



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIEE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

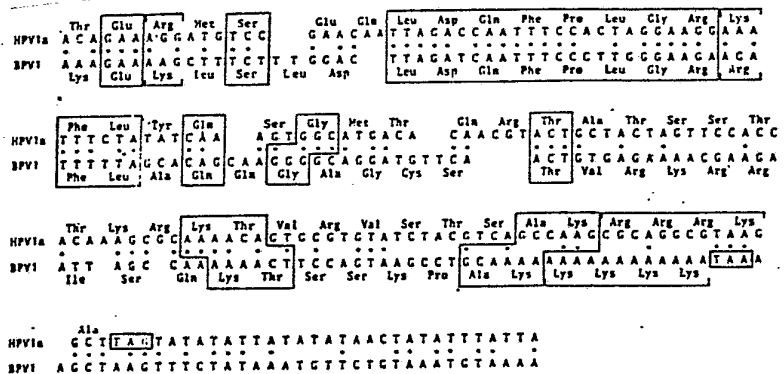
<p>(51) Classification internationale des brevets<sup>3</sup> : C12N 15/00; C12P 21/02 A61K 39/12; C07G 7/00 C07C103/52; G01N 33/54</p>	<p>A1</p>	<p>(11) Numéro de publication internationale: WO 83/ 03623  (43) Date de publication internationale: 27 octobre 1983 (27.10.83)</p>
<p>(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR83/00063 (22) Date de dépôt international: 1er avril 1983 (01.04.83)  (31) Numéro de la demande prioritaire: 82/05887 (32) Date de priorité: 5 avril 1982 (05.04.82) (33) Pays de priorité: FR  (71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): INSTI- TUT PASTEUR [FR/FR]; 28, rue du Docteur Roux, F-75724 Paris Cedex 15 (FR).  (72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (US seulement) : DANOS, Olivier [FR/FR]; 1, place Rollet, F-75015 Paris (FR). KATIN- KA, Michaël [FR/FR]; 6bis, avenue Foch, F-94160 Saint Mande (FR). YANIV, Moshe [FR/FR]; 159, rue Blomet, F-75015 Paris (FR).  (74) Mandataires: GUTMANN, Ernest etc.; Cabinet Plasse- raud, 84, rue d'Amsterdam, F-75009 Paris (FR).</p>		<p>(81) Etats désignés: BE (brevet européen), CH (brevet euro- péen), DE (brevet européen), GB (brevet européen), JP, NL (brevet européen), US.  Publiée Avec rapport de recherche internationale.</p>

(54) Title: CODING DNA FRAGMENTS FOR POLYPEPTIDES CONTAINING AT LEAST ONE ANTIGENIC DETERMINANT OF THE PAPILLOMAVIRUS PARTICULARLY OF THE 1a HPV TYPE AND CORRESPONDING POLYPEPTIDES

(54) Titre: FRAGMENTS D'ADN CODANT POUR DES POLYPEPTIDES CONTENANT AU MOINS UN DETERMINANT ANTIGENIQUE DES PAPILLOMAVIRUS, NOTAMMENT DU TYPE HPV 1a ET POLYPEPTIDES CORRESPONDANTS

(57) Abstract

DNA fragment of which the expression product in an appropriate micro organism comprises at least one of the antigenic determinants of the papillomavirus. It is characterized in that it comprises a nucleotide sequence, which is itself contained or similar to that which is contained either in L1 area or L2 area, or alternately partly in L1 area and partly in L2 area of the one strand among the papillomavirus genome strands which comprises them and which are capable of coding for virus structure proteins or for polypeptides having in common with those proteins a sequence containing at least one antigenic determinant characteristic of the papillomavirus.



(57) Abrégé

Fragment d'ADN dont le produit d'expression dans un micro-organisme approprié contient au moins l'un des déterminants antigéniques des papillomavirus. Il est caractérisé en ce qu'il comporte une séquence de nucléotides, elle-même contenue ou analogue à celle contenue soit dans la région L1, soit dans la région L2, soit encore pour partie dans la région L1 et pour partie dans la région L2 de celui des brins du génome de papillomavirus qui les comporte et qui sont capables de coder pour des protéines de structure du virus ou pour des polypeptides ayant en commun avec ces protéines une séquence contenant au moins un déterminant antigénique caractéristique des papillomavirus

**UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION**

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AT	Autriche	LI	Liechtenstein
AU	Australie	LK	Sri Lanka
BE	Belgique	LU	Luxembourg
BR	Brésil	MC	Monaco
CF	République Centrafricaine	MG	Madagascar
CG	Congo	MR	Mauritanie
CH	Suisse	MW	Malawi
CM	Cameroun	NL	Pays-Bas
DE	Allemagne, République fédérale d'	NO	Norvège
DK	Danemark	RO	Roumanie
FI	Finlande	SE	Suède
FR	France	SN	Sénégal
GA	Gabon	SU	Union soviétique
GB	Royaume-Uni	TD	Tchad
HU	Hongrie	TG	Togo
JP	Japon	US	Etats-Unis d'Amérique
KP	République populaire démocratique de Corée		

Fragments d'ADN codant pour des polypeptides contenant au moins un déterminant antigénique des papillomavirus, notamment du type HPV 1a et polypeptides correspondants.

L'invention concerne des fragments d'ADN codant pour des polypeptides contenant au moins un déterminant antigénique des papillomavirus, notamment du type HPV 1a. Elle est également relative aux produits de transformation  
5 de tels polypeptides, tels que ceux résultant de la conjugaison par l'intermédiaire de liaisons covalentes de ces polypeptides à des macromolécules support et présentant des propriétés immunogènes permettant leur utilisation, notamment soit comme moyen de diagnostic de la présence ou non  
10 de papillomavirus dans des échantillons biologiques, soit comme principe actif de vaccins susceptibles d'immuniser un hôte contre ces papillomavirus.

On sait que les papillomavirus sont susceptibles d'infecter un grand nombre d'espèces vivantes, parmi les-  
15 quelles l'homme. Ils sont responsables de la production de tumeurs bénignes, notamment de verrues au niveau de l'épithélium qu'ils colonisent. Ces tumeurs qui présentent le plus souvent un caractère régressif peuvent néanmoins dans un certain nombre de cas donner lieu à une transforma-  
20 tion maligne. D'ailleurs les papillomavirus ont sur le plan morphologique été considérés comme apparentés à des virus de polyome, tels que les virus connus sous les désignations SV 40, BKV etc. Ces différents types de virus ont en effet en commun une structure de capsid e icosaédrique renfermant  
25 une double hélice d'ADN associée avec des histones. Malgré l'impossibilité reconnue de cultiver ces papillomavirus sur des cellules épithéliales ou autres cellules, au sein d'une culture de tissu, O. DANOS et al ont récemment réussi à cloner le génome entier du virus de papillome humain, du  
30 type 1a, dans une souche d'*Escherichia coli* (Eur. J. Biochem., 109, 457-461 (1980)).

La présente invention résulte de la découverte de certaines des séquences du génome de ce papillomavirus, qui sont susceptibles de coder pour des peptides ou polypeptides susceptibles de contenir des déterminants antigéniques permettant d'envisager leur utilisation comme principe actif de vaccins, le cas échéant après couplage avec des macromolécules support, du moins pour les plus petits d'entre eux.

Il est à cet égard significatif que ces séquences sont tout à fait distinctes de toutes séquences contenues dans les génomes des virus de polyomes mentionnés plus haut. Ces séquences se révèlent en fait être portées par un seul des brins du génome du papillomavirus, comme en témoignent les analyses de séquences du génome entier du papillomavirus.

