



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

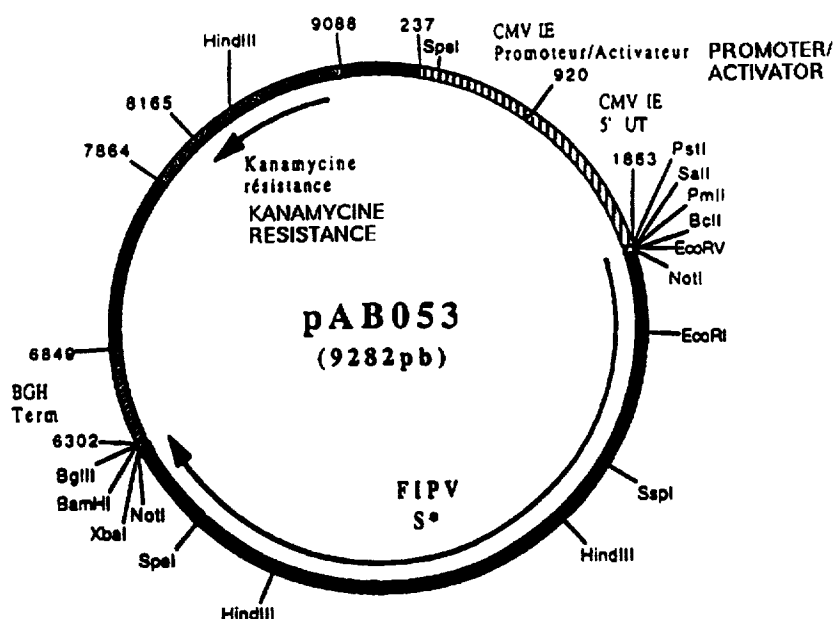
(51) Classification internationale des brevets ⁶ : C12N 15/48, 15/35, 15/50, 15/38, 15/40, 15/49, 15/47, A61K 39/295		A1	(11) Numéro de publication internationale: WO 98/03660
			(43) Date de publication internationale: 29 janvier 1998 (29.01.98)
(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR97/01315 (22) Date de dépôt international: 15 juillet 1997 (15.07.97) (30) Données relatives à la priorité: 96/09337 19 juillet 1996 (19.07.96) FR (71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): MERIAL [FR/FR]; 17, rue Bourgelat, F-69002 Lyon (FR). (72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (US seulement): AUDONNET, Jean-Christophe [FR/FR]; 119, rue de Créqui, F-69006 Lyon (FR). BOUCHARDON, Annabelle [FR/FR]; 118, cours Gambetta, F-69007 Lyon (FR). BAUDU, Philippe [FR/FR]; 58, avenue Edouard Simon, F-69290 Craponne (FR). RIVIERE, Michel [FR/FR]; 11, Chemin du Chancelier, F-69130 Ecully (FR). (74) Mandataire: COLOMBET, Alain; Cabinet Lavoix, 2, place d'Estienne d'Orves, F-75441 Paris Cedex 09 (FR).		(81) Etats désignés: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, HU, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, brevet ARIPO (GH, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Publiée Avec rapport de recherche internationale. Avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si de telles modifications sont reçues.	

(54) Title: FELINE POLYNUCLEOTIDE VACCINE FORMULA

(54) Titre: FORMULE DE VACCIN POLYNUCLEOTIDIQUE FELIN

(57) Abstract

A cat vaccine formula including at least three polynucleotide vaccine valencies that each include a plasmid containing a cat pathogen valency gene capable of being expressed *in vivo* in host cells. Said valencies are selected from the group which consists of feline leukaemia virus, panleukopenia virus, infectious peritonitis virus, coryza virus, calicivirus disease virus, feline immunodeficiency virus and optionally rabies virus. Said plasmids include one or more genes per valency, and said genes are selected from the group which consists of env and gag for feline leukaemia, VP2 for panleukopenia, modified S, M and N for infectious peritonitis, gB and gD for coryza, capsid for calicivirus disease, env and gag/pro for feline immunodeficiency and G for rabies.



(57) Abrégé

La formule de vaccin pour chat comprenant au moins trois valences de vaccin polynucléotidique comprenant chacune un plasmide intégrant, de manière à l'exprimer in vivo dans les cellules hôtes, un gène d'une valence de pathogène de chat, ces valences étant choisies parmi le groupe consistant en virus de la leucémie féline, virus de la panleucopénie, virus de la péritonite infectieuse, virus du coryza, virus de la calicivirose, virus de l'immunodéficience féline et éventuellement virus de la rage, les plasmides comprenant, pour chaque valence, un ou plusieurs des gènes choisis parmi le groupe consistant en env et gag pour la leucémie féline, VP2 pour la panleucopénie, S modifié, M, N pour la péritonite infectieuse, gB et gD pour le coryza, capsid pour la calicivirose, env et gag/pro pour l'immunodéficience féline et G pour la rage.

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.

AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave de Macédoine	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	ML	Mali	TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	MN	Mongolie	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MR	Mauritanie	UA	Ukraine
BR	Brésil	IL	Israël	MW	Malawi	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MX	Mexique	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	NE	Niger	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NL	Pays-Bas	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norvège	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NZ	Nouvelle-Zélande	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	PL	Pologne		
CM	Cameroun	KR	République de Corée	PT	Portugal		
CN	Chine	KZ	Kazakhstan	RO	Roumanie		
CU	Cuba	LC	Sainte-Lucie	RU	Fédération de Russie		
CZ	République tchèque	LI	Liechtenstein	SD	Soudan		
DE	Allemagne	LK	Sri Lanka	SE	Suède		
DK	Danemark	LR	Libéria	SG	Singapour		
EE	Estonie						

FORMULE DE VACCIN POLYNUCLEOTIDIQUE FELIN

La présente invention a trait à une formule de vaccin permettant la vaccination des chats contre un certain nombre de pathologies. Elle a également trait à une méthode de vaccination correspondante.

On a déjà proposé par le passé des associations de vaccins contre certains virus canins.

Les associations développées jusqu'à présent étaient réalisées à partir de vaccins inactivés ou de vaccins vivants et éventuellement de mélanges de tels vaccins. Leur mise en oeuvre pose des problèmes de compatibilité entre valences et de stabilité. Il faut en effet assurer à la fois la compatibilité entre les différentes valences de vaccin, que ce soit au plan des différents antigènes utilisés ou au plan des formulations elles-mêmes, notamment dans le cas où l'on combine à la fois des vaccins inactivés et des vaccins vivants. Il se pose également le problème de la conservation de tels vaccins combinés et de leur innocuité notamment en présence d'adjuvant. Ces vaccins sont en général assez coûteux.

Les demandes de brevet WO-A-90 11092, WO-A-93 19183, WO-A-94 21797 et WO-A-95 20660 ont fait usage de la technique récemment développée des vaccins polynucléotidiques. On sait que ces vaccins utilisent un plasmide apte à exprimer dans les cellules de l'hôte l'antigène inséré dans le plasmide. Toutes les voies d'administration ont été proposées (intrapéritonéale, intraveineuse, intramusculaire, transcutanée, intradermique, mucosale, etc.). Différents moyens de vaccination peuvent également être utilisés, tels que ADN déposé à la surface de particules d'or et projeté de façon à pénétrer dans la peau de l'animal (Tang et al., Nature 356, 152-154, 1992) et les injecteurs par jet liquide permettant de transfecter à la fois dans la peau, le muscle, les tissus graisseux et les tissus mammaires (Furth et al., Analytical Biochemistry, 205, 365-368, 1992).

Les vaccins polynucléotidiques peuvent utiliser aussi bien des ADN nus que des ADN formulés par exemple au sein de liposomes ou de lipides cationiques.

L'invention se propose donc de fournir une formule de

vaccin multivalent permettant d'assurer une vaccination contre un certain nombre de virus pathogènes canins.

Un autre objectif de l'invention est de fournir une telle formule de vaccin associant différentes valences tout en
5 présentant tous les critères requis de compatibilité et de stabilité des valences entre elles.

Un autre objectif de l'invention est de fournir une telle formule de vaccin permettant d'associer différentes valences dans un même véhicule.

10 Un autre objectif de l'invention est de fournir un tel vaccin qui soit de mise en oeuvre aisée et peu coûteuse.

Un autre objectif, encore de l'invention est de fournir une méthode de vaccination des chats qui permette d'obtenir une protection, y compris une protection multivalente, avec un
15 niveau élevé d'efficacité et de longue durée, et avec une bonne innocuité.

La présente invention a donc pour objet une formule de vaccin destiné au chat comprenant au moins trois valences de vaccin polynucléotidique comprenant chacune un plasmide
20 intégrant, de manière à l'exprimer in vivo dans les cellules hôtes, un gène d'une valence de pathogène félin, ces valences étant choisies parmi le groupe consistant en virus de la leucémie féline (FeLV), virus de la panleucopénie (FPV), virus de la péritonite infectieuse (FIPV), virus du coryza (FHV),
25 virus de la calicivirose (FCV), virus de l'immunodéficience féline (FIV) et éventuellement virus de la rage (rhabdovirus), les plasmides comprenant, pour chaque valence, un ou plusieurs des gènes choisis parmi le groupe consistant en env et gag/pol pour la leucémie féline, VP2 pour la panleucopénie, S modifié
30 (ou S*) et M pour la péritonite infectieuse, gB et gD pour le coryza, capside pour la calicivirose, env et gag/pro pour l'immunodéficience féline et G pour la rage.

Par valence, dans la présente invention, on entend au moins un antigène assurant une protection contre le virus du
35 pathogène considéré, la valence pouvant contenir, à titre de sous-valence, un ou plusieurs gènes naturels ou modifiés d'une ou plusieurs souches du pathogène considéré.

Par gène d'agent pathogène, on entend non seulement le gène complet, mais aussi les séquences nucléotidiques

différentes, y compris fragments, conservant la capacité à induire une réponse protectrice. La notion de gène recouvre les séquences nucléotidiques équivalentes à celles décrites précisément dans les exemples, c'est-à-dire les séquences différentes mais codant pour la même protéine. Elle recouvre aussi les séquences nucléotidiques d'autres souches du pathogène considéré, assurant une protection croisée ou une protection spécifique de souche ou de groupe de souche. Elle recouvre encore les séquences nucléotidiques qui ont été modifiées pour faciliter l'expression in vivo par l'animal hôte mais codant pour la même protéine.

De préférence, la formule de vaccin selon l'invention comprend les valences panleucopénie, coryza et calicivirose.

On pourra ajouter les valences leucémie féline, immunodéficience féline et/ou péritonite infectieuse.

En ce qui concerne la valence coryza, on préfère mettre en oeuvre les deux gènes codant pour gB et gD, dans des plasmides différents ou dans un seul et même plasmide, ou utiliser l'un ou l'autre de ces gènes.

Pour la valence leucémie féline, on utilise de préférence les deux gènes env et gag/pol intégrés dans deux plasmides différents ou dans un seul et même plasmide ou le gène en seul.

Pour la valence immunodéficience féline, on préférera utiliser les deux gènes env et gag/pro dans des plasmides différents ou dans un seul et même plasmide, ou un seul de ces gènes. De préférence encore, on utilise le gène env de FeLV-A ou les gènes env de FeLV-A et FeLV-B.

Pour la valence péritonite infectieuse, on préfère utiliser l'ensemble des deux gènes M et S modifié dans deux plasmides différents ou dans un seul et même plasmide, ou l'un ou l'autre de ces gènes. S sera modifié pour rendre inactifs les épitopes facilitants majeurs, de préférence selon l'enseignement de la demande PCT/FR95/01128.

