ser Arg Gly Asp Pro  
65 70 75 80

Thr Gly Pro Lys Glu  
85

<210> 4

5 <211> 293

<212> PRT

<213> Artificiel

<220>

10 <223> Fusion NefTat

<400> 4

Met Gly Gly Lys Trp Ser Lys Ser Ser Val Val Gly Trp Pro Thr Val  
 1 5 10 15  
 Arg Glu Arg Met Arg Arg Ala Glu Pro Ala Ala Asp Gly Val Gly Ala  
 20 25 30  
 Ala Ser Arg Asp Leu Glu Lys His Gly Ala Ile Thr Ser Ser Asn Thr  
 35 40 45  
 Ala Ala Thr Asn Ala Ala Cys Ala Trp Leu Glu Ala Gln Glu Glu  
 50 55 60  
 Glu Val Gly Phe Pro Val Thr Pro Gln Val Pro Leu Arg Pro Met Thr  
 65 70 75 80  
 Tyr Lys Ala Ala Val Asp Leu Ser His Phe Leu Lys Glu Lys Gly Gly  
 85 90 95  
 Leu Glu Gly Leu Ile His Ser Gln Arg Arg Gln Asp Ile Leu Asp Leu  
 100 105 110  
 Trp Ile Tyr His Thr Gln Gly Tyr Phe Pro Asp Trp Gln Asn Tyr Thr



<400> 5

Gly Asp Asn Leu Trp Val Thr Val Tyr Tyr Gly Val Pro Val Trp Lys  
1 5 10 15

Glu Ala Lys Thr Thr Leu Phe Cys Ala Ser Asp Ala Lys Ala Tyr Glu  
20 25 30

Arg Glu Val His Asn Val Trp Ala Thr His Ala Cys Val Pro Thr Asp  
35 40 45

Pro Asn Pro Gln Glu Ile Val Leu Gly Asn Val Thr Glu Asn Phe Asn  
 50 55 60

Met Trp Lys Asn Asp Met Val Asp Gln Met His Glu Asp Ile Ile Arg  
 65 70 75 80

Leu Trp Asp Gln Ser Leu Lys Pro Cys Val Lys Leu Thr Pro Leu Cys  
 85 90 95

Val Thr Leu Glu Cys Gly Asn Val Asn Val Thr His Glu Asn Ser Thr  
 100 105 110

Lys Gly Glu Met Lys Asn Cys Ser Phe Asn Ala Thr Thr Glu Leu Lys  
 115 120 125

Asp Lys Lys Gln Arg Val Tyr Ala Leu Phe Tyr Lys Leu Asp Ile Val  
 130 135 140

Pro Leu Asn Glu Asn Asn Asn Ser Ser Glu Asp Ser Ser Glu Tyr Arg  
 145 150 155 160

Leu Ile Asn Cys Asn Thr Ser Ala Ile Thr Gln Ala Cys Pro Lys Val  
 165 170 175

Thr Leu Asp Pro Ile Pro Ile His Tyr Cys Ala Pro Ala Gly Tyr Ala  
 180 185 190

Ile Leu Lys Cys Asn Asn Lys Thr Phe Asn Gly Thr Gly Pro Cys His  
 195 200 205

Asn Val Ser Thr Val Gln Cys Thr His Gly Ile Lys Pro Val Val Ser  
 210 215 220

Thr Gln Leu Leu Leu Asn Gly Ser Leu Ala Glu Glu Glu Ile Ile Ile  
 225 230 235 240

Arg Ser Glu Asn Leu Thr Asn Asn Ala Lys Thr Ile Ile Val His Leu  
 245 250 255

Asn Glu Ser Val Glu Ile Val Cys Thr Arg Pro Ser Asn Asn Thr Arg  
 260 265 270

Lys Ser Ile Arg Ile Gly Pro Gly Gln Ala Phe Tyr Ala Thr Gly Gly  
 275 280 285

Ile Ile Gly Asn Ile Arg Gln Ala His Cys Asn Ile Ser Lys Glu Asn  
 290 295 300

Trp Asn Lys Thr Leu Gln Lys Val Gly Lys Lys Leu Ala Glu His Phe  
 305 310 315 320

Pro Asn Lys Thr Ile Lys Phe Asp Gln His Ser Gly Gly Asp Leu Glu  
 325 330 335  
 Ile Thr Thr His Ser Phe Asn Cys Arg Gly Glu Phe Phe Tyr Cys Asn  
 340 345 350  
 Thr Ser Asn Leu Phe Asn Ser Thr Tyr Lys Pro Asn Asp Thr Asn Ser  
 355 360 365  
 Thr Tyr Asn Pro Asn Asp Thr Ile Thr Leu Pro Cys Arg Ile Lys Gln  
 370 375 380  
 Ile Ile Asn Met Trp Gln Gly Val Gly Gln Ala Met Tyr Ala Pro Pro  
 385 390 395 400  
 Ile Ala Gly Asn Ile Thr Cys Lys Ser Asn Ile Thr Gly Leu Leu Leu  
 405 410 415  
 Thr Arg Asp Gly Gly Ser Asn Asp Thr Thr Asn Thr Glu Thr Phe Arg  
 420 425 430  
 Pro Gly Gly Gly Asp Met Arg Asp Asn Trp Arg Ser Glu Leu Tyr Lys  
 435 440 445  
 Tyr Lys Val Val Glu Ile Lys Thr Leu Gly Ile Ala Pro Thr Ala Ala  
 450 455 460  
 Lys Arg Arg Val Val Glu Thr Arg  
 465 470