Le fragment d'ADN selon l'invention peut être redéfini de la façon la plus générale, comme consistant en celui dont le produit d'expression dans un micro-organisme approprié contient au moins l'un des déterminants antigéniques des papillomavirus humains, caractérisé en ce qu'il comporte une séquence de nucléotides, elle-même contenue ou analogue à celle contenue, soit dans la région L1, soit dans la région L2, soit encore pour partie dans la région L1 et pour partie dans la région L2 de celui des brins du génome d'un papillomavirus, tel que le papillomavirus du type 1a (HPV 1a) qui les comporte et qui sont capables de coder pour des protéines de structures de HPV 1a.

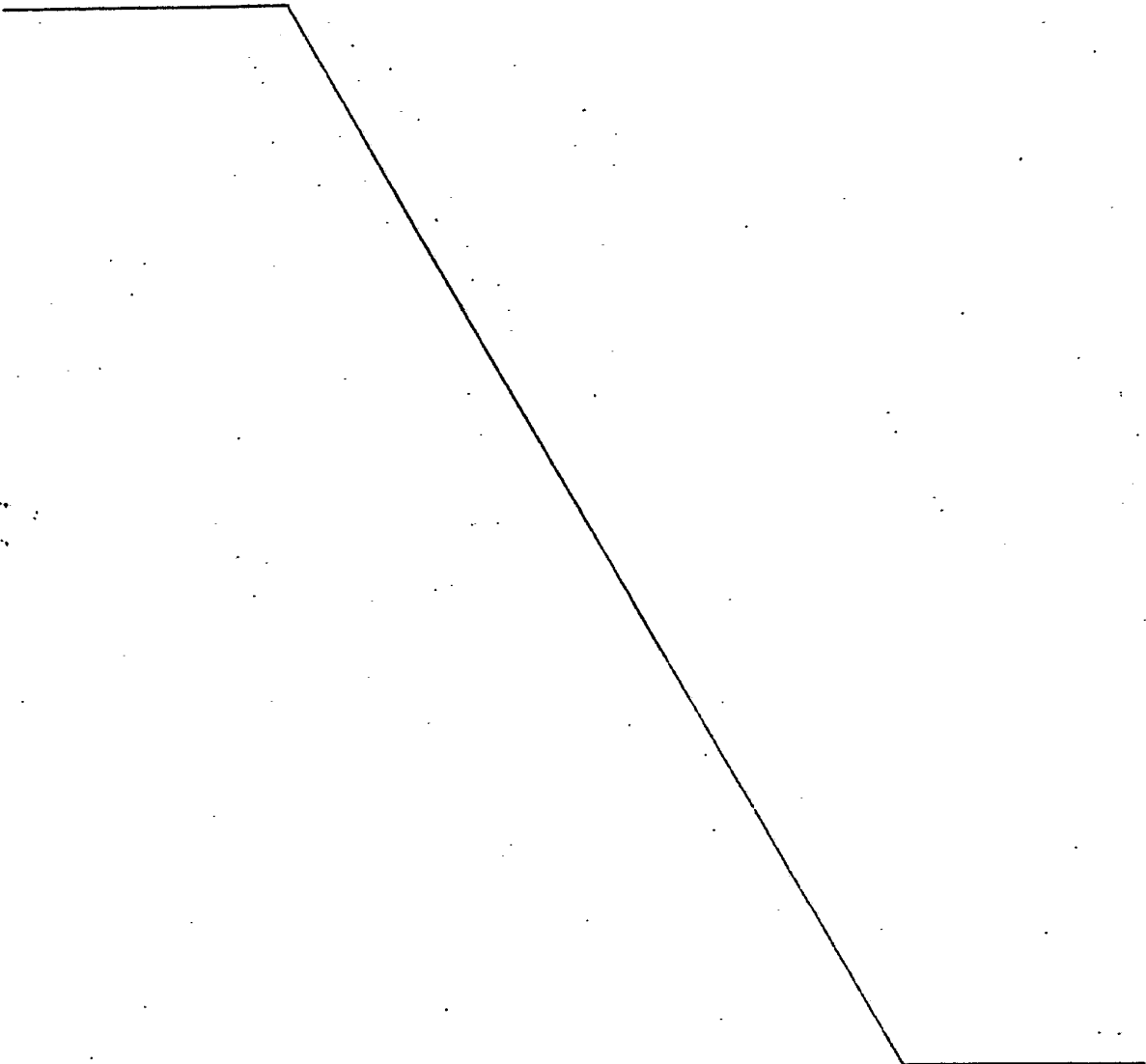
Il est plus particulièrement caractérisé en ce qu'il est constitué par une séquence de nucléotides capable de coder pour une ou des protéines de structure du virus ou pour un ou des polypeptides ayant en commun avec ces protéines une séquence contenant au moins un déterminant antigénique caractéristique des papillomavirus, cette séquence de nucléotides étant contenue soit dans la région L1, soit dans la région L2, soit encore pour partie dans la région L1 et pour partie dans la région L2, de celui des brins du génome de papillomavirus qui les comporte,

3

ladite séquence étant le cas échéant complétée par des fragments d'ADN issus du génome du papillomavirus et normalement associés dans celui-ci audit génome, et comportant au plus une centaine de nucléotides.

5 Pour la commodité de l'exposé, il sera ci-après fait référence aux dessins dans lesquels :

- les fig. 1a, 1b et 1c sont représentatives de la structure d'une partie de l'un des brins du génome de HPV 1a, plus particulièrement de celui dont la séquence se lit  
10 de l'extrémité 5' à l'extrémité 3' correspondante ;
- les fig. 2a et 2b sont des représentations schématiques des parties qui, dans les brins respectifs du génome du HPV 1, sont susceptibles d'être exprimées sous forme de polypeptide et la fig. 2c est une représentation schéma-  
15 tique du génome d'un papillomavirus bovin BPV 1 ;



- la fig. 3 est représentative des structures comparées d'un fragment d'ADN préféré, conforme à l'invention, issu de HPV 1a et d'un fragment correspondant du génome de papillomavirus bovin du type BPV 1.

5 Les figures 1a, d'une part, et 1b,1c, d'autre part, font apparaître les structures des régions L1 et L2 de celui des brins du génome du papillomavirus HPV 1a qui le porte. Ces figures font également apparaître les résidus aminoacyle codés par les triplets successifs que définissent les nucléotides  
10 du brin en question, ces protéines correspondant à des phases de lecture distinctes des séquences de nucléotides correspondantes. C'est notamment ce que fait apparaître clairement la fig. 1a, plus particulièrement au niveau des nucléotides numérotés 1870 à 1881, à compter de l'ex-  
15 trémité 5' (non représentée dans la fig. 1). Les positions relatives des régions L1 et L2 sur le brin correspondant, dans la direction de lecture s'étendant de l'extrémité 5' à l'extrémité opposée 3' de ce même brin, résultent de l'examen de la fig. 2a, laquelle fait apparaître les dis-  
20 tributions des régions susceptibles de donner lieu à l'expression, notamment lorsque les fragments d'ADN correspondants, préalablement insérés dans un vecteur, sont utilisés pour transformer des micro-organismes appropriés.

La fig. 2a correspond aux trois phases de lecture possible du brin correspondant, dont l'extrémité 5' serait située à la gauche et l'extrémité 3' à la droite de la fig. 2a. Les codons sont examinés par groupes de dix, chaque barre noire correspondant à ceux desdits groupes qui, dans la phase de lecture considérée, comportent un codon d'arrêt.  
30 Les barres verticales en pointillé correspondent au premier codon ATG présent dans chacune des séquences qui s'ensuivent et qui sont dépourvues de codons d'arrêt. Les deux sites EcoRI aux positions 4237 et 5240 visent à faciliter l'orientation schématique des séquences résultant des trois  
35 phases de lecture possibles, repérées dans la gauche de la figure par les chiffres 3, 2 et 1. La fig. 2a rend compte des positions relatives des régions L1 et L2 dont il a été question plus haut.