La formule de vaccin selon l'invention pourra se présenter sous un volume de dose compris entre 0,1 et 3 ml et en particulier entre 0,5 et 1 ml.

La dose sera généralement comprise entre 10 ng et 1 mg, de préférence entre 100 ng et 500 µg et plus préférentiellement

encore entre 1 µg et 250 µg par type de plasmide.

On utilisera de préférence des plasmides nus, simplement placés dans le véhicule de vaccination qui sera en général de l'eau physiologique (NaCl 0,9 %), de l'eau ultrapure, du tampon TE, etc. On peut bien entendu utiliser toutes les formes de

5 vaccin polynucléotidique décrites dans l'art antérieur. Chaque plasmide comprend un promoteur apte à assurer l'expression du gène inséré sous sa dépendance dans les cellules hôtes. Il s'agira en général d'un promoteur eucaryote fort et en particulier d'un promoteur précoce du

10 cytomégalovirus CMV-IE, d'origine humaine ou murine, ou encore éventuellement d'une autre origine telle que rat, cochon, cobaye. De manière plus générale, le promoteur pourra être soit

15 d'origine virale, soit d'origine cellulaire. Comme promoteur viral, on peut citer le promoteur précoce ou tardif du virus SV40 ou le promoteur LTR du virus du Sarcome de Rous. Il peut aussi s'agir d'un promoteur du virus dont provient le gène, par exemple le promoteur propre au gène.

20 Comme promoteur cellulaire, on peut citer le promoteur d'un gène du cytosquelette, tel que par exemple le promoteur de la desmine (Bolmont et al., Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology, 1990, 22, 117-122 ; et ZHENLIN et al., Gene, 1989, 78, 243-254), ou encore le promoteur de l'actine.

25 Lorsque plusieurs gènes sont présents dans le même plasmide, ceux-ci peuvent être présentés dans la même unité de transcription ou dans deux unités différentes.

30 La combinaison des différentes valences du vaccin selon l'invention peut être effectuée, de préférence, par mélange de plasmides polynucléotidiques exprimant le ou les antigène(s) de chaque valence, mais on peut également prévoir de faire exprimer des antigènes de plusieurs valences par un même plasmide.

35 L'invention a encore pour objet des formules de vaccin monovalent comprenant un ou plusieurs plasmides codant pour un ou plusieurs gènes de l'un des virus ci-dessus, les gènes étant ceux décrits plus haut. En dehors de leur caractère monovalent, ces formules peuvent reprendre les caractéristiques énoncées plus haut en ce qui concerne le choix des gènes, leurs

combinaisons, la composition des plasmides, les volumes de dose, les doses, etc.

5 Les formules de vaccin monovalent peuvent aussi être utilisées (i) pour la préparation d'une formule de vaccin polyvalent tel que décrit plus haut, (ii) à titre individuel contre la pathologie propre, (iii) associées à un vaccin d'un autre type (entier vivant ou inactivé, recombinant, sous-unité) contre une autre pathologie ou (iv) comme rappel d'un vaccin comme décrit ci-après.

10 La présente invention a en effet encore pour objet l'utilisation d'un ou de plusieurs plasmides selon l'invention pour la fabrication d'un vaccin destiné à vacciner les chats primo-vaccinés au moyen d'un premier vaccin classique (monovalent ou multi-valent) du type de ceux de l'art
15 antérieur, choisi notamment dans le groupe consistant en vaccin entier vivant, vaccin entier inactivé, vaccin de sous-unité, vaccin recombinant, ce premier vaccin présentant (c'est-à-dire contenant ou pouvant exprimer) le ou les antigène(s) codé(s) par le ou les plasmides ou antigène(s) assurant une protection
20 croisée.

De manière remarquable, le vaccin polynucléotidique a un effet de rappel puissant se traduisant par une amplification de la réponse immunitaire et l'instauration d'une immunité de longue durée.

25 De manière générale, les vaccins de primo-vaccination pourront être choisis parmi les vaccins commerciaux disponibles auprès des différents producteurs de vaccins vétérinaires.

L'invention a aussi pour objet un kit de vaccination regroupant un vaccin de primo-vaccination tel que décrit ci-dessus et une formule de vaccin selon l'invention pour le
30 rappel. Elle a aussi trait à une formule de vaccin selon l'invention accompagnée d'une notice indiquant l'usage de cette formule comme rappel d'une primo-vaccination telle que décrite ci-avant.

35 La présente invention a également pour objet une méthode de vaccination des chats, comprenant l'administration d'une formule de vaccin efficace telle que décrit plus haut. Cette méthode de vaccination comprend l'administration d'une ou de plusieurs doses de formulé de vaccin, ces doses pouvant être

administrées successivement dans un court laps de temps et/ou successivement à des moments éloignés l'un de l'autre.

Les formules de vaccin selon l'invention pourront être administrées, dans le cadre de cette méthode de vaccination, par les différentes voies d'administration proposées dans l'art antérieur pour la vaccination polynucléotidique et au moyen des techniques d'administration connues.

L'invention a encore pour objet la méthode de vaccination consistant à faire une primo-vaccination telle que décrite ci-dessus et un rappel avec une formule de vaccin selon l'invention.

Dans une forme de mise en oeuvre préférée du procédé selon l'invention, on administre dans un premier temps, à l'animal, une dose efficace du vaccin de type classique, notamment inactivé, vivant, atténué ou recombinant, ou encore un vaccin de sous-unité de façon à assurer une primo-vaccination, et, après un délai de préférence de 2 à 6 semaines, on assure l'administration du vaccin polyvalent ou monovalent selon l'invention.

L'efficacité de la présentation des antigènes au système immunitaire varie en fonction des tissus. En particulier, les muqueuses de l'arbre respiratoire servent de barrière à l'entrée des pathogènes et sont associées à des tissus lymphoïdes qui supportent une immunité locale. L'administration d'un vaccin par contact avec les muqueuses, en particulier muqueuses buccale, pharyngée et région bronchique présente un intérêt certain pour la vaccination contre les pathologies respiratoires et digestives.

En conséquence, les voies d'administration mucosales font partie d'un mode d'administration préféré pour l'invention, utilisant notamment la nébulisation ou spray ou l'eau de boisson. Les formules de vaccin et méthodes de vaccination selon l'invention pourront être appliquées dans ce cadre.

L'invention concerne aussi la méthode de préparation des formules de vaccin, à savoir la préparation des valences et leurs mélanges, telle qu'elle ressort de cette description.

L'invention va être maintenant décrite plus en détails à l'aide de modes de réalisation de l'invention pris en référence aux dessins annexés.

Liste des figures

- Figure N° 1 : Plasmide pVR1012
Figure N° 2 : Plasmide pPB179
Figure N° 3 : Séquence du gène env FeLV-B
5 Figure N° 4 : Plasmide pPB180
Figure N° 5 : Séquence gag/pol du virus FeLV-A souche Glasgow-1
Figure N° 6 : Plasmide pPB181
Figure N° 7 : Plasmide pAB009
Figure N° 8 : Plasmide pAB053
10 Figure N° 9 : Plasmide pAB052
Figure N° 10 : Plasmide pAB056
Figure N° 11 : Plasmide pAB028
Figure N° 12 : Plasmide pAB029
Figure N° 13 : Plasmide pAB010
15 Figure N° 14 : Plasmide pAB030
Figure N° 15 : Plasmide pAB083
Figure N° 16 : Plasmide pAB041

Liste des séquences SEQ ID N°

- 20 SEQ ID N° 1 : Oligonucléotide PB247
SEQ ID N° 2 : Oligonucléotide PB249
SEQ ID N° 3 : Oligonucléotide PB281
SEQ ID N° 4 : Oligonucléotide PB282
SEQ ID N° 5 : Séquence du gène env du virus FeLV-B
25 SEQ ID N° 6 : Oligonucléotide PB283
SEQ ID N° 7 : Oligonucléotide PB284
SEQ ID N° 8 : Séquence du gène gag/pol du virus FeLV-A (Glasgow-1)
SEQ ID N° 9 : Oligonucléotide AB021
SEQ ID N° 10 : Oligonucléotide AB024
30 SEQ ID N° 11 : Oligonucléotide AB103
SEQ ID N° 12 : Oligonucléotide AB112
SEQ ID N° 13 : Oligonucléotide AB113

- SEQ ID N° 14 : Oligonucléotide AB104
SEQ ID N° 15 : Oligonucléotide AB101
SEQ ID N° 16 : Oligonucléotide AB102
SEQ ID N° 17 : Oligonucléotide AB106
5 SEQ ID N° 18 : Oligonucléotide AB107
SEQ ID N° 19 : Oligonucléotide AB061
SEQ ID N° 20 : Oligonucléotide AB064
SEQ ID N° 21 : Oligonucléotide AB065
SEQ ID N° 22 : Oligonucléotide AB066
10 SEQ ID N° 23 : Oligonucléotide AB025
SEQ ID N° 24 : Oligonucléotide AB026
SEQ ID N° 25 : Oligonucléotide AB067
SEQ ID N° 26 : Oligonucléotide AB070
SEQ ID N° 27 : Oligonucléotide AB154
15 SEQ ID N° 28 : Oligonucléotide AB155
SEQ ID N° 29 : Oligonucléotide AB011
SEQ ID N° 30 : Oligonucléotide AB012

EXEMPLES

Exemple 1 : Culture des virus

Les virus sont cultivés sur le système cellulaire approprié jusqu'à obtention d'un
5 effet cytopathique. Les systèmes cellulaires à utiliser pour chaque virus sont
bien connus de l'homme du métier. Brièvement, des cellules sensibles au virus
utilisé, cultivées en milieu minimum essentiel de Eagle (milieu "MEM) ou un
autre milieu approprié, sont inoculées avec la souche virale étudiée en utilisant
une multiplicité d'infection de 1. Les cellules infectées sont alors incubées à
10 37°C pendant le temps nécessaire à l'apparition d'un effet cytopathique
complet (en moyenne 36 heures).

Exemple 2 : Extraction des ADNs génomiques viraux:

Après culture, le surnageant et les cellules lysées sont récoltées et la totalité de
15 la suspension virale est centrifugée à 1000 g pendant 10 minutes à + 4°C
pour éliminer les débris cellulaires. Les particules virales sont alors récoltées par
ultracentrifugation à 400000 g pendant 1 heure à + 4°C. Le culot est repris
dans un volume minimum de tampon (Tris 10 mM, EDTA 1 mM). Cette
suspension virale concentrée est traitée par la protéinase K (100 µg/ml final) en
20 présence de sodium dodecyl sulfate (SDS) (0,5% final) pendant 2 heures à
37°C. L'ADN viral est ensuite extrait avec un mélange de phénol/chloroforme,
puis précipité avec 2 volumes d'éthanol absolu. Après une nuit à - 20°C, l'ADN
est centrifugé à 10000 g pendant 15 minutes à + 4°C. Le culot d'ADN est
séché, puis repris dans un volume minimum d'eau ultrapure stérile. Il peut alors
25 être digéré par des enzymes de restriction.

Exemple 3 : Isolement des ARNs génomiques viraux

Les virus à ARN ont été purifiés selon les techniques bien connues de l'homme
du métier. L'ARN viral génomique de chaque virus a été ensuite isolé en
30 utilisant la technique d'extraction "thiocyanate de guanidium/phénol-
chloroforme" décrite par P. Chomczynski et N. Sacchi (Anal. Biochem. 1987.
162. 156-159).