<210> 6

<211> 1419

5 <212> ADN

<213> Artificiel

<220>

<223> polynucléotide ZM18

10

<400> 6

```

ggagacaact tgtgggtcac agtctattat ggggtacctg tgtggaaaga agcaaaaact      60
actttattct gtgcatcaga tgctaaagca tatgagagag aagtgcataa tgtctgggct      120
acacatgcct gtgtaccac agacccaac ccacaagaaa tagttttggg aaatgtaaca      180
gaaaatttta acatgtggaa aaatgacatg gtggatcaga tgcattgagga tataatcagg      240
ttatgggatc aaagcttaaa gccatgtgta aagttgacct cactctgtgt cactttagaa      300
tgtggaaatg ttaatgttac ccatgagaat agcacgaagg gggaaatgaa aaattgctct      360
ttcaatgcaa ccacagaact aaaagataaa aaacagagag tgtatgacct tttttataaa      420
cttgatatag taccacttaa tgagaataac aactctagtg aggactctag tgagtataga      480
ttaataaatt gtaatacctc agccataaca caagcctgtc caaaggcac tttggacca      540

attcctatac attattgtgc tccagctgga tatgcgattc taaagtgtaa taataagaca      600
ttcaatggga caggaccatg ccataatgtc agcacagtac aatgtacaca cggaatcaag      660
ccagtgggat caactcaact actgtttaat ggtagcctag cagaagaaga gataataatt      720
aggtctgaaa atctaacaaa caatgccaaa acaataatag tacatcttaa tgaatctgta      780
gaaattgtgt gtacaagacc cagcaataat acaagaaaaa gtataaggat aggaccagga      840
caagcattct atgcaacagg tggcataata ggaaacataa gacaagcaca ttgtaacatt      900
agtaaagaga actggaataa aactttacaa aaggtaggaa aaaaattagc agagcacttc      960
cctaataaaa caataaaatt tgaccaacac tcaggagggg acctagaaat tacaacacat     1020
agctttaatt gtagaggaga atttttctat tgcaatacat caaacctgtt taatagtaca     1080
tataagccta atgatacaaa tagtacatat aatcctaata atacaatcac actccatgc     1140
agaataaaac aaattataaa catgtggcag ggggtaggac aagcaatgta tgccccctcc     1200
attgcaggaa acataacatg taaatcaaat atcacaggac tactattgac acgggatgga     1260
gggtcaaatg ataccacaaa cacagagaca ttcagacctg gaggaggaga tatgagggac     1320
aattggagaa gtgaactata taaatataaa gtggtagaaa ttaaacatt gggcatagca     1380
cccactgcgg caaaaaggag agtggtggag acgagataa                               1419

```

<210> 7

5 <211> 472

<212> PRT

<213> Artificiel

<220>

10 <223> polypeptide natif gp120 ZM18

<400> 7

Gly Asp Asn Leu Trp Val Thr Val Tyr Tyr Gly Val Pro Val Trp Lys  
 1 5 10 15  
 Glu Ala Lys Thr Thr Leu Phe Cys Ala Ser Asp Ala Lys Ala Tyr Glu  
 20 25 30  
 Arg Glu Val His Asn Val Trp Ala Thr His Ala Cys Val Pro Thr Asp  
 35 40 45  
 Pro Asn Pro Gln Glu Ile Val Leu Gly Asn Val Thr Glu Asn Phe Asn  
 50 55 60  
 Met Trp Lys Asn Asp Met Val Asp Gln Met His Glu Asp Ile Ile Arg  
 65 70 75 80  
 Leu Trp Asp Gln Ser Leu Lys Pro Cys Val Lys Leu Thr Pro Leu Cys  
 85 90 95  
 Val Thr Leu Glu Cys Gly Asn Val Asn Val Thr His Glu Asn Ser Thr  
 100 105 110

Lys Gly Glu Met Lys Asn Cys Ser Phe Asn Ala Thr Thr Glu Leu Lys  
 115 120 125

Asp Lys Lys Gln Arg Val Tyr Ala Leu Phe Tyr Lys Leu Asp Ile Val  
 130 135 140

Pro Leu Asn Glu Asn Asn Asn Ser Ser Glu Asp Ser Ser Glu Tyr Arg  
 145 150 155 160

Leu Ile Asn Cys Asn Thr Ser Ala Ile Thr Gln Ala Cys Pro Lys Val  
 165 170 175

Thr Leu Asp Pro Ile Pro Ile His Tyr Cys Ala Pro Ala Gly Tyr Ala  
 180 185 190

Ile Leu Lys Cys Asn Asn Lys Thr Phe Asn Gly Thr Gly Pro Cys His  
 195 200 205

Asn Val Ser Thr Val Gln Cys Thr His Gly Ile Lys Pro Val Val Ser  
 210 215 220

Thr Gln Leu Leu Leu Asn Gly Ser Leu Ala Glu Glu Glu Ile Ile Ile  
 225 230 235 240

Arg Ser Glu Asn Leu Thr Asn Asn Ala Lys Thr Ile Ile Val His Leu  
 245 250 255

Asn Glu Ser Val Glu Ile Val Cys Thr Arg Pro Ser Asn Asn Thr Arg  
 260 265 270

Lys Ser Ile Arg Ile Gly Pro Gly Gln Ala Phe Tyr Ala Thr Gly Gly  
 275 280 285

Ile Ile Gly Asn Ile Arg Gln Ala His Cys Asn Ile Ser Lys Glu Asn  
 290 295 300

Trp Asn Lys Thr Leu Gln Lys Val Gly Lys Lys Leu Ala Glu His Phe  
 305 310 315 320

Pro Asn Lys Thr Ile Lys Phe Asp Gln His Ser Gly Gly Asp Leu Glu  
 325 330 335

Ile Thr Thr His Ser Phe Asn Cys Arg Gly Glu Phe Phe Tyr Cys Asn  
 340 345 350

Thr Ser Asn Leu Phe Asn Ser Thr Tyr Lys Pro Asn Asp Thr Asn Ser  
 355 360 365

Thr Tyr Asn Pro Asn Asp Thr Ile Thr Leu Pro Cys Arg Ile Lys Gln  
 370 375 380

Ile Ile Asn Met Trp Gln Gly Val Gly Gln Ala Met Tyr Ala Pro Pro  
 385 390 395 400