La fig. 2b rend compte des possibilités de lecture dans les mêmes conditions du brin complémentaire de l'ADN du génome de HPV 1a. On constate la présence d'un nombre considérable de codons d'arrêt s'étendant sur la quasi-  
5 totalité du brin correspondant, quelle que soit la phase de lecture envisagée.

Comme il a été indiqué plus haut, l'invention concerne entre autres des fragments d'ADN susceptibles de contenir une zone commune à la région L1 et, à la ré-  
10 gion L2, une telle situation pouvant se présenter à l'occasion de l'épissure qui peut se produire entre les deux régions, à l'occasion des opérations de transcription de ces régions, au sein même des cellules transformées.

Cependant, de préférence, l'invention concerne  
15 des fragments d'ADN ayant des séquences communes de nucléotides avec la susdite région L1 de HPV 1a.

La localisation plus spécifique de celles des séquences contenues dans les régions L1 et L2 sus-  
indiquées, qui sont susceptibles de porter un déterminant  
20 antigénique caractéristique des papillomavirus, plus particulièrement de HPV 1a, peut s'opérer de toute façon en soi connue, notamment comme suite à la fragmentation des séquences d'ADN correspondantes, que ce soit par des enzymes de restriction appropriées ou par clivage chimique, par  
25 intégration des fragments obtenus dans un vecteur et transformation d'un micro-organisme approprié à l'aide des vecteurs obtenus et permettant l'expression, par séparation des peptides obtenus, ceux-ci étant ensuite, le cas échéant après couplage avec une macromolécule support,  
30 utilisés pour induire la production d'anticorps dans un hôte vivant. Sont alors retenus au titre des fragments selon l'invention ceux qui sont susceptibles de produire des anticorps capables de neutraliser le HPV 1a dans son entier.

Une séquence de nucléotides préférée selon l'in-  
35 vention consiste en celle qui code pour la séquence peptidique de formule :

Leu-Asp-Gln-Phe-Pro-Leu-Gly-Arg-Lys-Phe-Leu.

Le peptide limité à cette séquence peptidique est en particulier codé par la séquence de nucléotides :

TTA GAC CAA TTT CCA CTA GGA AGG AAA TTT CTA.

Cette séquence de nucléotides correspond à ceux  
5 qui s'étendent des positions 3148 à 3180 dans la fig. 1b.

Un autre fragment préféré selon l'invention contient un fragment codant pour la séquence peptidique suivante :

Ala-Lys-Arg-Arg-Arg-Lys.

10 Le peptide correspondant à cette séquence peptidique est en particulier codé par la séquence de nucléotides :

GCC AAG CGC AGG CGT AAG.

L'invention concerne naturellement également tous fragments d'ADN codant pour des protéines de structure  
15 d'autres papillomavirus, tels que les papillomavirus CRPV (abréviation de "cottontail rabbit papillomavirus") et BPV1 (abréviation de "bovine papillomavirus du type 1"). Il en est encore également de même des peptides codés par ces fragments d'ADN. Parmi ces peptides figurent notamment  
20 ceux correspondant à des séquences d'ADN portées par les virus CPRV et BPV1 susmentionnés, ces peptides étant caractérisés par la séquence suivante :

CPRV : Leu-Asp-Gln-Tyr-Pro-Leu-Gly-Arg-Lys-Phe-Leu

BPV1 : Leu-Asp-Gln-Phe-Pro-Leu-Gly-Arg-Arg-Phe-Leu.



Font également partie de l'invention les séquences d'ADN dont les triplets se distinguent de ceux qui ont été évoqués ci-dessus par une structure nucléotidique différente, dans la mesure cependant où ils codent soit pour des acides aminés identiques ou encore des acides aminés "équivalents", étant entendu que l'expression "équivalents" vise ici à désigner tout acide aminé susceptible d'être substitué à l'un des acides aminés de la structure de base sans cependant modifier essentiellement les propriétés immunogéniques des peptides correspondants. En d'autres termes, les acides aminés équivalents seront ceux qui permettent l'obtention d'une séquence peptidique modifiée, qui, le cas échéant après couplage avec un support macromoléculaire adéquat, permet l'induction *in vivo* d'anticorps qui restent capables de neutraliser soit le peptide de base, soit encore plus généralement le papillomavirus correspondant HPV 1a.

Ces aminoacyles équivalents peuvent être déterminés soit en s'appuyant sur leur homologie de structure, soit sur les résultats des essais d'immunogénicités croisées auxquels les différentes séquences de peptides obtenus sont susceptibles de donner lieu.

A titre d'exemple, on mentionnera les possibilités de substitutions susceptibles d'être souvent effectuées, sans qu'il en résulte une modification approfondie de l'immunogénicité des peptides modifiés correspondants, les remplacements, par exemple, de la leucine par la valine ou l'isoleucine, de l'acide aspartique par

l'acide glutamique, de la glutamine par l' asparagine, de l'arginine par la lysine, etc., les substitutions inverses étant naturellement envisageables dans les mêmes conditions.

5 A cet égard, il est intéressant de relever la présence dans le génome de papillomavirus bovin du type BPV 1, de séquences présentant un certain niveau d'homologie avec des séquences correspondantes de HPV 1a, comme il résulte notamment de l'examen de la fig. 3.

10 La fig. 3 fait en effet apparaître des homologies qui peuvent être relevées entre la zone d'extrémité 3' (s'étendant du nucléotide numéroté 3246 à partir de l'extrémité 5' du génome de HPV 1a jusqu'au nucléotide 3476) de la région L1 selon le code de lecture correspondant, et  
15 par ailleurs une région correspondante du génome de BPV 1. Cette dernière région a été définie par analyse séquentielle d'un recombinant obtenu entre le vecteur M13 décrit par ROTHSTEIN et WU (Gen. 15, 1981, 167-176) et/ou MESSING J. et al (Nucl. Acids Res. (1981) 9, 309-  
20 321) et un fragment de BPV 1 délimité par des extrémités Bgl II débutant environ 10 nucléotides avant l'extrémité du site Hind III de BPV 1 (schématiquement représenté à la fig. 2c). Les points placés entre les lettres en regard d'une séquence nucléotidique représentée visent  
25 à souligner le caractère identique des nucléotides en question, les intervalles blancs laissés libres dans chacune des séquences n'ayant d'autre fin que celle de faire apparaître de façon plus nette encore les homologies existantes. Les séquences peptidiques communes codées par les  
30 séquences correspondantes contenues à l'intérieur des fragments considérés à la fig. 3 apparaissent dans les encadrés représentés.

Font donc également partie des fragments d'ADN particuliers de l'invention, ceux qui codent pour les pep-  
35 tides :

Leu-Asp-Gln-Phe-Pro-Leu-Gly-Arg-Arg-Phe-Leu et  
Ala-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys.

Au titre des fragments nucléotidiques particuliers entrant dans le cadre de l'invention, on mentionnera naturellement également ceux qui sont contenus dans le fragment susmentionné de BPV 1, plus particulièrement :

5 TTA GAT CAA TTT CCC TTG GGA AGA AGA TTT TTA,  
GCA AAA AAA AAA AAA AAA.

L'invention concerne naturellement également tous fragments d'ADN équivalents, dans les conditions telles qu'elles ont été définies plus haut.