Exemple 4 : Techniques de biologie moléculaire

Toutes les constructions de plasmides ont été réalisées en utilisant les techniques standards de biologie moléculaire décrites par J. Sambrook *et al.* (*Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd Edition, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York, 1989). Tous les fragments de restriction utilisés pour la présente invention ont été isolés en utilisant le kit "GeneClean" (BIO101 Inc. La Jolla, CA).

Exemple 5 : Technique de RT-PCR

Des oligonucléotides spécifiques (comportant à leurs extrémités 5' des sites de restriction pour faciliter le clonage des fragments amplifiés) ont été synthétisés de telle façon qu'ils couvrent entièrement les régions codantes des gènes devant être amplifiés (voir exemples spécifiques). La réaction de transcription inverse (RT) et l'amplification en chaîne par polymérase (PCR) ont été effectuées selon les techniques standards (Sambrook J. *et al.* 1989). Chaque réaction de RT-PCR a été faite avec un couple d'amplimers spécifiques et en prenant comme matrice l'ARN génomique viral extrait. L'ADN complémentaire amplifié a été extrait au phénol/chloroforme/alcool isoamylique (25:24:1) avant d'être digéré par les enzymes de restriction.

Exemple 6 : plasmide pVR1012

Le plasmide pVR1012 (Figure N° 1) a été obtenu auprès de Vical Inc. San Diego, CA, USA. Sa construction a été décrite dans J. Hartikka *et al.* (Human Gene Therapy, 1996, 7, 1205-1217).

Exemple 7 : Construction du plasmide pPB179 (gène env virus FeLV-A)

Une réaction de RT-PCR selon la technique de l'exemple 5 a été réalisée avec l'ARN génomique du virus de la leucémie féline (FeLV-A) (Souche Glasgow-1) (M. Stewart *et al.* J. Virol. 1986, 58, 825-834), préparé selon la technique de

l'exemple 3, et avec les oligonucléotides suivants:

PB247 (29 mer) (SEQ ID N° 1)

5'TTTGTCGACCATGGAAAGTCCAACGCACC 3'

PB249 (28 mer) (SEQ ID N° 2)

5'TTTGGATCCTCATGGTCGGTCCGGATCG 3'

pour amplifier un fragment de 1947 pb contenant le gène codant pour la glycoprotéine Env du virus FeLV-A (souche Glasgow-1) sous la forme d'un
5 fragment *Sall*-*Bam*HI. Après purification, le produit de RT-PCR a été digéré par *Sall* et *Bam*HI pour donner un fragment *Sall*-*Bam*HI de 1935 pb.

Ce fragment a été ligaturé avec le vecteur pVR1012 (exemple 6), préalablement digéré avec *Sall* et *Bam*HI, pour donner le plasmide pPB179 (6804 pb) (Figure N° 2).

10

Exemple 8 : Construction du plasmide pPB180 (gène env virus FeLV-B)

Une réaction de RT-PCR selon la technique de l'exemple 5 a été réalisée avec l'ARN génomique du virus de la leucémie féline (sous-type FeLV-B), préparé selon la technique de l'exemple 3, et avec les oligonucléotides suivants:

15 PB281 (29 mer) (SEQ ID N° 3)

5'TTTGTCGACATGGAAGGTCCAACGCACCC 3'

PB282 (32 mer) (SEQ ID N° 4)

5'TTGGATCCTCATGGTCGGTCCGGATCATATTG 3'

pour amplifier un fragment de 2005 pb contenant le gène codant pour la
20 glycoprotéine Env du virus FeLV-B (Figure N° 3 et SEQ ID N° 5) sous la forme d'un fragment *Sall*-*Bam*HI. Après purification, le produit de RT-PCR a été digéré par *Sall* et *Bam*HI pour donner un fragment *Sall*-*Bam*HI de 1995 pb.

Ce fragment a été ligaturé avec le vecteur pVR1012 (exemple 6), préalablement digéré avec *Sall* et *Bam*HI, pour donner le plasmide pPB180 (6863 pb) (Figure
25 N° 4).

Exemple 9 : Construction du plasmide pPB181 (gène FeLV gag/pol)

Une réaction de RT-PCR selon la technique de l'exemple 5 a été réalisée avec l'ARN génomique du virus de la leucémie féline (sous-type FeLV-A) (Souche
30 Glasgow-1), préparé selon la technique de l'exemple 3, et avec les oligonucléotides suivants:

PB283 (33 mer) (SEQ ID N° 6)

5'TTGTGACATGTCTGGAGCCTCTAGTGGGACAG 3'

PB284 (42 mer) (SEQ ID N° 7)

5'TTGGATCCTTATTTAATTACTGCAGTTCCAAGGAACTCTC 3'

pour amplifier un fragment de 3049 pb contenant la séquence codant pour la
 5 protéine Gag et la partie 5' de la séquence codant pour la protéine Pol du virus
 FeLV-A (souche Glasgow-1) (Figure N° 5 et SEQ ID N° 8) sous la forme d'un
 fragment *Sall*-*Bam*HI. Après purification, le produit de RT-PCR a été digéré par
Sall et *Bam*HI pour donner un fragment *Sall*-*Bam*HI de 3039 pb.
 Ce fragment a été ligaturé avec le vecteur pVR1012 (exemple 6), préalablement
 10 digéré avec *Sall* et *Bam*HI, pour donner le plasmide pPB181 (7908 pb) (Figure
 N° 6).

Exemple 10 : Construction du plasmide pAB009 (gène FPV VP2)

Une réaction de PCR a été réalisée avec l'ADN génomique du virus de la
 15 panleucopénie féline (Souche 193) (J. Martyn *et al.* J. Gen. Virol. 1990. 71.
 2747-2753), préparé selon la technique de l'exemple 2, et avec les
 oligonucléotides suivants:

AB021 (34 mer) (SEQ ID N° 9)

5'TGCTCTAGAGCAATGAGTGATGGAGCAGTTCAAC 3'

20 AB024 (33 mer) (SEQ ID N° 10)

5'CGCGGATCCATTAATATAATTTTCTAGGTGCTA 3'

pour amplifier un fragment de 1776 pb contenant le gène codant pour la
 protéine de capsid VP2 du FPV. Après purification, le produit de PCR a été
 digéré par *Xba*I et *Bam*HI pour donner un fragment *Xba*I-*Bam*HI de 1764 pb.
 25 Ce fragment a été ligaturé avec le vecteur pVR1012 (exemple 6), préalablement
 digéré avec *Xba*I et *Bam*HI, pour donner le plasmide pAB009 (6664 pb) (Figure
 N° 7).

Exemple 11 : Construction du plasmide pAB053 (gène FIPV S*)

30 Une réaction de RT-PCR selon la technique de l'exemple 5 a été réalisée avec
 l'ARN génomique du virus de la péritonite infectieuse féline (PIF) (Souche 79-
 1146) (R. de Groot *et al.* J. Gen. Virol. 1987. 68. 2639-2646), préparé selon

la technique de l'exemple 3, et avec les oligonucléotides suivants:

AB103 (38 mer) (SEQ ID N° 11)

5'ATAAGAATGCGGCCGCATGATTGTGCTCGTAACTTGCC 3'

AB112 (25 mer) (SEQ ID N° 12)

5 5'CGTACATGTGGAATTCCACTGGTTG 3'

pour amplifier la séquence de la partie 5' du gène codant pour la glycoprotéine S du virus sous la forme d'un fragment NotI-EcoRI. Après purification, le produit de RT-PCR de 492 pb a été digéré par *NotI* et *EcoRI* pour libérer un fragment NotI-EcoRI de 467 pb (fragment A).

10 Le plasmide pJCA089 (Demande de brevet PCT/FR95/01128) a été digéré par *EcoRI* et *SpeI* pour libérer un fragment de 3378 pb contenant la partie centrale du gène codant pour la glycoprotéine S modifiée du virus de la PIF (fragment B).

Une réaction de RT-PCR selon la technique de l'exemple 5 a été réalisée avec

15 l'ARN génomique du virus de la PIF (Souche 79-1146), préparé selon la technique de l'exemple 3, et avec les oligonucléotides suivants:

AB113 (25 mer) (SEQ ID N° 13)

5'AGAGTTGCAACTAGTTCTGATTTTG 3'

AB104 (37 mer) (SEQ ID N° 14)

20 5'ATAAGAATGCGGCCGCTTAGTGGACATGCACTTTTTC 3'

pour amplifier la séquence de la partie 3' du gène codant pour la glycoprotéine S du virus de la PIF sous la forme d'un fragment *SpeI*-*NotI*. Après purification, le produit de RT-PCR de 543 pb a été digéré par *SpeI* et *NotI* pour libérer un fragment *SpeI*-*NotI* de 519 pb (fragment C).

25 Les fragments A, B et C ont ensuite été ligaturés ensemble dans le vecteur pVR1012 (exemple 6), préalablement digéré par *NotI*, pour donner le plasmide pAB053 (9282 pb), qui contient le gène S modifié dans la bonne orientation par rapport au promoteur (Figure N° 8).

30 Exemple 12 : Construction du plasmide pAB052 (gène FIPV M)

Une réaction de RT-PCR selon la technique de l'exemple 5 a été réalisée avec l'ARN génomique du virus de la péritonite infectieuse féline (PIF) (Souche 79-

1146) (H. Vennema *et al.* Virology. 1991. 181. 327-335), préparé selon la technique de l'exemple 3, et avec les oligonucléotides suivants:

AB101 (37 mer) (SEQ ID N° 15)

5'ACGCGTCGACCCACCATGAAGTACATTTTGCTAATAC 3'

5 AB102 (36 mer) (SEQ ID N° 16)

5'CGCGGATCCTTACACCATATGTAATAATTTTTCATG 3'

en vue d'isoler précisément le gène codant pour la glycoprotéine M du virus de la PIF sous la forme d'un fragment *Sall*-*Bam*HI. Après purification, le produit de RT-PCR de 812 pb a été digéré par *Sall* et *Bam*HI pour libérer un fragment *Sall*-

10 *Bam*HI de 799 pb. Ce fragment a ensuite été ligaturé dans le vecteur pVR1012 (exemple 6), préalablement digéré par *Sa*I et *Bam*HI, pour donner le plasmide pAB052 (5668 pb) (Figure N° 9).

Exemple 13 : Construction du plasmide pAB056 (gène FIPV N)

15 Une réaction de RT-PCR selon la technique de l'exemple 5 a été réalisée avec l'ARN génomique du virus de la péritonite infectieuse féline (PIF) (Souche 79-1146) (H. Vennema *et al.* Virology. 1991. 181. 327-335), préparé selon la technique de l'exemple 3, et avec les oligonucléotides suivants:

AB106 (35 mer) (SEQ ID N° 17)

20 5'ACGCGTCGACGCCATGGCCACACAGGGACAACGCG 3'

AB107 (36 mer) (SEQ ID N° 18)

5'CGCGGATCCTTAGTTCGTAACCTCATCAATCATCTC 3'

en vue d'isoler précisément le gène codant pour la protéine N du virus de la PIF sous la forme d'un fragment *Sall*-*Bam*HI. Après purification, le produit de RT-

25 PCR de 1156 pb a été digéré par *Sa*I et *Bam*HI pour libérer un fragment *Sall*-*Bam*HI de 1143 pb. Ce fragment a ensuite été ligaturé dans le vecteur pVR1012 (exemple 6), préalablement digéré par *Sa*I et *Bam*HI, pour donner le plasmide pAB056 (6011 pb) (Figure N° 10).