Ile Ala Gly Asn Ile Thr Cys Lys Ser Asn Ile Thr Gly Leu Leu Leu  
 405 410 415

Thr Arg Asp Gly Gly Ser Asn Asp Thr Thr Asn Thr Glu Thr Phe Arg  
 420 425 430

Pro Gly Gly Gly Asp Met Arg Asp Asn Trp Arg Ser Glu Leu Tyr Lys  
 435 440 445

Tyr Lys Val Val Glu Ile Lys Pro Leu Gly Ile Ala Pro Thr Ala Ala  
 450 455 460

Lys Arg Arg Val Val Glu Thr Arg  
 465 470

<210> 8

<211> 1419

5 <212> ADN

<213> Artificiel

<220>

<223> polynucléotide natif gp120 ZM18

10

<400> 8

ggagacaact tgtgggtcac agtctattat ggggtacctg tgtggaaaga agcaaaaact	60
actttattct gtgcatcaga tgctaaagca tatgagagag aagtgcataa tgtctgggct	120
acacatgcct gtgtaccac agaccccaac ccacaagaaa tagttttggg aaatgtaaca	180
gaaaatttta acatgtggaa aaatgacatg gtggatcaga tgcagagga tataatcagg	240
ttatgggatc aaagcttaaa gccatgtgta aagttgacct cactctgtgt cactttagaa	300
tgtggaaatg ttaatgttac ccatgagaat agcacgaagg gggaaatgaa aaattgtctt	360
ttcaatgcaa ccacagaact aaaagataaa aaacagagag tgtatgcact tttttataaa	420
cttgatatag taccacttaa tgagaataac aactctagtg aggactctag tgagtataga	480
ttaataaatt gtaatacctc agccataaca caagcctgtc caaaggtcac tttggatcca	540
attcctatac attattgtgc tccagctgga tatgcgattc taaagtgtaa taataagaca	600
ttcaatggga caggaccatg ccataatgtc agcacagtac aatgtacaca cggaatcaag	660
ccagtgggat caactcaact actgttaaat ggtagcctag cagaagaaga gataataatt	720
aggcttgaaa atctaacaaa caatgccaaa acaataatag tacatcttaa tgaatctgta	780
gaaattgtgt gtacaagacc cagcaataat acaagaaaa gtataaggat aggaccagga	840
caagcattct atgcaacagg tggcataata ggaaacataa gacaagcaca ttgtaacatt	900
agtaaagaga actggaataa aactttacaa aaggtaggaa aaaaattagc agagcacttc	960
cctaataaaa caataaaatt tgaccaacac tcaggagggg acctagaaat tacaacacat	1020
agctttaatt gtagaggaga atttttctat tgcaatacat caaacctgtt taatagtaca	1080
tataagccta atgatacaaa tagtacatat aatcctaata atacaatcac actcccatgc	1140
agaataaaac aaattataaa catgtggcag ggggtaggac aagcaatgta tgcccctccc	1200
attgcaggaa acataacatg taaatcaaat atcacaggac tactattgac acgggatgga	1260
gggtcaaatg ataccacaaa cacagagaca ttcagacctg gaggaggaga tatgagggac	1320
aattggagaa gtgaactata taaatataaa gtggtagaaa ttaaaccatt gggcatagca	1380
cccactgcgg caaaaaggag agtgggtggag acgagataa	1419

REVENDICATIONS

1. Composition immunogène comprenant un polypeptide apparenté à la gp120 et un adjuvant, dans laquelle l'adjuvant comprend un lipopolysaccharide et une fraction de saponine immunologiquement active  
5 dérivée de l'écorce de Quillaja saponaria Molina présentée sous la forme d'un liposome et dans laquelle la composition est sensiblement dépourvue de polypeptide apparenté à NefTat, dans laquelle le polypeptide apparenté à NefTat est un polypeptide  
10 consistant en SEQ ID NO : 4, dans laquelle cette composition est destinée à une utilisation pour susciter la production d'anticorps contre la boucle V1V2 de gp120 du VIH-1.

2. Composition immunogène qui se présente sous la  
15 forme d'une dose humaine comprenant un polypeptide apparenté à la gp120 et un adjuvant, dans laquelle l'adjuvant comprend entre 10 et 40 µg d'un lipopolysaccharide et entre 10 et 40 µg d'une fraction de saponine immunologiquement active dérivée de  
20 l'écorce de Quillaja saponaria Molina présentée sous la forme d'un liposome, dans laquelle cette composition est destinée à une utilisation pour susciter la production d'anticorps contre la boucle V1V2 de gp120 du VIH-1.

25 3. Composition immunogène comprenant un polypeptide apparenté à la gp120 et un adjuvant, dans laquelle l'adjuvant comprend un lipopolysaccharide et une fraction de saponine immunologiquement active dérivée de l'écorce de Quillaja saponaria Molina  
30 présentée sous la forme d'un liposome dans laquelle :

(i) la conductivité de la composition est de 13 mS/cm ou moins ; et/ou

(ii) la concentration en sels dans ladite composition est de 130 mM ou moins, et/ou

5 (iii) la concentration en chlorure de sodium dans ladite composition est de 130 mM ou moins ;

dans laquelle cette composition est destinée à une utilisation pour susciter la production d'anticorps contre la boucle V1V2 de gp120 du VIH-1.

10 4. Composition immunogène pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 2 ou 3, qui est sensiblement dépourvue d'un polypeptide apparenté à NefTat, dans laquelle le polypeptide apparenté à NefTat est un polypeptide consistant en SEQ ID NO : 4.

15 5. Composition immunogène pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 1, 3 ou 4, dans laquelle le lipopolysaccharide est présent à un taux entre 10 et 100 µg.

20 6. Composition immunogène pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 ou 3 à 5, dans laquelle la saponine est présente à un taux entre 10 et 100 µg.

25 7. Composition immunogène pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, dans laquelle le lipopolysaccharide est 3D-MPL.

8. Composition immunogène pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, dans laquelle la saponine est QS-21.

30 9. Composition immunogène pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 1, 2 ou 4 à 8, dans laquelle :

(i) la conductivité de la composition est de 13 mS/cm ou moins ; et/ou

(ii) la concentration en sels dans ladite composition est de 130 mM ou moins, et/ou

5 (iii) la concentration en chlorure de sodium dans ladite composition est de 130 mM ou moins.

10. Composition immunogène pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, qui est une solution aqueuse.

10 11. Composition immunogène pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 10, qui est une dose humaine unique.

15 12. Composition immunogène pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 11, dans laquelle la dose humaine est entre 0,1 et 1 mL.

13. Composition immunogène pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 12, comprenant un agent de tonicité non ionique.

20 14. Composition immunogène pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 13, dans laquelle la composition comprend le polypeptide apparenté à la gp120 à un taux d'environ 1 à 100 µg.

25 15. Composition immunogène pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 14, dans laquelle la composition comprend 1 à 5 antigènes de VIH additionnels.