10 Les différentes séquences d'ADN telles qu'elles ont été décrites ci-dessus, peuvent être obtenues, comme il a déjà été indiqué, notamment par fragmentation du génome et récupération des fragments appropriés correspondants, contenant les enchaînements de nucléotides correspondant aux séquences contenues dans les susdites régions L1 et L2 ou encore à des régions plus petites contenant néanmoins des déterminants antigéniques spécifiques à l'égard du virus entier. En ce qui concerne les fragments les plus petits, notamment ceux qui codent pour un nombre limité d'acides aminés, tels qu'ils ont été illustrés par les exemples, on peut également avoir recours à la synthèse chimique des nucléotides correspondants, selon des méthodes à ce jour bien connues, les séquences obtenues pouvant alors être utilisées comme insérats susceptibles d'être incorporés dans un vecteur permettant la transformation des micro-organismes appropriés à leur expression.

25 En ce qui concerne les peptides eux-mêmes, on peut également avoir recours, surtout lorsqu'il s'agit de peptides ne comprenant qu'un nombre limité de résidus aminoacyles, à des techniques elles-mêmes connues de synthèse chimique .

A cet égard, on pourra avoir recours au mode de synthèse en solution homogène décrit par HOUBEN-WEYL dans l'ouvrage intitulé "Methodem der Organischen Chemie" (Méthode de la chimie organique) édité par 35 E. Wünsch., vol. 15-I et II, THIEME, Stuttgart 1974.



Cette méthode de synthèse consiste à condenser successivement deux à deux les aminoacyles successifs dans l'ordre requis, ou à condenser des aminoacyles et des fragments préalablement formés et contenant déjà plusieurs résidus aminoacyles dans l'ordre approprié, ou encore plusieurs fragments préalablement ainsi préparés, étant entendu que l'on aura eu soin de protéger au préalable toutes les fonctions réactives portées par ces aminoacyles ou fragments à l'exception des fonctions amine de l'un et carboxyle de l'autre ou vice versa, qui doivent normalement intervenir dans la formation des liaisons peptidiques, notamment après activation de la fonction carboxyle, selon les méthodes bien connues dans la synthèse des protéines. En variante, on pourra avoir recours à des réactions de couplage mettant en jeu des réactifs de couplage classique, du type carbodiimide, tels que par exemple la 1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl)-carbodiimide. Lorsque l' aminoacyle mis en oeuvre possède une fonction amine supplémentaire (cas de la lysine par exemple) ou une autre fonction acide (cas par exemple de l'acide glutamique), ces fonctions seront par exemple protégées, par des groupes carbobenzoxy ou t-butyloxycarbone, en ce qui concerne les fonctions amine, ou par des groupes t-butylester, en ce qui concerne les fonctions carboxyliques. Il en ira de même de la protection de toute autre fonction réactive. Par exemple lorsque l'un des aminoacyles considérés contient une fonction SH (par exemple le cystéine), on pourra avoir recours à un groupe acétamidométhyle ou formamidométhyle.

Dans le cas de la synthèse progressive, acide aminé par acide aminé, la synthèse débute de préférence par la condensation de l'acide aminé C-terminal avec l'acide aminé qui correspond à l' aminoacyle voisin dans la séquence désirée et ainsi de suite, de proche en proche, jusqu'à l'acide aminé N-terminal. Selon une autre technique préférée de l'invention, on a recours à celle décrite par R.D. MERRIFIELD dans l'article intitulé "Solid phase peptide synthesis" (J. Am. Chem. Soc., 45, 2149-2154).

Pour fabriquer une chaîne peptidique selon le procédé de MEERIFIELD, on a recours à une résine polymère très poreuse, sur laquelle on fixe le premier aminoacide C-terminal de la chaîne. Cet aminoacide est fixé sur la  
5 résine par l'intermédiaire de son groupe carboxylique et sa fonction amine est protégée, par exemple par le groupe t-butyloxycarbonyle.

Lorsque le premier aminoacide C-terminal est ainsi fixé sur la résine, on enlève le groupe protecteur  
10 de la fonction amine en lavant la résine avec un acide.

Dans le cas où le groupe protecteur de la fonction amine est le groupe t-butyloxycarbonyle, il peut être éliminé par lavage de la résine à l'aide d'acide tri-  
fluoroacétique.

15 On fait ensuite réagir le deuxième aminoacide qui fournit le second aminoacyle de la séquence recherchée, à partir du résidu aminoacyle C-terminal sur la fonction amine déprotégée du premier aminoacide C-terminal fixé sur la chaîne. De préférence, la fonction carboxyle de ce deuxième  
20 aminoacide est activée, par exemple par la dicyclohexylcarbodiimide, et la fonction amine est protégée, par exemple par le t-butyloxycarbonyle.

On obtient ainsi la première partie de la chaîne peptidique recherchée, qui comporte deux aminoacides, et  
25 dont la fonction amine terminale est protégée. Comme précédemment, on déprotège la fonction amine et on peut ensuite procéder à la fixation du troisième aminoacyle, dans les conditions analogues à celles de l'addition du deuxième aminoacide C-terminal.

30 On fixe ainsi, les uns après les autres, les acides aminés, qui vont constituer la chaîne peptidique sur le groupe amine chaque fois déprotégé au préalable de la portion de la chaîne peptidique déjà formée, et qui est rattachée à la résine.

35 Lorsque la totalité de la chaîne peptidique désirée est formée, on élimine les groupes protecteurs des différents aminoacides constituant la chaîne peptidique et on détache le peptide de la résine par exemple à l'aide d'acide fluorhydrique.

L'invention concerne également les produits obtenus par la conjugaison (par liaison covalente) entre les peptides, tels qu'ils ont été définis plus haut, et un support macromoléculaire du genre de ceux qui peuvent être utilisés pour la constitution de principes actifs immunogènes.

De tels supports sont bien connus des spécialistes. Il peut s'agir de supports naturels, tels que des sérums albumines, de préférence humaines lorsqu'il s'agit de vaccins destinés à l'homme, ou animales, lorsqu'il s'agit de vaccins destinés à l'usage vétérinaire. On mentionnera encore à titre d'exemple de supports macromoléculaires naturels les ovalbumines, la toxine tétanique, etc. ayant des poids moléculaires de préférence supérieurs à 20.000.

On peut également avoir recours à des supports macromoléculaires synthétiques tels que des polypeptides synthétiques. A titre d'exemple, on mentionne des polylysines, portant le cas échéant des chaînes latérales de polyalanine (les motifs alanyles étant dextrogyres et/ou lévogyres). On peut encore avoir recours aux chaînes synthétiques, telles que celles décrites par exemple dans la demande de brevet français n° 79 00819.

Les principes actifs selon l'invention sont utilisables notamment pour protéger des sujets contre les papillomavirus, par exemple préalablement à la réalisation d'un traitement immunosuppresseur.

Une importante application réside dans la production de sérums ou d'anticorps davantage purifiés, en vue de réaliser des réactifs de diagnostic de papillomavirus qui peuvent être utilisés dans des tests de routine, notamment à l'occasion d'examens de frottis vaginaux, ou autres examens gynécologiques, par exemple dans le cas de dépistage de certains types de cancer du col utérin. Ils peuvent encore servir à des tests de diagnostic préventif en dermatologie.

L'invention concerne naturellement aussi toutes les compositions de vaccins, dans lesquelles les susdits principes actifs sont associés à des véhicules pharmaceutiques permettant leur administration par voie



parentérale, orale ou autre. Ces compositions contiennent éventuellement également un adjuvant immunologique du type muramyl-peptide, permettant le renforcement de la réaction immunitaire à l'égard du principe vaccinant.