30 Exemple 14 : Construction du plasmide pAB028 (gène FHV gB)

Une réaction de PCR a été réalisée avec l'ADN génomique de l'herpèsvirus félin (FHV-1) (Souche C27) (S. Spatz *et al.* Virology. 1993. 197. 125-36), préparé

selon la technique de l'exemple 2, et avec les oligonucléotides suivants:

AB061 (36 mer) (SEQ ID N° 19)

5'AAAACTGCAGAATCATGTCCACTCGTGGCGATCTTG 3'

AB064 (40 mer) (SEQ ID N° 20)

5 5'ATAAGAATGCGGCCGCTTAGACAAGATTTGTTTCAGTATC 3'

pour amplifier un fragment de 2856 pb contenant le gène codant pour la glycoprotéine gB du virus FHV-1 sous la forme d'un fragment *Pst*I-*Not*I. Après purification, le produit de PCR a été digéré par *Pst*I et *Not*I pour donner un fragment *Pst*I-*Not*I de 2823 pb.

- 10 Ce fragment a été ligaturé avec le vecteur pVR1012 (exemple 6), préalablement digéré avec *Pst*I et *Not*I, pour donner le plasmide pAB028 (7720 pb) (Figure N° 11).

Exemple 15 : Construction du plasmide pAB029 (gène FHV gD)

- 15 Une réaction de PCR a été réalisée avec l'ADN génomique de l'herpèsvirus félin (FHV-1) (Souche C-27) (S. Spatz *et al.* J. Gen. Virol. 1994. 75. 1235-1244), préparé selon la technique de l'exemple 2, et avec les oligonucléotides suivants:

AB065 (36 mer) (SEQ ID N° 21)

5'AAAACTGCAGCCAATGATGACACGTCTACATTTTGG 3'

- 20 AB066 (33 mer) (SEQ ID N° 22)

5'GGAAGATCTTTAAGGATGGTGAGTTGTATGTAT 3'

pour amplifier le gène codant pour la glycoprotéine gD du virus FHV-1 sous la forme d'un fragment *Pst*I-*Bgl*II. Après purification, le produit PCR de 1147 pb a été digéré par *Pst*I et *Bgl*II pour isoler un fragment *Pst*I-*Bgl*II de 1129 pb. Ce

- 25 fragment a été ligaturé avec le vecteur pVR1012 (exemple 6), préalablement digéré avec *Pst*I et *Bgl*II, pour donner le plasmide pAB029 (5982 pb) (Figure N° 12).

Exemple 16 : Construction du plasmide pAB010 (gène FCV C)

- 30 Une réaction de RT-PCR selon la technique de l'exemple 5 a été réalisée avec l'ARN génomique du calicivirus félin (FCV) (Souche F9) (M. Carter *et al.* Virology. 1992. 190. 443-448), préparé selon la technique de l'exemple 3, et

avec les oligonucléotides suivants:

AB025 (33 mer) (SEQ ID N° 23)

5'ACGCGTCGACGCATGTGCTCAACCTGCGCTAAC 3'

AB026 (31 mer) (SEQ ID N° 24)

5 5'CGCGGATCCTCATAACTTAGTCATGGGACTC 3'

pour isoler le gène codant pour la protéine de capsid du virus FCV sous la forme d'un fragment *Sall*-*Bam*HI. Après purification, le produit de RT-PCR de 2042 pb a été digéré par *Sa*I et *Bam*HI pour isoler un fragment *Sall*-*Bam*HI de 2029 pb. Ce fragment a été ligaturé avec le vecteur pVR1012 (exemple 6),
10 préalablement digéré avec *Sa*I et *Bam*HI, pour donner le plasmide pAB010 (6892 pb) (Figure N° 13).

Exemple 17 : Construction du plasmide pAB030 (gène FIV env)

Une réaction de RT-PCR selon la technique de l'exemple 5 a été réalisée avec
15 l'ARN génomique du virus de l'immunodéficience féline (FIV) (Souche Petaluma) (R. Olmsted *et al.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1989. 86. 8088-8096.), préparé selon la technique de l'exemple 3, et avec les oligonucléotides suivants:

AB067 (36 mer) (SEQ ID N° 25)

5'AAACTGCAGAAGGAATGGCAGAAGGATTTGCAGCC 3'

20 AB070 (36 mer) (SEQ ID N° 26)

5'CGCGGATCCTCATTCTCTCTTTTCAGACATGCC 3'

pour amplifier un fragment de 2592 pb contenant le gène codant pour la glycoprotéine Env du virus FIV (souche Petaluma) sous la forme d'un fragment *Pst*I-*Bam*HI. Après purification, le produit de RT-PCR a été digéré par *Pst*I et
25 *Bam*HI pour donner un fragment *Pst*I-*Bam*HI de 2575 pb.

Ce fragment a été ligaturé avec le vecteur pVR1012 (exemple 6), préalablement digéré avec *Pst*I et *Bam*HI, pour donner le plasmide pAB030 (7436 pb) (Figure N° 14).

30 Exemple 18 : Construction du plasmide pAB083 (gène FIV gag/pro)

Une réaction de RT-PCR selon la technique de l'exemple 5 a été réalisée avec l'ARN génomique du virus de l'immunodéficience féline (FIV) (Souche Petaluma)

(R. Olmsted *et al.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1989. 86. 8088-8096.), préparé selon la technique de l'exemple 3, et avec les oligonucléotides suivants:

AB154 (32 mer) (SEQ ID N° 27)

5'ACGCGTCGACATGGGGAATGGACAGGGGCGAG 3'

5 AB155 (33 mer) (SEQ ID N° 28)

5'TGAAGATCTTCACTCATCCCCTTCAGGAAGAGC 3'

pour amplifier un fragment de 4635 pb contenant le gène codant pour les protéines Gag et Pro du virus FIV (souche Petaluma) sous la forme d'un fragment Sall-BglII. Après purification, le produit de RT-PCR a été digéré par Sall/

10 et BglII pour donner un fragment Sall-BglII de 4622 pb.

Ce fragment a été ligaturé avec le vecteur pVR1012 (exemple 6), préalablement digéré avec Sall et BglII, pour donner le plasmide pAB083 (7436 pb) (Figure N° 15).

15 **Exemple 19 : Construction du plasmide pAB041 (gène G du virus de la rage)**

Une réaction RT-PCR selon la technique de l'exemple 5 a été réalisée avec l'ARN génomique du virus de la rage (Souche ERA) (A. Anilionis *et al.* Nature. 1981. 294. 275-278), préparé selon la technique de l'exemple 3, et avec les oligonucléotides suivants:

20 AB011 (33 mer) (SEQ ID N° 29)

5'AAAACTGCAGAGATGGTTCCTCAGGCTCTCCTG 3'

AB012 (34 mer) (SEQ ID N° 30)

5'CGCGGATCCTCACAGTCTGGTCTCACCCCCACTC 3'

pour amplifier un fragment de 1589 pb contenant le gène codant pour la glycoprotéine G du virus de la rage. Après purification, le produit de RT-PCR a

25 été digéré par PstI et BamHI pour donner un fragment PstI-BamHI de 1578 pb. Ce fragment a été ligaturé avec le vecteur pVR1012 (exemple 6), préalablement digéré avec PstI et BamHI, pour donner le plasmide pAB041 (6437 pb) (Figure N° 16).

30

Exemple 20 : Production et purification des plasmides

Pour la préparation des plasmides destinés à la vaccination des animaux, on

peut utiliser toute technique permettant d'obtenir une suspension de plasmides purifiés majoritairement sous forme superenroulée. Ces techniques sont bien connues de l'homme de l'art. On peut citer en particulier la technique de lyse alcaline suivie de deux ultracentrifugations successives sur gradient de chlorure de césium en présence de bromure d'éthidium telle que décrite dans J. Sambrook *et al.* (*Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd Edition, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York, 1989). On peut se référer également aux demandes de brevet PCT WO 95/21250 et PCT WC 96/02658 qui décrivent des méthodes pour produire à l'échelle industrielle des plasmides utilisables pour la vaccination. Pour les besoins de la fabrication des vaccins (voir exemple 17), les plasmides purifiés sont resuspendus de manière à obtenir des solutions à haute concentration (> 2 mg/ml) compatibles avec le stockage. Pour ce faire, les plasmides sont resuspendus soit en eau ultrapure, soit en tampon TE (Tris-HCl 10 mM; EDTA 1 mM, pH 8,0).

15

Exemple 21 : Fabrication des vaccins associés

Les divers plasmides nécessaires à la fabrication d'un vaccin associé sont mélangés à partir de leurs solutions concentrées (exemple 16). Les mélanges sont réalisés de telle manière que la concentration finale de chaque plasmide corresponde à la dose efficace de chaque plasmide. Les solutions utilisables pour ajuster la concentration finale du vaccin peuvent être soit une solution NaCl à 0,9 % , soit du tampon PBS.

20

Des formulations particulières telles que les liposomes, les lipides cationiques, peuvent aussi être mises en oeuvre pour la fabrication des vaccins.

25

Exemple 22 : Vaccination des chats

Les chats sont vaccinés avec des doses de 10 µg, 50 µg ou 250 µg par plasmide.

Les injections sont réalisées à l'aiguille par voie intramusculaire. Dans ce cas, les doses vaccinales sont administrées sous un volume de 1 ml.

30

Les injections peuvent aussi être réalisées à l'aiguille par voie intradermique. Dans ce cas, les doses vaccinales sont administrées sous un volume total de

1 ml administré en 10 points de 0,1 ml ou en 20 points de 0,05 ml. Les administrations intradermiques sont réalisées après avoir rasé la peau (flanc thoracique en général) ou bien au niveau d'une région anatomique relativement glabre, par exemple la face interne de la cuisse.

- 5 On peut aussi utiliser un appareil d'injection à jet liquide (sans aiguille) pour les injections intradermiques.

REVENDICATIONS

1. Formule de vaccin destiné au chat comprenant au moins trois valences de vaccin polynucléotidique comprenant chacune un plasmide intégrant, de manière à l'exprimer in vivo dans les cellules hôtes, un gène d'une valence de pathogène félin, ces valences étant choisies parmi le groupe consistant en virus de la leucémie féline, virus de la panleucopénie, virus de la péritonite infectieuse, virus du coryza, virus de la calicivirose, virus de l'immunodéficience féline et éventuellement virus de la rage, les plasmides comprenant, pour chaque valence, un ou plusieurs des gènes choisis parmi le groupe consistant en env et gag pour la leucémie féline, VP2 pour la panleucopénie, S modifié et M pour la péritonite infectieuse, gB et gD pour le coryza, capside pour la calicivirose, env et gag/pro pour l'immunodéficience féline et G pour la rage.

2. Formule de vaccin selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'il comporte les valences panleucopénie, coryza et calicivirose.

3. Formule de vaccin selon la revendication 1 ou 2, caractérisée en ce qu'elle comprend les gènes gB et gD du virus coryza, dans le même plasmide ou dans des plasmides différents, ou un seul de ces gènes.

4. Formule selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle comprend les gènes env et gag du virus de la leucémie féline, dans le même plasmide ou dans des plasmides différents, ou le gène env seul.

5. Formule de vaccin selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle comprend les deux gènes env et gag/pro dans des plasmides différents ou dans le même plasmide, ou un seul de ces gènes.

6. Formule de vaccin selon la revendication 1 ou 2, caractérisée en ce qu'elle comprend le gène M ou le gène S modifié dans un plasmide ou l'ensemble des gènes codant pour M et S modifié dans le même plasmide ou dans des plasmides différents.

7. Formule de vaccin selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisée en ce qu'elle comprend de 10

ng à 1 mg, de préférence de 100 ng à 500 µg, plus préférentiellement encore de 1 µg à 250 µg de chaque plasmide.