30 16. Composition pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 15, dans laquelle le polypeptide apparenté à la gp120 comprend un polypeptide avec au moins 70 % d'identité avec la région V1V2 de SEQ ID NO: 1.

17. Composition pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 16, dans laquelle le polypeptide apparenté à la gp120 comprend un polypeptide avec au moins 70 % d'identité avec SEQ ID NO: 1.

18. Composition pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 15, dans laquelle le polypeptide apparenté à la gp120 comprend un polypeptide avec au moins 70 % d'identité avec la région V1V2 de SEQ ID NO : 5.

19. Composition pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 16, dans laquelle le polypeptide apparenté à la gp120 comprend un polypeptide avec au moins 70 % d'identité avec SEQ ID NO : 5.

20. Composition immunogène pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 19, dans laquelle la composition comprend en outre un stérol, dans laquelle le rapport saponine : stérol est de 1 : 1 à 1 : 100 p/p.

21. Composition immunogène pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 20, pour une utilisation dans le traitement ou la prévention du VIH-1 issu du groupe M, N, O ou P.

22. Composition immunogène pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 20, pour une utilisation dans le traitement ou la prévention du VIH-1 groupe M sous-type A, B, C, D, E, F, G, H, I, J ou K.

23. Composition immunogène pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 22, dans

laquelle le polypeptide apparenté à la gp120 est dérivé d'un premier sous-type de VIH-1, pour une utilisation dans le traitement ou la prévention d'une infection par le VIH-1 par un second sous-type de VIH-1, dans  
5 laquelle les premier et second sous-types de VIH-1 ont des séquences de polypeptide de gp120 natives différentes.

24. Composition immunogène pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 23 pour  
10 une utilisation dans le traitement ou la prophylaxie d'une infection par le VIH dans laquelle un polynucléotide codant un polypeptide apparenté à la gp120 est administré à l'individu et ultérieurement la composition selon l'une quelconque des revendications 1  
15 à 23 est administrée à l'individu.

25. Composition immunogène pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 23, pour une utilisation dans le traitement ou la prophylaxie d'une infection par le VIH dans laquelle la composition  
20 selon l'une quelconque des revendications 1 à 23 est administrée à l'individu et ultérieurement, un polynucléotide codant un polypeptide apparenté à la gp120 est administré à l'individu.

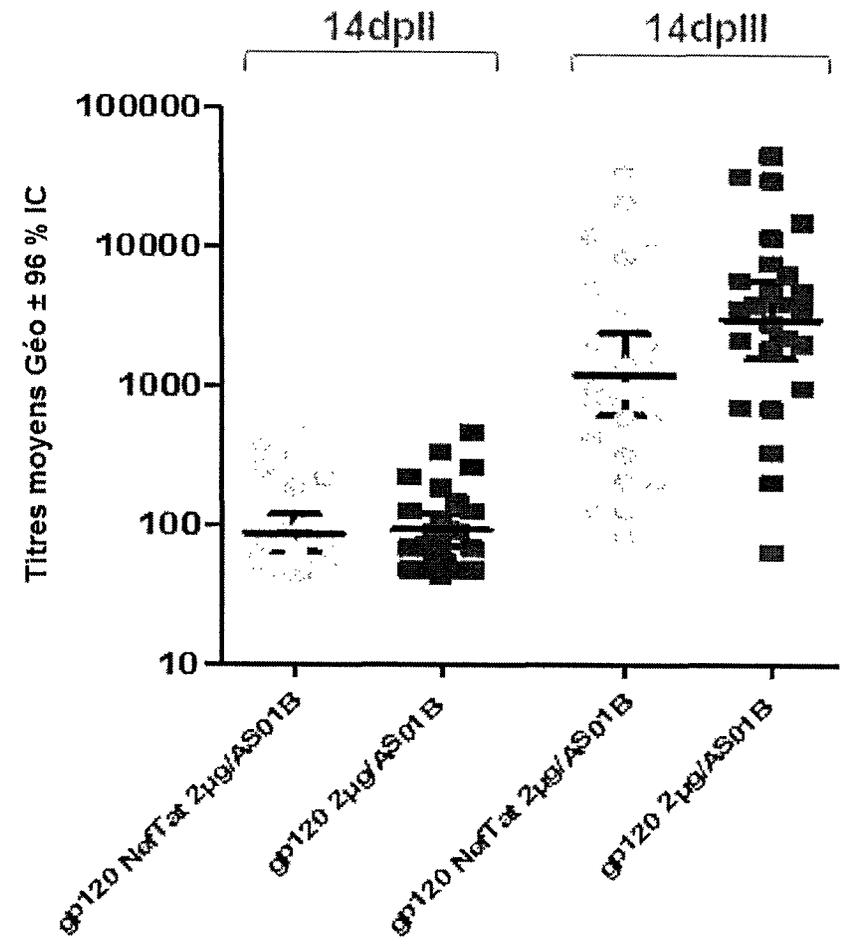
26. Procédé de préparation de la composition pour  
25 une utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 25, comprenant l'addition d'un polypeptide dérivé de gp120 à un lipopolysaccharide et une fraction de saponine immunologiquement active dérivée de l'écorce de Quillaja saponaria Molina  
30 présentée sous la forme d'un liposome.

27. Kit de préparation d'une composition immunogène pour une utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 25, comprenant un premier contenant et un second contenant, dans lequel le premier contenant comprend un polypeptide dérivé de gp120 et le second contenant comprend un lipopolysaccharide et une fraction de saponine immunologiquement active dérivée de l'écorce de *Quillaja saponaria* Molina présentée sous la forme d'un liposome.

28. Vecteur viral comprenant un polynucléotide codant un polypeptide comprenant le polypeptide gp120<sub>W61D</sub> de SEQ ID NO : 1.

29. Vecteur viral comprenant un polynucléotide codant un polypeptide comprenant le polypeptide gp120<sub>ZM18</sub> de SEQ ID NO : 5.