5 Ces compositions peuvent être utilisées en médecine humaine ou vétérinaire, les séquences immunogènes de papillomavirus mises en oeuvre étant alors, le cas échéant originaires, notamment en ce qui concerne celles qui comportent un nombre de résidus aminoacyle  
10 élevé, des papillomavirus colonisant préférentiellement les tissus des espèces auxquelles le vaccin est destiné.

D'une façon générale, l'invention concerne naturellement tout fragment d'ADN dont le produit d'expression dans un micro-organisme approprié contient au moins  
15 l'un des déterminants antigéniques d'un papillomavirus, humain ou animal, ce fragment étant caractérisé en ce qu'il comporte une séquence de nucléotides, elle-même contenue ou analogue à celle contenue soit dans la région L1, soit dans la région L2, soit encore pour partie  
20 dans la région L1 et pour partie dans la région L2 de celui des brins du génome de papillomavirus qui les comporte et qui sont capables de coder pour des protéines de structure du virus ou pour des polypeptides ayant en commun avec ces protéines une séquence contenant au moins  
25 un déterminant antigénique caractéristique des papillomavirus.

Il est entendu que les revendications qui suivent couvrent non seulement les fragments d'ADN et les fragments de peptides correspondants, mais également tous  
30 les équivalents susceptibles d'être réalisés, notamment mais non exclusivement en conformité avec les indications qui ont été formulées dans la présente description.

L'invention concerne également toutes séquences d'ADN extraites du génome des papillomavirus, autres que  
35 celles qui ont été évoquées ci-dessus, notamment les séquences E1 (nucléotides 5473-6919) et E2 (nucléotides 6863-16) (sur la fig. 2a au niveau des phases de lecture

1 et 2). Les peptides exprimés par ces séquences peuvent induire *in vivo* la formation d'anticorps utilisables pour détecter des lésions provoquées par des papillomavirus (et contenant des fragments de protéines et le DNA viral) dans des réactions classiques d'antigènes anticorps dépistables par les réactions classiques d'immunofluorescence ou d'immunoenzymatiques, etc.



REVENDEICATIONS

1 - Fragment d'ADN dont le produit d'expression dans un micro-organisme approprié contient au moins l'un des déterminants antigéniques des papillomavirus, caractérisé en ce qu'il est constitué par une séquence de nucléotides capable de coder pour une ou des protéines de structure du virus ou pour un ou des polypeptides ayant en commun avec ces protéines une séquence contenant au moins un déterminant antigénique caractéristique des papillomavirus, cette séquence de nucléotides étant contenue soit dans la région L1, soit dans la région L2, soit encore pour partie dans la région L1 et pour partie dans la région L2, de celui des brins du génome de papillomavirus qui les comporte, ladite séquence étant le cas échéant complétée par des fragments d'ADN issus du génome du papillomavirus et normalement associés dans celui-ci audit génome et comportant au plus une centaine de nucléotides.

2 - Fragment d'ADN selon la revendication 1, caractérisé en ce que sa séquence de nucléotides est contenue ou analogue à celle contenue dans le génome d'un papillomavirus humain, notamment du type 1a (HPV 1a), notamment dans la région L1 de HPV 1a.

3 - Fragment d'ADN selon la revendication 1 ou la revendication 2, caractérisé en ce qu'il comporte une séquence de nucléotides codant pour le peptide

Leu-Asp-Gln-Phe-Pro-Leu-Gly-Arg-Lys-Phe-Leu,  
ou pour le peptide

Leu-Asp-Gln-Phe-Pro-Leu-Gly-Arg-Arg-Phe-Leu.

4 - Séquence d'ADN selon la revendication 3, caractérisée par la séquence de nucléotide

TTA GAC CAA TTT CCA CTA GGA AGG AAA TTT CTA

ou du nucléotide

5 TTA GAT CAA TTT CCC TTG GGA AGA AGA TTT TTA.

5 - Séquence d'ADN selon la revendication 1 ou la revendication 2, caractérisée en ce qu'il comporte une séquence de nucléotides codant pour le peptide

Ala-Lys-Arg-Arg-Arg-Lys

10 ou pour le peptide

Ala-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys.

6 - Séquence d'ADN selon la revendication 5, caractérisée en ce qu'il comporte l'une des deux séquences de nucléotides suivantes :

15 GCC AAG CGC AGG CGT AAG ou

GCA AAA AAA AAA AAA AAA.

7 - Les peptides tels que codés par les fragments de nucléotides définis dans l'une quelconque des revendications 1 à 6, plus particulièrement :

20 Leu-Asp-Gln-Phe-Pro-Leu-Gly-Arg-Lys-Phe-Leu

Leu-Asp-Gln-Phe-Pro-Leu-Gly-Arg-Arg-Phe-Leu

Ala-Lys-Arg-Arg-Arg-Lys

Ala-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys.

8 - Un peptide immunogène capable d'induire  
25 *in vivo* la production d'anticorps actifs à l'égard des papillomavirus, notamment de celui du type HPV 1a, caractérisé en ce qu'il contient l'une au moins des séquences peptidiques susceptibles d'être codées par l'une au moins des fragments d'ADN selon l'une quelconque des  
30 revendications 1 à 3, ou l'une au moins des séquences d'ADN selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, le cas échéant conjuguées à un support macromoléculaire.

9 - Peptide immunogène selon la revendication 8, caractérisé en ce qu'il contient une séquence peptidique correspondant au moins à l'une de celles des peptides identifiés dans la revendication 7.  
35

10 - Les compositions de vaccin contenant à titre de principe actif immunogène l'un des peptides

immunogènes tels que définis dans la revendication 8 ou dans la revendication 9.

11 - Les anticorps tels qu'induits *in vivo* par les peptides immunogènes selon la revendication 8 ou selon la revendication 9.

12 - Compositions utiles en tant que réactif biologique ou en tant que réactif de diagnostic *in vitro* des produits d'expression des papillomavirus, notamment de ceux du type HPV 1a.

FIG. 1a.

961

début L2 → MetValThrPheAspAsnProAlaPhe  
 aagaccctctttaggcctcaagattctataatagcgctctatatg  
 aacaggtgcaagtagcacccttaggttcgttagcagccacagtcacATGGTCACCTTTTGATAATCCAGCATT

1081

GluProGluLeuAspGluValSerIleIlePheGlnArgAspLeuAlaGlnThrProValProGluPheArg  
 TGAGCCAGAGCTTGATGAGGTGTCTATATCTTCCAAAGAGACTTAGATGCTCTTGCTCAGACACCAGTGCCTGAATTTAGA  
 AspValValTyrLeuSerLysProThrPheSerArgGlu  
 GATGTAGTTTATCTGAGCAAGCCACATTTTCGGGGGA

1201

ProGlyArgLeuArgValSerArgLeuGlyLysSerSerThrIleArgThrArgLeuGlyThrAlaIleGlyAlaArgThr  
 ACCAGGGGACGGTTAAGGGTTAGCCGCTTGCCAAAGTTCAACTATTCGTACACGCCCTGGGCACAGCAATTTGGCCAGAACCC  
 HisPhePheTyrAspLeuSerSerIleAlaProGlu  
 CACTTTTCTATGATTTAAGTTCATTTGCTCCAGA

1321

AspSerIleGluLeuLeuProLeuGlyGluHisSerGlnThrThrValIleSerSerAsnLeuGlyAspThrAlaPheIleGln  
 AGACTCAATTGAAATTAATGCTTTAGGTGAGCATAGTCAACAACAGTCATTAGTTCCAACTTAGGTGACACAGCATTTATACAA  
 GlyGluThrAlaGluAspAspLeuGluValIleSer  
 GGTGAGACAGCAGAGGATGACTTAGAAGTTATCTC