8. Utilisation d'un ou de plusieurs plasmides tels que décrits dans l'une quelconque des revendications 1 à 7, pour la fabrication d'un vaccin destiné à vacciner les chats primo-vaccinés au moyen d'un premier vaccin choisi dans le groupe consistant en vaccin entier vivant, vaccin entier inactivé, vaccin de sous-unité, vaccin recombinant, ce premier vaccin présentant le ou les antigènes codés par le ou les plasmides ou antigènes assurant une protection croisée.

9. Kit de vaccination pour chat regroupant une formule de vaccin selon l'une quelconque des revendications 1 à 8 et un vaccin pour chat choisi dans le groupe consistant en vaccin entier vivant, vaccin entier inactivé, vaccin de sous-unité, vaccin recombinant, ce premier vaccin présentant l'antigène codé par le vaccin polynucléotidique ou un antigène assurant une protection croisée, pour une administration de ce dernier en primo-vaccination et pour un rappel avec la formule de vaccin.

10. Formule de vaccin selon l'une quelconque des revendications 1 à 8, accompagnée d'une notice indiquant que cette formule est utilisable en rappel d'un premier vaccin pour chat choisi dans le groupe consistant en vaccin entier vivant, vaccin entier inactivé, vaccin de sous-unité, vaccin recombinant, ce premier vaccin présentant l'antigène codé par le vaccin polynucléotidique ou un antigène assurant une protection croisée.

1/19

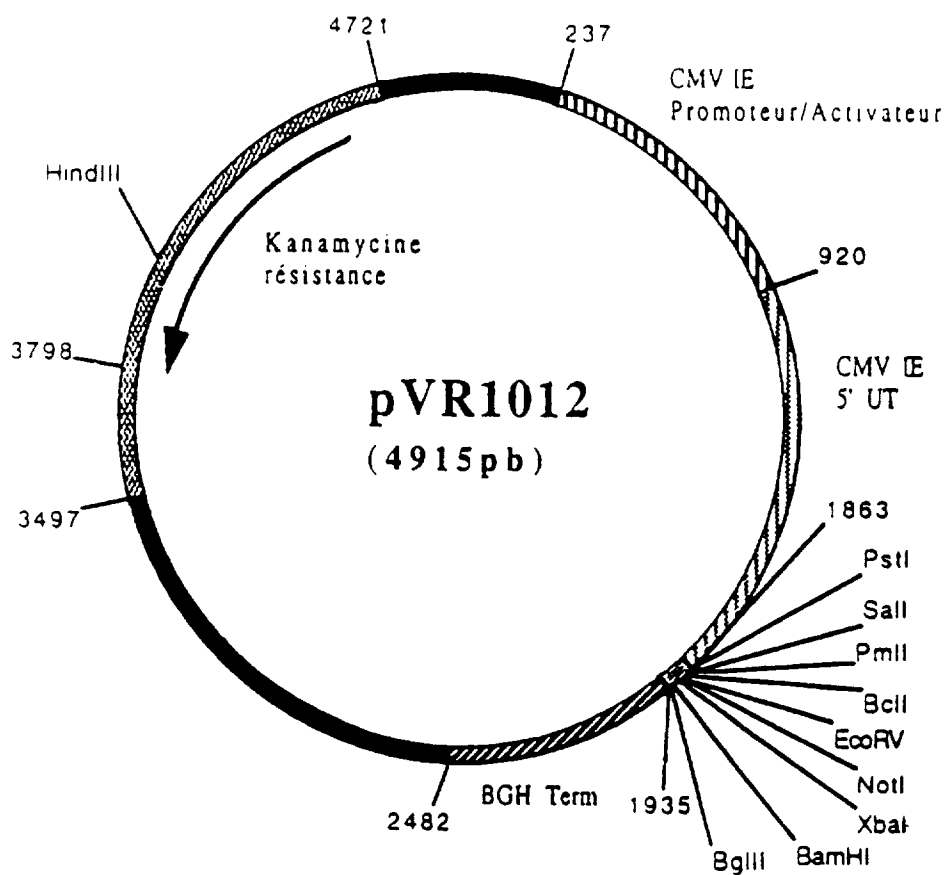


Figure N° 1

2/19

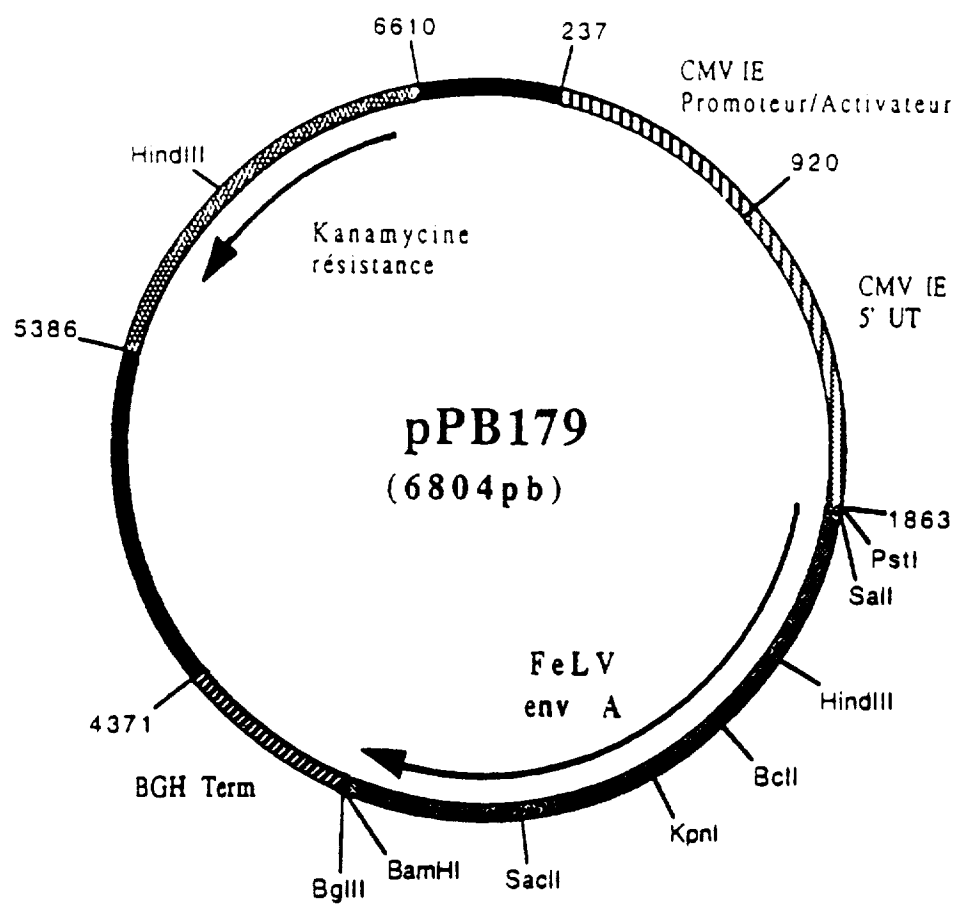


Figure N° 2

3/19

1 ATGGAAGGTCCAACGCACCCAAAACCCCTCTAAAGATAAGACTTTCTCGTGGGACCTAATGATT
1▶ MetGluGlyProThrHisProLysProSerLysAspLysThrPheSerTrpAspLeuMetIle

64 CTGCTGGGGGTCTTACTAAGACTGGACGTGGGAATGGCCAATCCTAGTCCGCACCAAATATAT
22▶ LeuValGlyValLeuLeuArgLeuAspValGlyMetAlaAsnProSerProHisGlnIleTyr

127 AATGTAACCTTGGACAATAACCAACCTTGTAACCTGGAACAAAGGCTAATGCCACCTCCATGTTG
43▶ AsnValThrTrpThrIleThrAsnLeuValThrGlyThrLysAlaAsnAlaThrSerMetLeu

190 GGAACCCTGACAGACGCCTTCCCTACCATGTATTTTGAAGTATGTGATATAATAGGAAATACA
64▶ GlyThrLeuThrAspAlaPheProThrMetTyrPheAspLeuCysAspIleIleGlyAsnThr

253 TGAACCCCTTCAGATCAAGAACCATTCCCAGGGTATGGATGTGATCAGCCTATGAGGAGGTGG
85▶ TrpAsnProSerAspGlnGluProPheProGlyTyrGlyCysAspGlnProMetArgArgTrp

316 CGACAGAGAAACACACCCCTTTTATGTCTGTCCAGGACATGCCAACCGGAAGCAATGTGGGGGG
106▶ ArgGlnArgAsnThrProPheTyrValCysProGlyHisAlaAsnArgLysGlnCysGlyGly

379 CCACAGGATGGGTTCTGCGCTGTATGGGGTTGCGAGACCACCGGGGAAACCTATTGGAGACCC
127▶ ProGlnAspGlyPheCysAlaValTrpGlyCysGluThrThrGlyGluThrTyrTrpArgPro

442 ACCTCCTCATGGGACTACATCACAGTAAAAAAGGGGTTACTCAGGGAATATATCAATGTAGT
148▶ ThrSerSerTrpAspTyrIleThrValLysLysGlyValThrGlnGlyIleTyrGlnCysSer

505 GGAGGTGGTTGGTGTGGGCCCTGTTACGATAAAGCTGTTCACTCCTCGACAACGGGAGCTAGT
169▶ GlyGlyGlyTrpCysGlyProCysTyrAspLysAlaValHisSerSerThrThrGlyAlaSer

568 GAAGGGGGCCGGTGCAACCCCTTGATCTTGCAATTTACCCAAAAGGGAAGACAAACATCTTGG
190▶ GluGlyGlyArgCysAsnProLeuIleLeuGlnPheThrGlnLysGlyArgGlnThrSerTrp

631 GATGGACCTAAGTCATGGGGGCTACGACTATACCGTTCAGGATATGACCCTATAGCCCTGTTC
211▶ AspGlyProLysSerTrpGlyLeuArgLeuTyrArgSerGlyTyrAspProIleAlaLeuPhe

694 TCGGTATCCCGGCAAGTAATGACCATTACGCCGCCTCAGGCCATGGGACCAAATCTAGTCCTG
232▶ SerValSerArgGlnValMetThrIleThrProProGlnAlaMetGlyProAsnLeuValLeu

757 CCTGATCAAAAACCCCATCCAGGCAATCTCAAATAGAGTCCCGAGTAACACCTCACCATTCC
253▶ ProAspGlnLysProProSerArgGlnSerGlnIleGluSerArgValThrProHisHisSer

820 CAAGGCAACGGAGGCACCCCAAGGTGTAACCTTGTTAATGCCTCCATTGCCCTCTACGTACC
274▶ GlnGlyAsnGlyGlyThrProGlyValThrLeuValAsnAlaSerIleAlaProLeuArgThr

883 CCTGTCACCCCGCAAGTCCCAAACGTATAGGGACCGGAAATAGGTTAATAAATTTAGTGCAA
295▶ ProValThrProAlaSerProLysArgIleGlyThrGlyAsnArgLeuIleAsnLeuValGln

946 GGGACATACCTAGCCTTAAATGCCACCGACCCCAACAAACTAAAGACTGTTGGCTCTGCCTG
316▶ GlyThrTyrLeuAlaLeuAsnAlaThrAspProAsnLysThrLysAspCysTrpLeuCysLeu

1009 GTTCTCGACCACCTTATTACGAAGGGATTGCAATCTTAGGTAACACAGCAACCAACAAAC
337▶ ValSerArgProProTyrTyrGluGlyIleAlaIleLeuGlyAsnTyrSerAsnGlnThrAsn