1/1  
Figure 1



121



**RAPPORT DE RECHERCHE**  
 établi en vertu de l'article 21 § 1 et 2  
 de la loi belge sur les brevets d'invention  
 du 28 mars 1984

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS			
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendication concernée	CLASSEMENT DE LA DEMANDE (IPC)
X	MCCORMACK S ET AL: "A phase I trial in HIV negative healthy volunteers evaluating the effect of potent adjuvants on immunogenicity of a recombinant gp120W61D derived from dual tropic R5X4 HIV-1ACH320", VACCINE, vol. 18, no. 13, janvier 2000 (2000-01), pages 1166-1177, XP002718159, ISSN: 0264-410X	1,3-14, 16-19, 21-24, 27-29	INV. A61K39/21 C07K14/16
Y	* résumé, p. 1671 colonne de gauche dernier paragraph, p. 1173 colonne de gauche dernier paragraphe- colonne de droite 1er paragraphe *	1-30	
X	LI Y ET AL: "Characterization of antibody responses elicited by human immunodeficiency virus type 1 primary isolate trimeric and monomeric envelope glycoproteins in selected adjuvants", JOURNAL OF VIROLOGY, THE AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, US, vol. 80, no. 3, 1 février 2006 (2006-02-01), pages 1414-1426, XP009115093, ISSN: 0022-538X, DOI: 10.1128/JVI.80.3.1414-1426.2006	1-10,13, 14, 16-19, 21-24, 27,29	
Y	* résumé, p. 1415 colonne de gauche 1er alinea et colonne de droite 2ème alinea, p. 1416 colonne de gauche dernier paragraphe-colonne de droite, 2ème paragraphe, p. 1418 colonne de droite 3e paragraphe-p. 1419 colonne de gauche 1er paragraphe, tableaux 1 et 2, figures 2 ,3 et 6 *	1-30	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (IPC) A61K C07K
		----- -/--	
		Date d'achèvement de la recherche	Examineur
		1 décembre 2014	Hermann, Patrice
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES			
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intermédiaire		T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet antérieur, mais publié à la date de dépôt ou après cette date D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant	

2  
EPO FORM 1503 (01.02.10) (P04C48)



**RAPPORT DE RECHERCHE**  
 établi en vertu de l'article 21 § 1 et 2  
 de la loi belge sur les brevets d'invention  
 du 28 mars 1984

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS			
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendication concernée	CLASSEMENT DE LA DEMANDE (IPC)
X	BARNA DEY ET AL: "Structure-Based Stabilization of HIV-1 gp120 Enhances Humoral Immune Responses to the Induced Co-Receptor Binding Site", PLOS PATHOGENS, vol. 5, no. 5, 1 mai 2009 (2009-05-01), pages e1000445-e1000445, XP055045259, ISSN: 1553-7366, DOI: 10.1371/journal.ppat.1000445	1-10,14, 21-24, 27,28	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (IPC)
Y	* résumé, page 12 colonne de droite paragraphes 2 et 3, page 13 colonne de gauche 2e paragraphe, Figures 1 et 4 * -----	1-30	
X	BEDDOWS SIMON ET AL: "Comparison of the antibody repertoire generated in healthy volunteers following immunization with a monomeric recombinant gp120 construct derived from a CCR5/CXCR4-using human immunodeficiency virus type 1 isolate with sera from naturally infected individuals", JOURNAL OF VIROLOGY, vol. 73, no. 2, février 1999 (1999-02), pages 1740-1745, XP002718160, ISSN: 0022-538X	1,3,4, 8-11, 16-19, 21-24, 27-29	
Y	* résumé, p. 1740 colonne de gauche 2ème alinéa, p. 1741 colonne de droite 2e paragraphe - p. 1742 colonne de droite 1er alinéa * ----- -/--	1-30	
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
1 décembre 2014		Hermann, Patrice	
<p>CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES</p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul                      Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie                      A : arrière-plan technologique                      O : divulgation non-écrite                      P : document intermédiaire</p> <p>T : théorie ou principe à la base de l'invention                      E : document de brevet antérieur, mais publié à la date de dépôt ou après cette date                      D : cité dans la demande                      L : cité pour d'autres raisons</p> <p>&amp; : membre de la même famille, document correspondant</p>			

EPO FORM 1503 (01.02.10) (P04C48)



**RAPPORT DE RECHERCHE**  
 établi en vertu de l'article 21 § 1 et 2  
 de la loi belge sur les brevets d'invention  
 du 28 mars 1984

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS			
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendication concernée	CLASSEMENT DE LA DEMANDE (IPC)
Y	<p>LEROUX-ROELS I ET AL: "Strong and persistent CD4&lt;+&gt; T-cell response in healthy adults immunized with a candidate HIV-1 vaccine containing gp120, Nef and Tat antigens formulated in three Adjuvant Systems",                      VACCINE, ELSEVIER LTD, GB,                      vol. 28, no. 43,                      8 octobre 2010 (2010-10-08), pages 7016-7024, XP027392051,                      ISSN: 0264-410X                      [extrait le 2010-08-20]                      * résumé, p.7017 colonne de gauche 2ème alinéa, p.7022 colonne de gauche dernier paragraphe- p.7023 colonne de gauche 1er paragraphe et dernier paragraphe de la colonne de droite , p. 7023 colonne de droite 1er paragraphe et 3ème paragraph *</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-30	
Y	<p>EVA VAN BRAECKEL ET AL: "An adjuvanted polyprotein HIV-1 vaccine induces polyfunctional cross-reactive CD4+ T cell responses in seronegative volunteers",                      CLINICAL INFECTIOUS DISEASES, THE UNIVERSITY OF CHICAGO PRESS, CHICAGO, IL, US,                      vol. 52, no. 4,                      15 février 2011 (2011-02-15), pages 522-531, XP002639982,                      ISSN: 1058-4838, DOI: 10.1093/CID/CIQ160                      [extrait le 2011-01-05]                      * le document en entier *</p> <p style="text-align: center;">-----</p> <p style="text-align: center;">-/--</p>	1-30	<p>DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (IPC)</p>
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
1 décembre 2014		Hermann, Patrice	
<p>CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES</p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul                      Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie                      A : arrière-plan technologique                      O : divulgation non écrite                      P : document intermédiaire</p> <p>T : théorie ou principe à la base de l'invention                      E : document de brevet antérieur, mais publié à la date de dépôt ou après cette date                      D : cité dans la demande                      L : cité pour d'autres raisons</p> <p>&amp; : membre de la même famille, document correspondant</p>			