1441

LeuGluThrProGlnLeuTyrSerGluGluGluLeuLeuAspThrAsnGluSerValGlyGluAsnLeuGlnLeuThrIleThr  
 TTTAGAAACACCACAAATTAATTCAGAAAGAGAGCTTTAGACACACAACGAAAGTGGGGGAAAAATTTGCAACTTACTATTTACT  
 AsnSerGluGlyGluValSerIleLeuAspLeuThr  
 AACTCAGAGGGTGAGGTTTCTATACTAGATTTAAC

1561

GlnSerArgValArgProProPheGlyThrGluAspThrSerLeuHisValTyrTyrProAsnSerSerLysGlyThrProIle  
 ACAAGCAGAGTCAGGCCACCTTTGGCACTGAAGATACTAGCTTGCATGTATATTACCCAAATTTCTTAAAGGGACTCCAATA  
 IleAsnProGluGluSerPheThrProLeuValIle  
 ATTAATCCTGAAGAATCATTTACACCTTTGGTTAT

1681

IleAlaLeuAsnAsnSerThrGlyAspPheGluLeuHisProSerLeuArgLysArgArgLysArgAlaTyrVal  
 TATAGCTCTTAACAACCTCAACAGGGGATTTGAGTTACATCTAGCTTAGAAAGCGTCTGTAAGAGCTTATGTATAA  
 début L1 → MetTyrAsnValPheGlnMetAlaValTrpLeuProAlaGlnAsnLysPhe  
 ATGTATAATAGTTTTCAGATGGCTGTCTGGTTACCAGCCAGAAATAAGT

1801

Fin L2  
 \*\*\*



FIG. 1b.

1681 IleAlaLeuAsnAsnSerThrGlyAspPheGluLeuHisProSerLeuArgLysArgAlaTyrVal  
 TATAGCTCTTAACAACACTCAACAGGGGATTTTGAGTTACATCCTAGTCTTAGAAAGCGTCGTAAAGAGCTTATGTATAA  
 1801 début LI → MetTyrAsnValPheGlnMetAlaValTrpLeuProAlaGlnAsnLysPhe  
 ATGTATAATGTTTTTTCAGATGGCTGTCTGGTTACCAGCGCAGAAATAAGT  
 TyrLeuProGlnProIleThrArgIleLeuSerThrAspGluTyrValThrArgThrAsnLeuPheTyrHisAlaThrSer  
 TCTATCTTCTCCAGCCCATCACTAGAAATCCTGTCCACTGATGAATATGTAACCCAGAACCAATCTCTTCTACCATGCAACATCT  
 GluArgLeuLeuValGlyHisProLeuPheGlu  
 GAACGCTACTGCTGGTCGGACATCCTTTGTTTG  
 1921 IleSerSerAsnGlnThrValThrIleProLysValSerProAsnAlaPheArgValPheArgValArgPheAlaAspProAsn  
 AGATCTCCAGTAATCAAACTGTAACCTATACCAAAAGTGTCCAAATGCATTTAGAGTTTTTAGGGTCCGTTTTTGCTGATCCAAAT  
 ArgPheAlaPheGlyAspLysAlaIlePheAsnPro  
 AGATTTGCATTTGGGGATAAGGCAATTTTAAATC  
 2041 GluThrGluArgLeuValTrpGlyLeuArgGlyIleGluIleGlyArgGlyGlnProLeuGlyIleGlyIleThrGlyHisPro  
 CAGAAACAGAAAGATAGTTGGGGCTAAGAGGATAGATAGTAGAGCCAGCCTTTAGGTATAGGAATAACGGGCCACCCCT  
 LeuLeuAsnLysLeuAspAlaGluAsnProThr  
 CTTTTAAATAAGTTAGATGATGCAGAAAAATCCAA  
 2161 AsnTyrIleAsnThrHisAlaAsnGlyAspSerArgGlnAsnThrAlaPheAspAlaLysGlnThrGlnMetPheLeuValGly  
 CAAATATATAATACTCATGCAAAATGGAGATTTCTAGACAAAAATACTGCTTTTGATGCCAAAAACAGACACAAAAATGTTCTCCTCGTCGGC  
 CysThrProAlaSerGlyGluHisTrpThrSerSer  
 TGTACTCCTGCTTCAGGTGAACACTGGACAAGTA  
 2281 ArgCysProGlyGluGlnValLysLeuGlyAspCysProArgValGlnMetIleGluSerValIleGluAspGlyAspMetMet  
 GTCGTTGCCAGGGAAACAAGTGAACCTTGGGACTGCCCCAGGGTGCAAAATGATAGAGTCTGTCTATAGAAAGATGGTGACATGATG  
 AspIleGlyPheGlyAlaMetAspPheAlaAlaLeu  
 GATATTGGTTTTGGGGCTATGGATTTTGCTGCTT  
 2401 GlnGlnAspLysSerAspValProLeuAspValGlnAlaThrCysLysTyrProAspTyrIleArgMetAsnHisGluAla  
 TACAGCAAGACAAGTCTGATGTCCTTTAGATGTTGTTCAAGCAACATGCCAAATATCCTGATATATCAGAAATGAACCATGAAGCC  
 TyrGlyAsnSerMetPhePheAlaArgArgGlu  
 TATGGCAACTCTATGTTTTTTTTTTCACCGTCGGC

Fin L2  
 \*\*\*



FIG. 1c.

2521 GlnMetTyrThrArgHisPhePheThrArgGlyGlySerValGlyAspLysGluAlaValProGlnSerLeuTyrLeuThrAla  
 AGCAAATGTATACCAGGCACATTTTACTCGGGGGTTCGGTGGTGTATAAGGAGGCAGTCCCACAAAAGCCTGTATTTAACAGCA  
 AspAlaGluProArgThrThrLeuAlaThrThrAsn  
 GATGCTGAACCAAGAACAACCTTTAGCAACAACAA

2641 TyrValGlyThrProSerGlySerMetValSerSerAspValGlnLeuPheAsnArgSerTyrTrpLeuGlnArgCysGlnGly  
 ATTATGTAGGCACACCAAGTGGCTCTATGGTTTCACTGATGTCCAATTGTTTAAATAGATCTTACTGGCTTCAGCGATGTCAAGGC  
 GlnAsnAsnGlyIleCysTrpArgAsnGlnLeuPhe  
 CAGAAATAATGGCAATTTGCTGGAGAAACCAAGTTAT

2761 IleThrValGlyAspAsnThrArgGlyThrSerLeuSerIleSerMetLysAsnAsnAlaSerThrThrTyrSerAsnAlaAsn  
 TTATTACAGTTGGAGATAATACCAGAGGAAACAAGTTTATCTATCAGTATGAAAAACAATGCCAAGTACTACATATTTCCAATGTCTAAT  
 PheAsnAspPheLeuArgHisThrGluGluPheAsp  
 TTTAATGATTTTCTAAGACATACTGAAGAAATTTG

2881 LeuSerPheIleValGlnLeuCysLysValLysLeuThrProGluAsnLeuAlaTyrIleHisThrMetAspProAsnIleLeu  
 ATCTTTCTTTTATAGTTCAGCTTTGTAAGTAAAGTTAACTCCCGAAAACTAGCCTACATTCATACAAATGGACCCTAATATTTTA  
 GluAspTrpGlnLeuSerValSerGlnProProThr  
 GAGGATTTGGCAACTATCTGTATCTCAACCACCTA