1072 CCCTCCCCATCCTGCCTATCTACTCCGCAACATAAGCTAACTATATCTGAGGTGTCAGGGCAA
358▶ ProSerProSerCysLeuSerThrProGlnHisLysLeuThrIleSerGluValSerGlyGln

1135 GGACTGTGCATAGGGACTGTTCTAAGACCCACCAGGCTTTGTGCAATAAGACACAACAGGGA
379▶ GlyLeuCysIleGlyThrValProLysThrHisGlnAlaLeuCysAsnLysThrGlnGlnGly

1198 CATACAGGGGCTCACTATCTAGCCGCCCCCAATGGCACCTATTGGGCCTGTAACACTGGACTC
400▶ HisThrGlyAlaHisTyrLeuAlaAlaProAsnGlyThrTyrTrpAlaCysAsnThrGlyLeu

Figure N° 3

4/19

1261 ACCCCATGCATTTCATGGCAGTGCTCAATTGGACCTCTGATTTTTGTGTCTTAATCGAATTA
421▶ ThrProCysIleSerMetAlaValLeuAsnTrpThrSerAspPheCysValLeuIleGluLeu

1324 TGGCCCAGAGTGACCTACCATCAACCCGAATACATTTACACACATTTTCGACAAAGCTGTCAGG
442▶ TrpProArgValThrTyrHisGlnProGluTyrIleTyrThrHisPheAspLysAlaValArg

1387 TTCCGAAGAGAACCAATATCACTAACCCTTGCCCTTATAATGGGAGGACTCACTGTAGGGGGC
463▶ PheArgArgGluProIleSerLeuThrValAlaLeuIleMetGlyGlyLeuThrValGlyGly

1450 ATAGCCGCGGGGGTCGGAACAGGGACTAAAGCCCTCCTTGAAACAGCCCAGTTCAGACAACCTA
484▶ IleAlaAlaGlyValGlyThrGlyThrLysAlaLeuLeuGluThrAlaGlnPheArgGlnLeu

1513 CAAATGGCTATGCACGCAGACATCCAGGCCCTAGAAGAGTCAATTAGTGCCTTAGAAAAATCC
505▶ GlnMetAlaMetHisAlaAspIleGlnAlaLeuGluGluSerIleSerAlaLeuGluLysSer

1576 CTGACCTCCCTCTCCGAGGTAGTCTTACAAAATAGACGGGGCCTAGATATTCTGTTCTTACAA
526▶ LeuThrSerLeuSerGluValValLeuGlnAsnArgArgGlyLeuAspIleLeuPheLeuGln

1639 AAGGGAGGGCTCTGTGCCGCCCTTAAAGGAAGAATGCTGCTTCTATGCAGATCACACCGGACTC
547▶ LysGlyGlyLeuCysAlaAlaLeuLysGluGluCysCysPheTyrAlaAspHisThrGlyLeu

1702 GTCAGAGACAATATGGCTAAATTAAGAGAAAGACTGAAACAGCGACAACAACCTGTTTGACTCC
568▶ ValArgAspAsnMetAlaLysLeuArgGluArgLeuLysGlnArgGlnGlnLeuPheAspSer

1765 CAACAGGGATGGTTTGAAGGATGGTTCAACAAGTCCCCCTGGTTTACAACCCTAATTTCTCTCC
589▶ GlnGlnGlyTrpPheGluGlyTrpPheAsnLysSerProTrpPheThrThrLeuIleSerSer

1828 ATTATAGGCCCTTACTAATCCTACTCCTAATTCTCCTCTTCGGCCCATGCATCCTTAACCGA
610▶ IleIleGlyProLeuLeuIleLeuLeuLeuIleLeuLeuPheGlyProCysIleLeuAsnArg

1891 TTAGTGCAATTCGTAAAAGACAGAATATCTGTGGTACAAGCCTTAATTTTAACCCAACAGTAC
631▶ LeuValGlnPheValLysAspArgIleSerValValGlnAlaLeuIleLeuThrGlnGlnTyr

1954 CAACAGATACAGCAATATGATCCGGACCGACCATGA
652▶ GlnGlnIleGlnGlnTyrAspProAspArgPro...

Figure N° 3 (suite et fin)

5/19

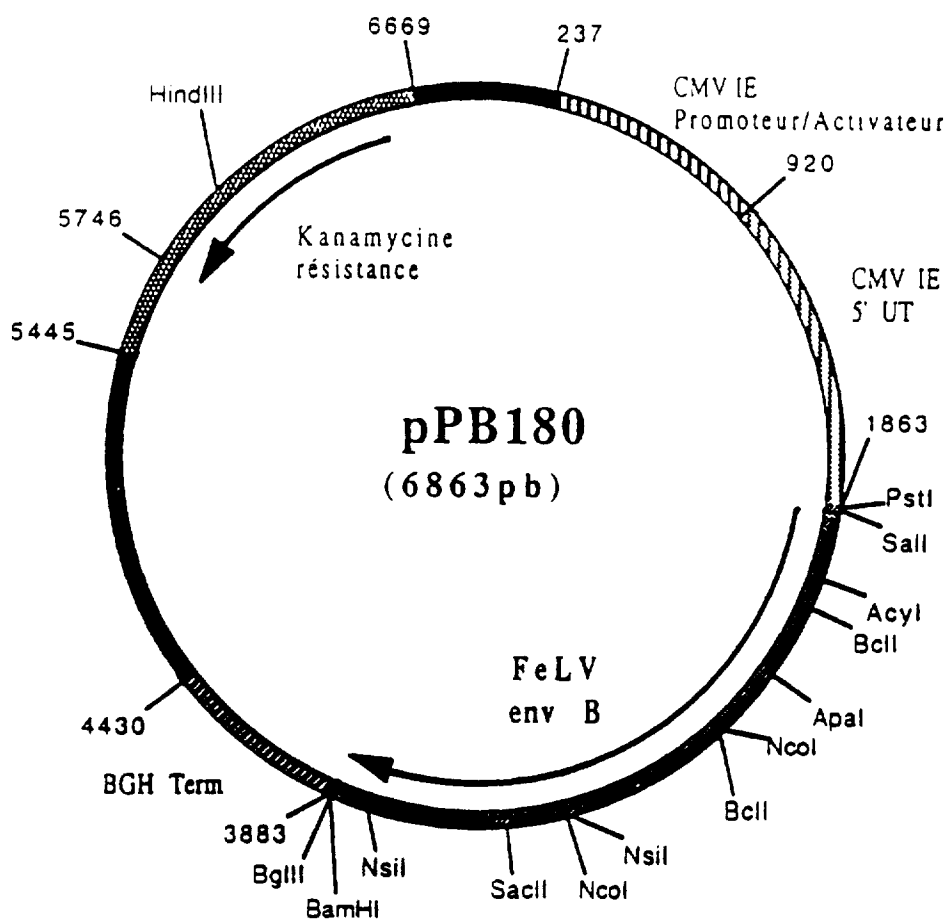


Figure N° 4

6/19

1 ATGTCTGGAGCCTCTAGTGGGACAGCCATTGGGGCTCATCTGTTTGGGGTCTCACCTGAATAC
1▶ MetSerGlyAlaSerSerGlyThrAlaIleGlyAlaHisLeuPheGlyValSerProGluTyr

64 ACGGTGTTGATCGGAGACGAGGGAGCCGACCCTCAAGGTCTCTTTCTGAGGTTTCATTTTCG
22▶ ArgValLeuIleGlyAspGluGlyAlaGlyProSerArgSerLeuSerGluValSerPheSer

127 GTTTGGTACCAAAGACGCGCGGCACGTCTTGTCTATTTTTGTCTGGTTGCGTCTTTTCTTGTC
43▶ ValTrpTyrGlnArgArgAlaAlaArgLeuValIlePheCysLeuValAlaSerPheLeuVal

190 CCTTGTCTAACCTTTTTTAATTGCAGAAACCGTCATGGGCCAAACTATAACTACCCCCCTTAAGC
64▶ ProCysLeuThrPheLeuIleAlaGluThrValMetGlyGlnThrIleThrThrProLeuSer

253 CTCACCCTTGATCACTGGTCTGAAGTCCGGGCACGAGCCCATAATCAAGGTGTGAGGTCCGG
85▶ LeuThrLeuAspHisTrpSerGluValArgAlaArgAlaHisAsnGlnGlyValGluValArg

316 AAAAAGAAATGGATTACCTTATGTGAGGCCGAATGGGTGATGATGAATGTGGGCTGGCCCCGA
106▶ LysLysLysTrpIleThrLeuCysGluAlaGluTrpValMetMetAsnValGlyTrpProArg

379 GAAGGAACCTTTTTCTCTTGATAGCATTTCAGGTTGAAAAGAAGATCTTCGCCCCGGGACCA
127▶ GluGlyThrPheSerLeuAspSerIleSerGlnValGluLysLysIlePheAlaProGlyPro

442 TATGGACACCCCGACCAAGTTCCTTACATTACTACATGGAGATCCTTAGCCACAGACCCCCCT
148▶ TyrGlyHisProAspGlnValProTyrIleThrThrTrpArgSerLeuAlaThrAspProPro

505 TCGTGGGTTCGTCCGTTCCCTACCCCTCCCAAACCTCCACACCCCTCCCTCAACCTCTTTTCG
169▶ SerTrpValArgProPheLeuProProProLysProProThrProLeuProGlnProLeuSer

568 CCGCAGCCCTCCGCCCCCTCTTACCTCTTCCCTCTACCCGTTCTCCCCAAGCCAGACCCCCC
190▶ ProGlnProSerAlaProLeuThrSerSerLeuTyrProValLeuProLysProAspProPro

631 AAACCGCCTGTGTTACCGCCTGATCCTTCTTCCCCTTTAATTGATCTCTTAACAGAAGAGCCA
211▶ LysProProValLeuProProAspProSerSerProLeuIleAspLeuLeuThrGluGluPro

694 CCTCCCTATCCGGGGGGTCACGGGCCACCGCCATCAGGTCTAGGACCCCAACCGCTTCCCCG
232▶ ProProTyrProGlyGlyHisGlyProProProSerGlyProArgThrProThrAlaSerPro

757 ATTGCAAGCCGGCTAAGGGAACGACGAGAAAACCTGCTGAAGAATCGCAAGCCCTCCCCTTG
253▶ IleAlaSerArgLeuArgGluArgArgGluAsnProAlaGluGluSerGlnAlaLeuProLeu

820 AGGGAAGGCCCCAACCAACCGACCCCAGTATTGGCCATTCTCAGCTTCAGACTTGTATAACTGG
274▶ ArgGluGlyProAsnAsnArgProGlnTyrTrpProPheSerAlaSerAspLeuTyrAsnTrp

883 AAGTCGCATAACCCCCCTTTCTCCCAAGATCCAGTGGCCCTAACTAACCTAATTGAGTCCATT
295▶ LysSerHisAsnProProPheSerGlnAspProValAlaLeuThrAsnLeuIleGluSerIle

946 TTAGTGACGCATCAACCAACCTGGGACGACTGCCAGCAGCTCTTGCAGGCACTCCTGACAGGC
316▶ LeuValThrHisGlnProThrTrpAspAspCysGlnGlnLeuLeuGlnAlaLeuLeuThrGly

1009 GAAGAAAGGCAAAGGGTCCTTCTTGAGGCCCGAAAGCAGGTTCCAGGCGAGGACGGACGGCCA
337▶ GluGluArgGlnArgValLeuLeuGluAlaArgLysGlnValProGlyGluAspGlyArgPro

1072 ACCCAACTACCCAATGTCATTGACGAGACTTTCCCCTTGACCCGTCCCAACTGGGATTTTGCT
358▶ ThrGlnLeuProAsnValIleAspGluThrPheProLeuThrArgProAsnTrpAspPheAla