2  
EPO FORM 1503 (01.02.10) (P04C48)



**RAPPORT DE RECHERCHE**  
 établi en vertu de l'article 21 § 1 et 2  
 de la loi belge sur les brevets d'invention  
 du 28 mars 1984

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS			
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendication concernée	CLASSEMENT DE LA DEMANDE (IPC)
X	W0 2010/023260 A1 (GLAXOSMITHKLINE BIOLOG SA [BE]; PASTEUR INSTITUT [FR]; FEVRIER MICHELE) 4 mars 2010 (2010-03-04)	31	
Y	* page 9, dernier alinéa * * page 7, dernier alinéa - page 8, dernier alinéa * * page 21, ligne 12 - ligne 15 * * page 22, ligne 19 - ligne 26 * * page 26, alinéa 3 - page 30, alinéa 1 * -----	25,26	
X	W0 2005/035555 A1 (US GOV HEALTH & HUMAN SERV [US]; MOSS BERNARD [US]; CENTER ROB J [US]) 21 avril 2005 (2005-04-21) * page 10, ligne 14 - ligne 28 * -----	32	
Y	VANDEPAPELIERE ET AL: "Vaccine Adjuvant Systems containing monophosphoryl lipid A and QS21 induce strong and persistent humoral and T cell responses against hepatitis B surface antigen in healthy adult volunteers", VACCINE, ELSEVIER LTD, GB, vol. 26, no. 10, 14 janvier 2008 (2008-01-14), pages 1375-1386, XP022492632, ISSN: 0264-410X, DOI: 10.1016/J.VACCINE.2007.12.038 * page 1377, alinéa 4 * * page 1382, colonne de droite, alinéa 2 - page 1383, colonne de gauche, alinéa 3 * * page 1383, colonne de droite, alinéa 4 * * page 1384, colonne de gauche, alinéa 4 * -----	1-30	
A	W0 2011/117408 A1 (GLAXOSMITHKLINE BIOLOG SA [BE]; BOURGUIGNON PATRICIA [BE]; KOUTSOUKOS) 29 septembre 2011 (2011-09-29) * le document en entier * -----	1-32	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (IPC)
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
1 décembre 2014		Hermann, Patrice	
<p>CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES</p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul                  Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie                  A : arrière-plan technologique                  O : divulgation non-écrite                  P : document intermédiaire</p> <p>T : théorie ou principe à la base de l'invention                  E : document de brevet antérieur, mais publié à la date de dépôt ou après cette date                  D : cité dans la demande                  L : cité pour d'autres raisons</p> <p>&amp; : membre de la même famille, document correspondant</p>			

EPO FORM 1503 (01.02.10) (FR) (4/08)

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE  
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET BELGE NO.**

BO 10805  
BE 201300761

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche visé ci-dessus.  
Lesdits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du  
Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets.

01-12-2014

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 2010023260 A1	04-03-2010	CA 2737761 A1	04-03-2010
		EP 2324050 A1	25-05-2011
		JP 2012508160 A	05-04-2012
		US 2011236468 A1	29-09-2011
		WO 2010023260 A1	04-03-2010
-----	-----	-----	-----
WO 2005035555 A1	21-04-2005	AUCUN	
-----	-----	-----	-----
WO 2011117408 A1	29-09-2011	AU 2011231574 A1	11-10-2012
		CA 2794558 A1	29-09-2011
		CN 103221065 A	24-07-2013
		EA 201290956 A1	30-04-2013
		EP 2552480 A1	06-02-2013
		JP 2013523617 A	17-06-2013
		KR 20130063493 A	14-06-2013
		SG 184188 A1	30-10-2012
		US 2014234399 A1	21-08-2014
WO 2011117408 A1	29-09-2011		
-----	-----	-----	-----



## OPINION ÉCRITE

Dossier N° BO10805	Date du dépôt (jour/mois/année) 08.11.2013	Date de priorité (jour/mois/année) 16.09.2013	Demande n° BE201300761
Classification internationale des brevets (CIB) INV. A61K39/21 C07K14/16			
Déposant GlaxoSmithKline Biologicals SA			

La présente opinion contient des indications et les pages correspondantes relatives aux points suivants :

- Cadre n° I Base de l'opinion
- Cadre n° II Priorité
- Cadre n° III Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle
- Cadre n° IV Absence d'unité de l'invention
- Cadre n° V Déclaration motivée quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration
- Cadre n° VI Certains documents cités
- Cadre n° VII Irrégularités dans la demande
- Cadre n° VIII Observations relatives à la demande

	Examineur
--	-----------

---

**Cadre n° I Base de l'opinion**

---

1. Cette opinion a été établie sur la base des revendications déposées avant le commencement de la recherche.
2. En ce qui concerne **la ou les séquences de nucléotides ou d'acides aminés** divulguées dans la demande, le cas échéant, cette opinion a été effectuée sur la base des éléments suivants :
  - a. Nature de l'élément:
    - un listage de la ou des séquences
    - un ou des tableaux relatifs au listage de la ou des séquences
  - b. Type de support:
    - sur papier
    - sous forme électronique
  - c. Moment du dépôt ou de la remise:
    - contenu(s) dans la demande telle que déposée
    - déposé(s) avec la demande, sous forme électronique
    - remis ultérieurement
3.  De plus, lorsque plus d'une version ou d'une copie d'un listage des séquences ou d'un ou plusieurs tableaux y relatifs a été déposée, les déclarations requises selon lesquelles les informations fournies ultérieurement ou au titre de copies supplémentaires sont identiques à celles initialement fournies et ne vont pas au-delà de la divulgation faite dans la demande telle que déposée initialement, selon le cas, ont été remises.
4. Commentaires complémentaires :  
**voir feuille séparée**

---

**Cadre n° V Opinion motivée quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration**

---

## 1. Déclaration

Nouveauté	Oui : Revendications	15, 20, 25, 26, 30
	Non : Revendications	1-14, 16-19, 21-24, 27-29, 31, 32
Activité inventive	Oui : Revendications	
	Non : Revendications	1-32
Possibilité d'application industrielle	Oui : Revendications	1-32
	Non : Revendications	

## 2. Citations et explications

**voir feuille séparée**

---

**Cadre n° VIII Observations relatives à la demande**

---

**voir feuille séparée**

**Ad point I**

**Base du rapport**

Les séquences nucléotidiques et peptidiques fournies dans la liste de séquences SEQ. ID. No 1-8 sont incluses dans la base de cette opinion écrite.