3001 AsnProLeuGluAspGlnTyrArgPheLeuGlySerSerLeuAlaAlaLysCysProGluGlnAlaProProGluProGlnThr  
 CCAATCCTCTAGAAGATCAATATAGGTTTTTAGGGTCTTCTTGGCAGCAAAATGTCCAGAACAGGGCCTCCTGAGCCCCAGACT  
 AspProTyrSerGlnTyrLysPheTrpGluValAsp  
 GATCCTTATAGTCAATATAAAATCTGGGAAGTCG

3121 LeuThrGluArgMetSerGluGlnLeuAspGlnPheProLeuGlyArgLysPheLeuTyrGlnSerGlyMetThrGlnArgThr  
 ATCTCACAGAAAGGATGTCGGAACAATTAGACCAATTTCCACTAGGAAGGAAATTTCTATATCAAAGTGGCATGACACAACGTACT  
 AlaThrSerSerThrThrLysArgLysThrValArg  
 GCTACTAGTTCACCACAAAGCGCAAAACAGTGC

3241 ValSerThrSerAlaLysArgArgArgLysAla  
 Fin L1  
 \*\*\*  
 GTGTATCTACGTCAGCCCAAGCGCAGGCGTAAAGCCTTAG.

3361

3/5



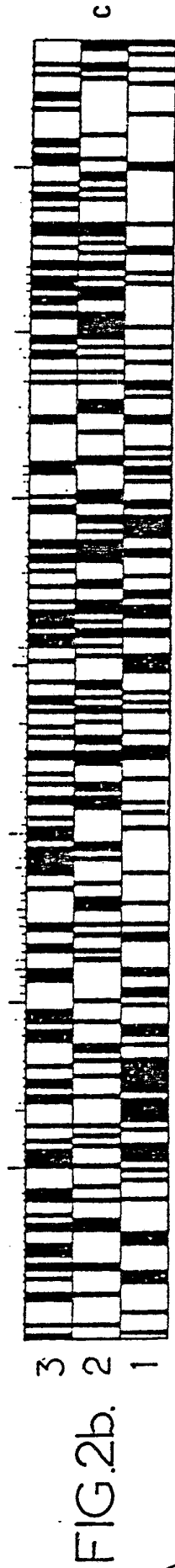
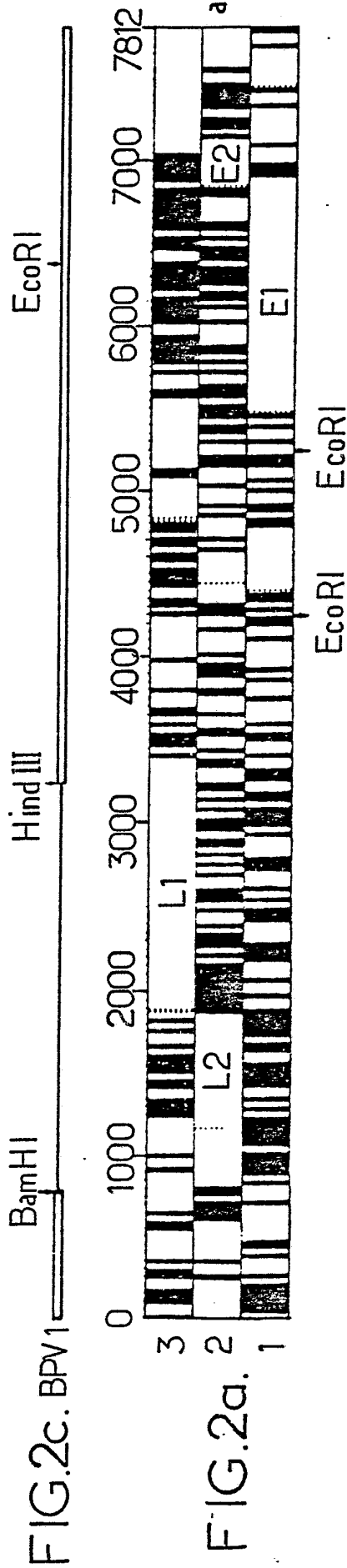


FIG. 3.

HPV1a	Thr A C A	Glu G A A	Arg A G G	Met A T G	Ser T C C	Glu G A A	Gln C A A	Leu T T A	Asp G A C	Gln C A A	Phe T T T	Pro C C A	Leu C T A	Gly G G A	Arg A G G	Lys A A A
BPV1	Lys A A A	Glu G A A	Arg A A G	Leu C T T	Ser T C T	Leu T T G	Asp G A C	Leu T T A	Asp G A T	Gln C A A	Phe T T T	Pro C C C	Leu T T G	Gly G G A	Arg A G A	Arg A G A
HPV1a	Phe T T T	Leu C T A	Tyr T A T	Gln C A A	Ser A G T	Gly G G C	Met A T G	Thr A C A	Gln C A A	Arg C G T	Thr A C T	Ala G C T	Thr A C T	Ser A G T	Ser T C C	Thr A C C
BPV1	Phe T T T	Leu T T A	U C A	C A G	C A A	G G G	G C A	G G A	T G T	T C A	Thr A C T	Val G T G	Arg A A A	Lys A A A	Arg C G A	Arg A G A
HPV1a	Thr A C A	Lys A A G	Arg C G C	Lys A A A	Thr A C A	Val G T G	Arg C G T	Val T C T	Ser A C C	Thr G T C	Ser T C A	Ala G C C	Lys A A G	Arg C G C	Arg C G T	Lys A A G
BPV1	Ile A T T	Arg A G C	C A A	A A A	A C T	T C C	A G T	A A G	C C T	G C A	A A A	A A A	A A A	A A A	A A A	A A A
HPV1a	Ala G C T	T A G	T A T	A T A	T A T	A T A	T A T	A A C	T A T	T T A	T T A	T T A	T T A	T T A	T T A	T T A
BPV1	A G C	T A A	G T T	T C T	A T A	A A T	G T T	C T G	T A A	A A T	G T A	A A A	T A A	A A A	A A A	A A A





# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No. PCT/FR 83/00063

<b>I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> (If several classification symbols apply, indicate all) <sup>3</sup>		
According to International Patent Classification (IPC) or to both National Classification and IPC		
IPC <sup>3</sup> : C 12 N 15/00; C 12 P 21/02; A 61 K 39/12; C 07 G 7/00; C 07 C 103/52; G 01 N 33/54		
<b>II. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum Documentation Searched <sup>4</sup>		
Classification System	Classification Symbols	
IPC <sup>3</sup>	C 12 N; C 12 P; A 61 K; C 07 G; C 07 C	
Documentation Searched other than Minimum Documentation to the Extent that such Documents are Included in the Fields Searched <sup>5</sup>		
<b>III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b> <sup>14</sup>		
Category <sup>*</sup>	Citation of Document, <sup>16</sup> with indication, where appropriate, of the relevant passages <sup>17</sup>	Relevant to Claim No. <sup>18</sup>
X	The EMBO Journal, vol. 1, no. 2, 1982 IRL Press Limited (Oxford, GB) O. Danos et al.: "Human papilloma- virus 1a complete DNA sequence: a novel type of genome organization among Papovaviridae", pages 231- 236, see the entire document	1-12
P, X	GB, A, 2091268 (ILKKA PALVA) 28 July 1982 see claims, 12; page 9, ligne 15	1,8-12
A	Journal of Virology, vol. 36, no. 2, november 1980; C.A. Heilman et al.: "Cloning of human papilloma virus genomic DNAs and analysis of homologous polynucleotide sequences" pages 395-407	
A	Virology, vol. 118, 1982; A. Clad et al.: "Molecular cloning and partial	./.
<p><sup>*</sup> Special categories of cited documents: <sup>15</sup></p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.</p> <p>"&amp;" document member of the same patent family</p>		
<b>IV. CERTIFICATION</b>		
Date of the Actual Completion of the International Search <sup>2</sup>	Date of Mailing of this International Search Report <sup>2</sup>	
01 July 1983 (01.07.83)	29 July 1983 (29.07.83)	
International Searching Authority <sup>1</sup>	Signature of Authorized Officer <sup>20</sup>	
European Patent Office		