1135 ACGCCGGCAGGTAGGGAGCACCTACGCCTTTATCGCCAGTTGCTATTAGCGGGTCTCCGCGGG
379▶ ThrProAlaGlyArgGluHisLeuArgLeuTyrArgGlnLeuLeuLeuAlaGlyLeuArgGly

Figure N° 5

7/19

1198 GCTGCAAGACGCCCCACTAATTTGGCACAGGTAAAGCAGGTTGTACAAGGGAAAGAGGAAACG
 400 ▶ AlaAlaArgArgProThrAsnLeuAlaGlnValLysGlnValValGlnGlyLysGluGluThr
 1251 CCAGCAGCATTTTTGTAGAAAGATTAAAAGAGGCTTATAGAATGTACACTCCCTATGACCCTGAG
 421 ▶ ProAlaAlaPheLeuGluArgLeuLysGluAlaTyrArgMetTyrThrProTyrAspProGlu
 1324 GACCCAGGGCAAGCGGCTAGTGTTATCCTATCCTTTATATACCAGTCTAGCCAGATATAAGA
 442 ▶ AspProGlyGlnAlaAlaSerValIleLeuSerPheIleTyrGlnSerSerProAspIleArg
 1387 AATAAGTTACAAAGGCTAGAAGGCCTACAAGGGTTCACCCTATCTGATCTGCTAAAAGAGGCA
 463 ▶ AsnLysLeuGlnArgLeuGluGlyLeuGlnGlyPheThrLeuSerAspLeuLeuLysGluAla
 1450 GAAAAGATATACAACAAAAGGGAGACCCAGAGGAAAGGGAAGAAAGATTATGGCAGCGACAG
 484 ▶ GluLysIleTyrAsnLysArgGluThrProGluGluArgGluGluArgLeuTrpGlnArgGln
 1513 GAAGAAAGAGATAAAAAGCGCCACAAGGAGATGACTAAAGTTCTGGCCACAGTAGTTGCTCAG
 505 ▶ GluGluArgAspLysLysArgHisLysGluMetThrLysValLeuAlaThrValValAlaGln
 1576 AATAGAGATAAGGATAGAGAAGAAAGTAAACTGGGGGATCAAAGGAAAATACCTCTGGGGAAA
 526 ▶ AsnArgAspLysAspArgGluGluSerLysLeuGlyAspGlnArgLysIleProLeuGlyLys
 1639 GACCAGTGTGCCTATTGCAAGGAAAAGGGGCATTGGGTTTCGCGATTGCCCCAAACGACCCAGG
 547 ▶ AspGlnCysAlaTyrCysLysGluLysGlyHisTrpValArgAspCysProLysArgProArg
 1702 AAGAAACCCGCCAACTCCACTCTCCTCAACTTAGGAGATTAGGAGAGTCAGGGCCAGGACCCC
 568 ▶ LysLysProAlaAsnSerThrLeuLeuAsnLeuGlyAsp...
 1 ▶ GluIleArgArgValArgAlaArgThrPr
 1765 CCCCCCTGAGCCCAGGATAACCTTAAAAATAGGGGGGCAACCGGTGACTTTTCTGGTGGAC
 10 ▶ oProProGluProArgIleThrLeuLysIleGlyGlyGlnProValThrPheLeuValAspTh
 1828 GGGAGCCCAGCACTCAGTACTGACTCGACCAGATGGACCTCTCAGTGACCGCACAGCCCTGGT
 31 ▶ rGlyAlaGlnHisSerValLeuThrArgProAspGlyProLeuSerAspArgThrAlaLeuVa
 1891 GCAAGGAGCCACGGGAAGCAAAAACCTACCGGTGGACCACCGACAGGAGGGTACAACCTGGCAAC
 52 ▶ lGlnGlyAlaThrGlySerLysAsnTyrArgTrpThrThrAspArgArgValGlnLeuAlaTh
 1954 CGGTAAGGTGACTCATCTTTTTTATATGTACCTGAATGTCCCTACCCGTTATTAGGGAGAGA
 73 ▶ rGlyLysValThrHisSerPheLeuTyrValProGluCysProTyrProLeuLeuGlyArgAs
 2017 CCTATTAACCTAACTTAAGGCCCAAATCCATTTTACCGGAGAAGGGGCTAATGTTGTTGGGCC
 94 ▶ pLeuLeuThrLysLeuLysAlaGlnIleHisPheThrGlyGluGlyAlaAsnValValGlyPr
 2080 CAGGGGTTTACCCCTACAAGTCCTTACTTTACAATTAGAAGAGGAGTATCGGCTATTTGAGCC
 115 ▶ oArgGlyLeuProLeuGlnValLeuThrLeuGlnLeuGluGluGluTyrArgLeuPheGluPr
 2143 AGAAAGTACACAAAACAGGAGATGGACACTTGGCTTAAAACTTTCCCCAGGCGTGGGCAGA
 136 ▶ oGluSerThrGlnLysGlnGluMetAspThrTrpLeuLysAsnPheProGlnAlaTrpAlaGl

Figure N° 5 (suite)

8/19

2206 AACAGGAGGTATGGGAATGGCTCATTGTCAAGCCCCCGTTCTCATTCAAC' TTAAGGCTACTGC
157▶ uThrGlyGlyMetGlyMetAlaHisCysGlnAlaProValLeuIleGlnLeuLysAlaThrAl
2269 CACTCCAATCTCCATCCGACAGTATCCTATGCCCCATGAAGCGTACCAGGGAATTAAGCCTCA
178▶ aThrProIleSerIleArgGlnTyrProMetProHisGluAlaTyrGlnGlyIleLysProHi
2332 TATAAGAAGAATGCTAGATCAAGGCATCCTCAAGCCCTGCCAGTCCCCATGGAATACACCCTT
199▶ sIleArgArgMetLeuAspGlnGlyIleLeuLysProCysGlnSerProTrpAsnThrProLe
2395 ATTACCTGTTAAGAAGCCAGGGACCGAGGATTACAGACCAGTGCAGGACTTAAGAGAAGTAAA
220▶ uLeuProValLysLysProGlyThrGluAspTyrArgProValGlnAspLeuArgGluValAs
2458 CAAAAGAGTAGAAGACATCCATCCTACTGTGCCAAATCCATATAACCTCCTTAGCACCCCTCCC
241▶ nLysArgValGluAspIleHisProThrValProAsnProTyrAsnLeuLeuSerThrLeuPr
2521 GCCGTCTCACCCCTTGGTACACTGTCTAGATTTAAAGGACGCTTTTTTCTGCCTGCGACTACA
262▶ oProSerHisProTrpTyrThrValLeuAspLeuLysAspAlaPhePheCysLeuArgLeuHi
2584 CTCTGAGAGTCAGTTACTTTTTGCATTTGAATGGAGAGATCCAGAAATAGGACTGTCAGGGCA
283▶ sSerGluSerGlnLeuLeuPheAlaPheGluTrpArgAspProGluIleGlyLeuSerGlyGl
2647 ACTAACCTGGACACGCCTTCCTCAGGGGTTCAAGAATAGCCCCACCCTATTTGATGAGGCCCT
304▶ nLeuThrTrpThrArgLeuProGlnGlyPheLysAsnSerProThrLeuPheAspGluAlaLe
2710 GCACTCAGACCTGGCCGATTTTCAGGGTAAGGTACCCGGCTCTAGTCCTCCTACAATATGTAGA
325▶ uHisSerAspLeuAlaAspPheArgValArgTyrProAlaLeuValLeuLeuGlnTyrValAs
2773 TGACCTCTTGCTGGCTGCGGCAACCAGGACTGAATGCCTGGAAGGGACTAAGGCACTCCTTGA
346▶ pAspLeuLeuLeuAlaAlaAlaThrArgThrGluCysLeuGluGlyThrLysAlaLeuLeuGl
2836 GACTTTGGGCAATAAGGGGTACCGAGCCTCTGGAAAGAAGGCCCAAATTTGCCTGCAAGAAGT
367▶ uThrLeuGlyAsnLysGlyTyrArgAlaSerGlyLysLysAlaGlnIleCysLeuGlnGluVa
2899 CACATACCTGGGGTACTCTTTAAAGATGGCCAAAGGTGGCTTACCAAAGCTCGGAAAGAAGC
388▶ lThrTyrLeuGlyTyrSerLeuLysAspGlyGlnArgTrpLeuThrLysAlaArgLysGluAl
2962 CATCCTATCCATCCCTGTGCCTAAAAACCCACGACAAGTGAGAGAGTTCTTGGAACTGCAG
409▶ aIleLeuSerIleProValProLysAsnProArgGlnValArgGluPheLeuGlyThrAla

Figure N° 5 (suite et fin)