**Ad point V**

**Déclaration motivée quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle ; citations et explications à l'appui de cette déclaration**

- 1 Il est fait référence aux documents suivants :
- D1 MCCORMACK S ET AL: "A phase I trial in HIV negative healthy volunteers evaluating the effect of potent adjuvants on immunogenicity of a recombinant gp120W61D derived from dual tropic R5X4 HIV-1ACH320",  
VACCINE,  
vol. 18, no. 13, janvier 2000 (2000-01), pages 1166-1177,  
XP002718159,  
ISSN: 0264-410X
  - D2 LI Y ET AL: "Characterization of antibody responses elicited by human immunodeficiency virus type 1 primary isolate trimeric and monomeric envelope glycoproteins in selected adjuvants",  
JOURNAL OF VIROLOGY, THE AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, US,  
vol. 80, no. 3, 1 février 2006 (2006-02-01), pages 1414-1426,  
XP009115093,  
ISSN: 0022-538X, DOI: 10.1128/JVI.80.3.1414 1426.2006
  - D3 BARNA DEY ET AL: "Structure-Based Stabilization of HIV-1 gp120 Enhances Humoral Immune Responses to the Induced Co-Receptor Binding Site",  
PLOS PATHOGENS,  
vol. 5, no. 5, 1 mai 2009 (2009-05-01), pages e1000445-  
e1000445, XP055045259,  
ISSN: 1553-7366, DOI: 10.1371/journal.ppat.1000445
  - D4 BEDDOWS SIMON ET AL: "Comparison of the antibody repertoire generated in healthy volunteers following immunization with a monomeric recombinant gp120 construct derived from a

- CCR5/CXCR4-using human immunodeficiency virus type 1 isolate with sera from naturally infected individuals",  
JOURNAL OF VIROLOGY,  
vol. 73, no. 2, février 1999 (1999-02), pages 1740-1745,  
XP002718160,  
ISSN: 0022-538X
- D5 LEROUX-ROELS I ET AL: "Strong and persistent CD4 +T-cell response in healthy adults immunized with a candidate HIV-1 vaccine containing gp120, Nef and Tat antigens formulated in three Adjuvant Systems",  
VACCINE, ELSEVIER LTD, GB,  
vol. 28, no. 43, 8 octobre 2010 (2010-10-08), pages 7016-7024,  
XP027392051,  
ISSN: 0264-410X  
[extrait le 2010-08-20]
- D6 EVA VAN BRAECKEL ET AL: "An adjuvanted polyprotein HIV-1 vaccine induces polyfunctional cross-reactive CD4+ T cell responses in seronegative volunteers",  
CLINICAL INFECTIOUS DISEASES, THE UNIVERSITY OF CHICAGO PRESS, CHICAGO, IL, US,  
vol. 52, no. 4, 15 février 2011 (2011-02-15), pages 522-531,  
XP002639982,  
ISSN: 1058-4838, DOI: 10.1093/CID/CIQ160  
[extrait le 2011-01-05]
- D7 WO 2010/023260 A1 (GLAXOSMITHKLINE BIOLOG SA [BE]; PASTEUR INSTITUT [FR]; FEVRIER MICHELE) 4 mars 2010 (2010-03-04)
- D8 WO 2005/035555 A1 (US GOV HEALTH & HUMAN SERV [US]; MOSS BERNARD [US]; CENTER ROB J [US]) 21 avril 2005 (2005-04-21)
- D9 VANDEPAPELIERE ET AL: "Vaccine Adjuvant Systems containing monophosphoryl lipid A and QS21 induce strong and persistent humoral and T cell responses against hepatitis B surface antigen in healthy adult volunteers",  
VACCINE, ELSEVIER LTD, GB,

vol. 26, no. 10, 14 janvier 2008 (2008-01-14), pages 1375-1386,  
XP022492632,  
ISSN: 0264-410X, DOI: 10.1016/J.VACCINE.2007.12.038

D10 WO 2011/117408 A1 (GLAXOSMITHKLINE BIOLOG SA [BE];  
BOURGUIGNON PATRICIA [BE]; KOUTSOUKOS) 29 septembre  
2011 (2011-09-29)

- 2 Le document D1 divulgue la vaccination de volontaires humains avec 200 µg de rgp120<sub>W61D</sub> (correspondant à la protéine gp120 utilisée dans la présente demande) en combinaison avec notamment un adjuvant composé de 50µg de 3D-MPL(lipopolysaccharide) et 50µg de QS21 (saponine), le volume de chaque injection étant de 1ml (cf. D1 résumé, p. 1171 colonne de gauche dernier paragraphe). Les sérums de huit vaccinés sont reconnus comme neutralisant la gp120 des souches homologues W61D, et hétérologues SF2 et M2424/H9 (cf. D1 page 1173 colonne de gauche dernier paragraphe - colonne de droite 1er paragraphe). En absence de preuve du contraire la composition vaccinale divulguée dans D1 remplit les conditions requises par la revendication 3.

Ainsi le document D1 est-il donc considéré comme préjudiciable à la nouveauté des revendications 1, 3-14, 16-19, 21-24 et 27-29.

- 3 Le document D2 divulgue la vaccination de cobayes avec une composition contenant comme immunogène la protéine gp120 exprimée par le plasmide YU2gp120/pcDNA3.1(-). La gp120 est émulsionnée dans des liposomes avec un adjuvant appelé ASO1B qui comprend notamment de la QS21 et du 3D-MPL (correspondant à l'adjuvant de la présente demande et utilisé dans l'exemple de celle-ci). Ladite vaccination induit des anticorps ayant un large pouvoir neutralisant contre la gp120 de différentes souches de virus (cf. D2 résumé, page 1415, colonne de gauche, 1er alinéa et colonne de droite, 2ème alinéa; page 1416, colonne de gauche dernier paragraphe - colonne de droite, 2ème paragraphe; page 1418, colonne de droite, 3e paragraphe - page 1419, colonne de gauche, 1er paragraphe; tableaux 1 et 2; figures 2, 3 et 6). Pour ce document aussi, en absence de preuve du contraire la composition vaccinale divulguée dans D2 remplit les conditions requises par la revendication 3.