III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT (CONTINUED FROM THE SECOND SHEET)		
Category *	Citation of Document, <sup>16</sup> with Indication, where appropriate, of the relevant passages <sup>17</sup>	Relevant to Claim No <sup>18</sup>
	nucleotide sequence of human papillomavirus type 1a DNA", pages 254-259 --	
A	Journal of Virology, vol. 40, no. 3, décembre 1981; E.M. de Villiers et al.: "Molecular cloning of viral DNA from human genital warts", pages 932-935 --	
A	Eur. J. Biochem., vol. 109, 1980 O. Danos et al.: "Molecular cloning, refined physical map and heterogeneity of methylation sites of papilloma virus type 1a DNA" pages 457-461 --	
A	Chemical Abstracts, vol. 94, no. 15, 13 April 1981 (Columbus, Ohio, US) W. Meinke et al.: "Isolation and characterization of the major capsid protein of bovine papilloma virus type 1", see page 236, réf.: 116349r, J. Gen. Virol. 1981, 52(1), 15-24 --	
A	Chemical Abstracts, vol. 94, no. 15, 13 April 1981 (Columbus, Ohio, US) A.J. Faras et al.: "Genetic variation among papillomaviruses", see page 357, réf. 117603f, Ann. N. Y. Acad. Sci. 1980, 354 (Genet. Var. Viruses) 60-79 --	1
A	Chemical Abstracts, vol. 90, no. 17, 23 April 1979 (Columbus, Ohio, US) H. Pfister et al.: "Characterization of proteins of human papilloma viruses (HPV) and antibody response to HPV 1", see page 250, réf.: 134848z, Med. Microbiol. Immunol. 1978, 166(1-4), 13-19 -----	8

ANNEX TO THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT ON

---

INTERNATIONAL APPLICATION NO. PCT/FR 83/00063 (SA 4967)

---

This Annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The members are as contained in the European Patent Office EDP file on 26/07/83

The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

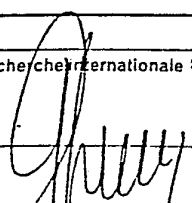
---

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
GB-A- 2091268	28/07/82	BE-A- 891659	16/04/82
		DE-A- 3152001	29/07/82
		JP-A- 57132895	17/08/82
		SE-A- 8107812	01/07/82
		FR-A- 2501230	10/09/82

---

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale N° PCT/FR 83/00063

<b>I. CLASSEMENT DE L'INVENTION</b> (si plusieurs symboles de classification sont applicables, les indiquer tous) <sup>1</sup>		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
CIB. <sup>3</sup> : C 12 N 15/00; C 12 P 21/02; A 61 K 39/12; C 07 G 7/00; C 07 C 103/52; G 01 N 33/54		
<b>II. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTÉ</b>		
Documentation minimale consultée <sup>4</sup>		
Système de classification	Symboles de classification	
CIB. <sup>3</sup> :	C 12 N; C 12 P; A 61 K; C 07 G; C 07 C	
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où de tels documents font partie des domaines sur lesquels la recherche a porté <sup>6</sup>		
<b>III. DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS</b> <sup>14</sup>		
Catégorie *	Identification des documents cités, <sup>16</sup> avec indication, si nécessaire, des passages pertinents <sup>17</sup>	N° des revendications visées <sup>18</sup>
X	The EMBO Journal, vol. 1, no. 2, 1982 IRL Press Limited (Oxford, GB) O. Danos et al.: "Human papilloma-virus 1a complete DNA sequence: a novel type of genome organization among Papovaviridae", pages 231-236, voir le document en entier --	1-12
P,X	GB, A, 2091268 (ILKKA PALVA) 28 juillet 1982 voir revendication 12; page 9, ligne 15 --	1,8-12
A	Journal of Virology, vol. 36, no. 2, novembre 1980; C.A. Heilman et al.: "Cloning of human papilloma virus genomic DNAs and analysis of homologous polynucleotide sequences" pages 395-407 --	
A	Virology, vol. 118, 1982; A. Clad et al.: "Molecular cloning and partial	./.
<p>* Catégories spéciales de documents cités: <sup>15</sup></p> <p>« A » document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent</p> <p>« E » document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date</p> <p>« L » document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)</p> <p>« O » document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens</p> <p>« P » document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée</p> <p>« T » document ultérieur publié postérieurement à la date de dépôt international ou à la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention</p> <p>« X » document particulièrement pertinent: l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive</p> <p>« Y » document particulièrement pertinent: l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier.</p> <p>« &amp; » document qui fait partie de la même famille de brevets</p>		
<b>IV. CERTIFICATION</b>		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée <sup>2</sup>	Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale <sup>3</sup>	
1er juillet 1983	29 JUL 1983	
Administration chargée de la recherche internationale <sup>1</sup>	Signature du fonctionnaire autorisé <sup>20</sup>	
OFFICE EUROPEEN DES BREVETS	 G.L.M. Kravdenberg	

(SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDIQUÉS SUR LA DEUXIÈME FEUILLE)		
III. DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS 14		
Catégorie *	Identification des documents cités, 16 avec indication, si nécessaire des passages pertinents 17	N° des revendications visées 18
	nucleotide sequence of human papillomavirus type 1a DNA", pages 254-259 --	
A	Journal of Virology, vol. 40, no. 3, décembre 1981; E.M. de Villiers et al.: "Molecular cloning of viral DNA from human genital warts", pages 932-935 --	
A	Eur. J. Biochem., vol. 109, 1980 O. Danos et al.: "Molecular cloning, refined physical map and heterogeneity of methylation sites of papilloma virus type 1a DNA" pages 457-461 --	
A	Chemical Abstracts, vol. 94, no. 15, 13 avril 1981 (Columbus, Ohio, US) W. Meinke et al.: "Isolation and characterization of the major capsid protein of bovine papilloma virus type 1", voir page 236, réf.: 116349r, J. Gen. Virol. 1981, 52(1), 15-24 --	
A	Chemical Abstracts, vol. 94, no. 15, 13 avril 1981 (Columbus, Ohio, US) A.J. Faras et al.: "Genetic variation among papillomaviruses", voir page 357, réf. 117603f, Ann. N. Y. Acad. Sci. 1980, 354 (Genet. Var. Viruses) 60-79 --	1
A	Chemical Abstracts, vol. 90, no. 17, 23 avril 1979 (Columbus, Ohio, US) H. Pfister et al.: "Characterization of proteins of human papilloma viruses (HPV) and antibody response to HPV 1", voir page 250, réf.: 134848z, Med. Microbiol. Immunol. 1978, 166(1-4), 13-19 -----	8

ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE RELATIF

A LA DEMANDE INTERNATIONALE NO. PCT/FR 83/00063 (SA 4967)

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche international visé ci-dessus. Lesdits membres sont ceux contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du 26/07/83

Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets.

---

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevets	Date de publication
GB-A- 2091268	28/07/82	BE-A- 891659	16/04/82
		DE-A- 3152001	29/07/82
		JP-A- 57132895	17/08/82
		SE-A- 8107812	01/07/82
		FR-A- 2501230	10/09/82

---