La divulgation du document D2 anticipe donc la nouveauté des revendications 1-10, 13, 14, 16-19, 21-24, 27 et 29.

- 4 Le document D3 décrit la vaccination de lapins avec différentes protéines immunogènes gp120 modifiées. 50µg de ces protéines immunogènes ont été formulées dans l'adjuvant ASO1B (voir ci-dessus, point 3.) pour induire la production d'anticorps neutralisants contre les sites de liaison de la gp120 de VIH de diverses clades (cf. D3 résumé, page 12 colonne de droite paragraphes 2 et 3, page 13 colonne de gauche 2e paragraphe, Figures 1 et 4).
- Les revendications 1-10, 14, 21-24 et 27-28 ne sont pas nouvelles au vu de la description de D3.
- 5 Le document D4 divulgue la vaccination de volontaires humains avec 200 µg de rgp120<sub>W61D</sub> (voir point 2 ci-dessus) administrés dans une composition vaccinale comprenant par exemple de la QS21-MPL-A. Les sera des personnes immunisées contiennent des anticorps qui reconnaissent de façon très spécifique des épitopes linéaires contenus dans les domaines V1/V2 et V3 de la protéine gp120 (voir D4 résumé, page 1740 colonne de gauche 2ème alinéa, p. 1741 colonne de droite 2e paragraphe - p. 1742 colonne de droite 1er alinéa).
- Le document D4 anticipe donc l'objet des revendications 1, 3, 4, 8-11, 16-19, 21-24 et 27-29.
- 6 Les auteurs du document D7 se réfèrent à une protéine gp120 comprenant séquence peptidique SEQ ID No 8 qui correspond en fait à la séquence peptidique SEQ ID No 1 de la demande en instance. Ces auteurs se réfèrent aussi à des vecteurs viraux qui comprennent éventuellement cette séquence SEQ ID No 8 codant pour la gp120 (cf. D7 résumé, p. 22, lignes 19-26 et page 26 lignes 14 et 15).
- Le document D7 est donc considéré comme anticipant l'objet de la revendication 31.
- 7 Le document D8 décrit une protéine gp120 chimérique de séquence peptidique SEQ. ID. No 32 qui en fait correspond à la séquence peptidique SEQ. ID. No 5 de la demande en instance à l'exception d'une seule et unique substitution d'un acide aminé en position 456. Le document D8 décrit aussi des vecteurs viraux dans lesquels serait insérée l'antigène chimérique gp120 (cf. D8 résumé, p. 10 lignes 14-28).
- Aussi le document D8 est-il donc considéré comme anticipant l'objet de la revendication 32.

- 8      Aucun des documents de l'art antérieur pris en considération ne décrit l'objet des revendications 15, 20, 25, 26 et 30. Les revendications 15, 20, 25, 26 et 30 sont donc nouvelles.
- 9      Cependant l'objet des revendications 15, 20, 25, 26 et 30 ne paraît pas satisfaire aux conditions requises quant à l'activité inventive, en effet, au vu de l'art antérieur cité dans le rapport de recherche, les revendications 15, 20, 25, 26 et 30 n'apparaissent pas contenir de caractéristiques essentielles additionnelles qui, en combinaison avec les caractéristiques essentielles de l'objet des revendications auxquelles elles se réfèrent directement ou indirectement, satisfont aux conditions requises pour reconnaître une activité inventive. Ces caractéristiques additionnelles semblent en effet être conventionnelles et ne provoquent apparemment pas d'effet technique surprenant ou l'obtention de résultats inattendus par l'homme du métier pouvant éventuellement servir de point de départ pour la reconnaissance d'une quelconque activité inventive.
- 9.1    L'addition dans les compositions vaccinales décrites dans les documents D1-D4 de protéines antigéniques supplémentaires issues du virus VIH ou d'additifs tel que le stérol représente une option que l'homme du métier utilisera au besoin sans pour cela faire appelle à une quelconque activité inventive de sa part (revendications 15 et 20).
- 9.2    De toute évidence l'homme du métier spécialisé dans les vaccins sait qu'un régime de vaccination particulier peut améliorer la réponse des individus vaccinés, c'est le cas des régimes de vaccination "prime-boost" basés sur l'utilisation de compositions vaccinales comprenant soit de l'ADN codant pour une protéine immunogène pour la composition utilisée pour le priming par exemple et d'une composition vaccinale comprenant ladite protéine pour la composition vaccinale utilisée pour le boosting par exemple. L'objet des revendications 25 et 26 reflète un régime de vaccination comprenant ce schéma particulier très connu dans l'art antérieur et ne peut donc pas servir de base pour une quelconque reconnaissance d'activité inventive.
- 9.3    A la vue des objections relevées précédemment aux points 1-7, pour l'homme du métier, le fait de regrouper des produits ou du matériel pour leur utilisation dans des expériences connues ou évidentes, sous la forme de trousse de travail n'est pas considéré inventif. Ainsi la revendication 30 semble manquer d'activité inventive.

### **Ad point VIII**

#### **Certaines observations relatives à la demande**

- 10 L'objet des revendications 1-30 n'est pas clairement défini:
- 10.1 Les expressions "polypeptide apparenté à la gp120" et "polypeptide apparenté à NefTat" employées dans la revendication 1 sont vagues et imprécises, et laissent subsister un doute quant à la signification des caractéristiques techniques auxquelles elles se rapportent, au point que l'objet de ladite revendication n'est pas clairement défini.
- 10.2 L'expression "sensiblement dépourvue" employée dans la revendication 1 a un sens relatif qui n'est pas bien établi, et elle laisse subsister un doute quant à la signification de la caractéristique technique à laquelle elle se rapporte, au point que l'objet de ladite revendication n'est pas clairement défini.
- 10.3 Il s'ensuit que les revendications dépendantes directement ou indirectement de la revendication 1, i.e. revendications 2-30, manquent elles aussi de clarté.
- 11 Les revendications 27-28 concernent des méthodes de traitement chirurgical/thérapeutique du corps humain/animal. Par conséquent, leur objet n'est pas brevetable. Cependant, les revendications ayant pour objet un produit, notamment des substances ou compositions destinées à être utilisées dans un premier traitement médical ou tout traitement médical suivant peuvent être acceptées.