9/19

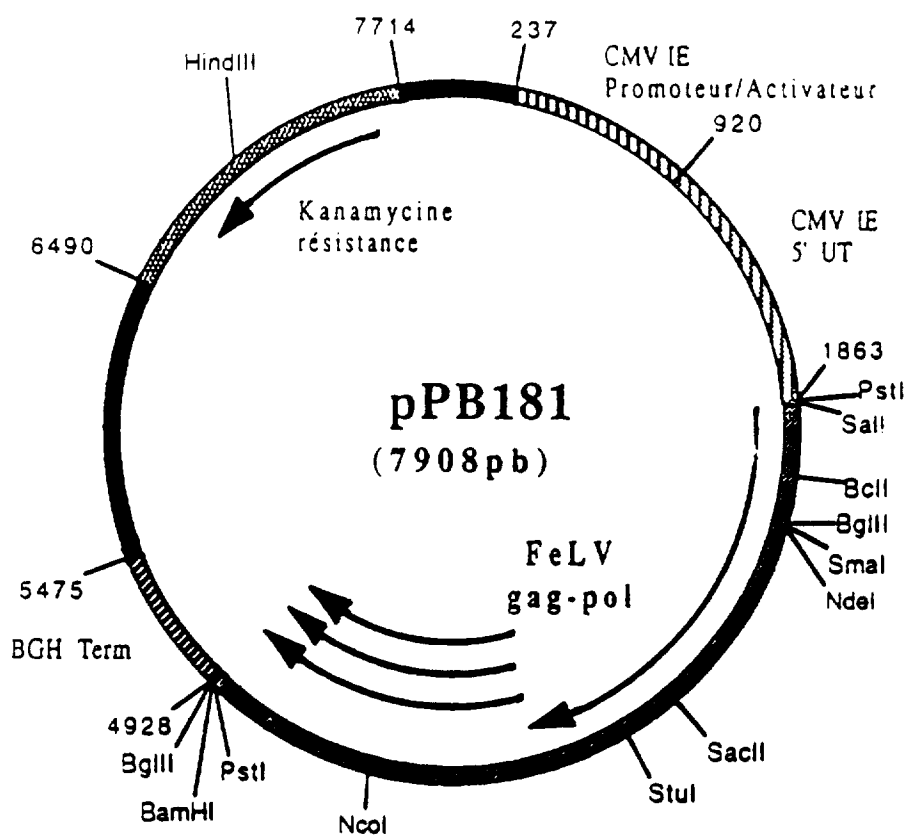


Figure N° 6

10/19

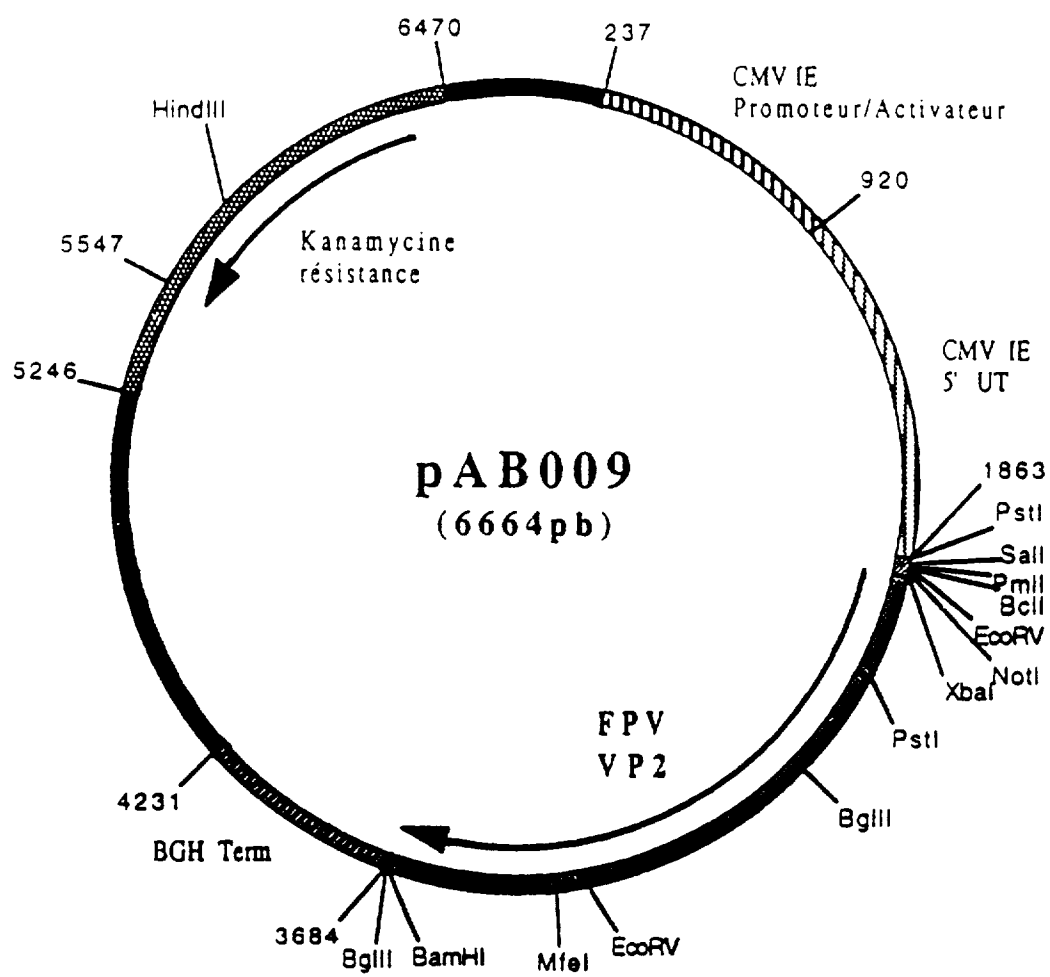


Figure N° 7

11/19

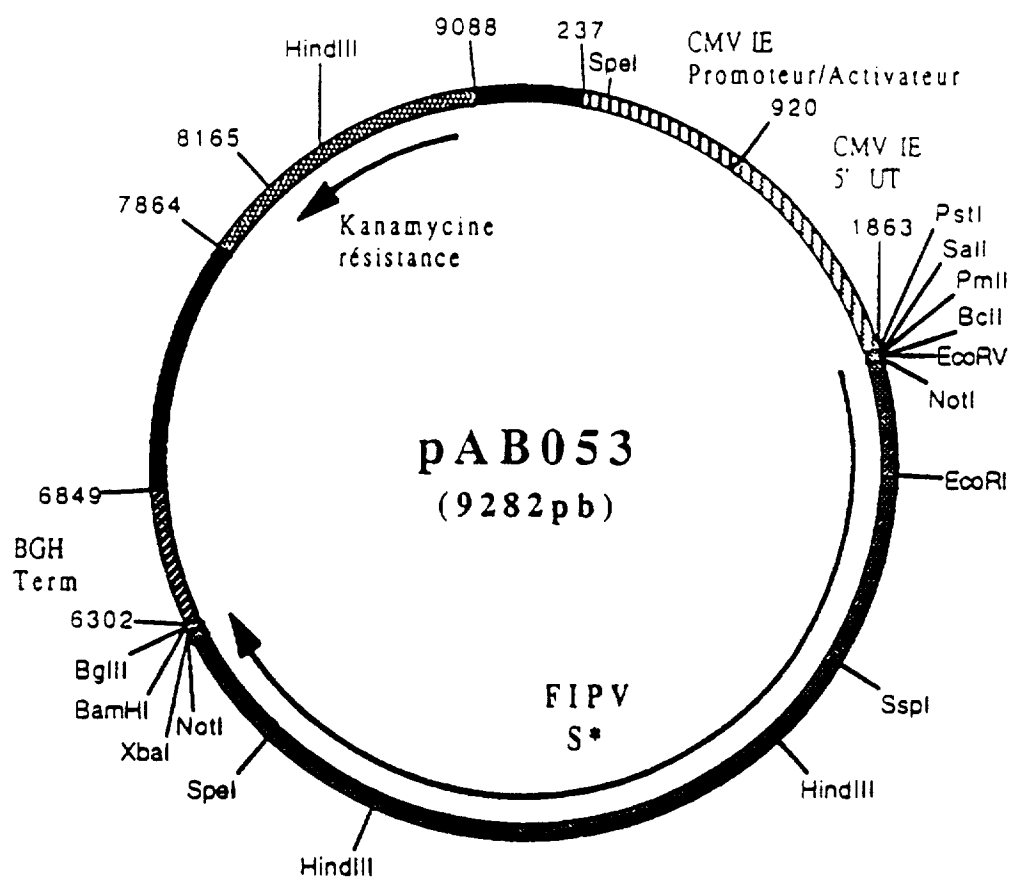


Figure N° 8

12/19

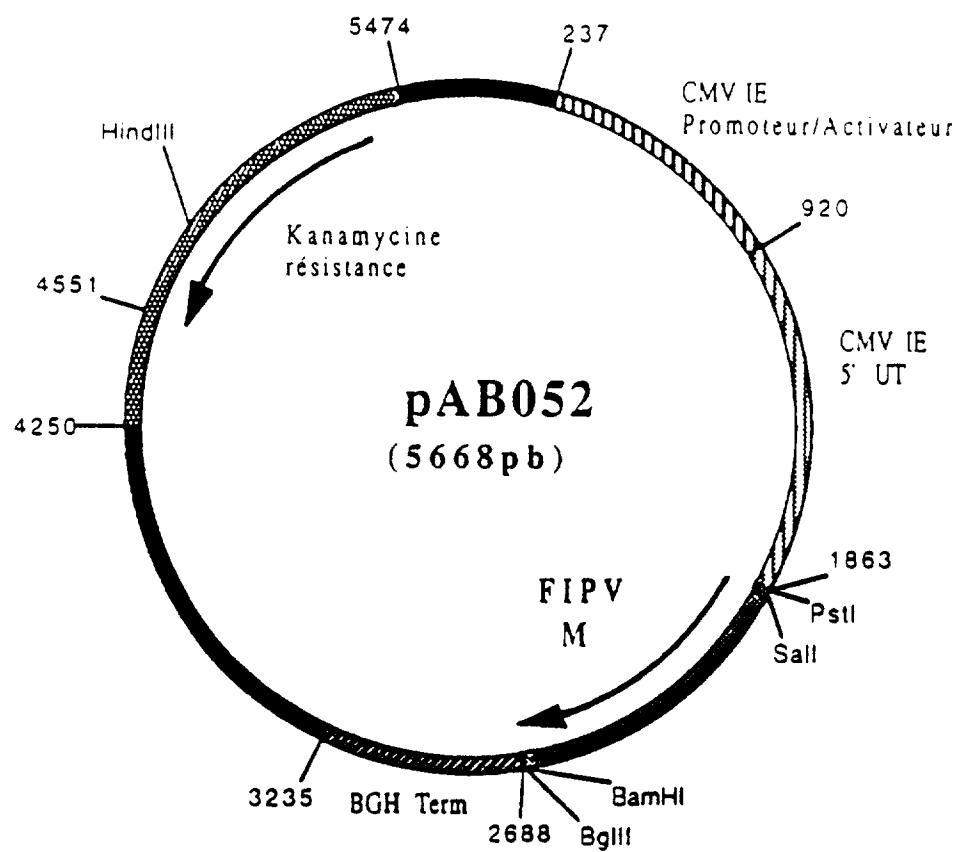


Figure N° 9

13/19

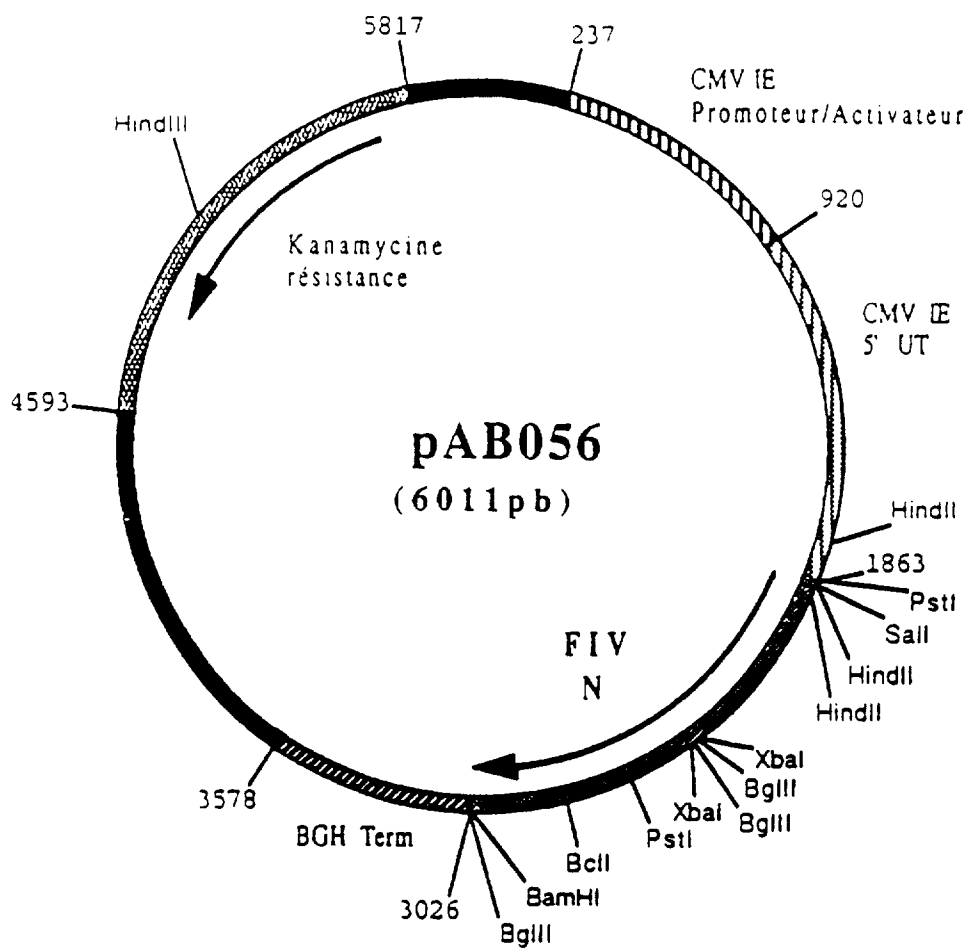


Figure N° 10

14/19

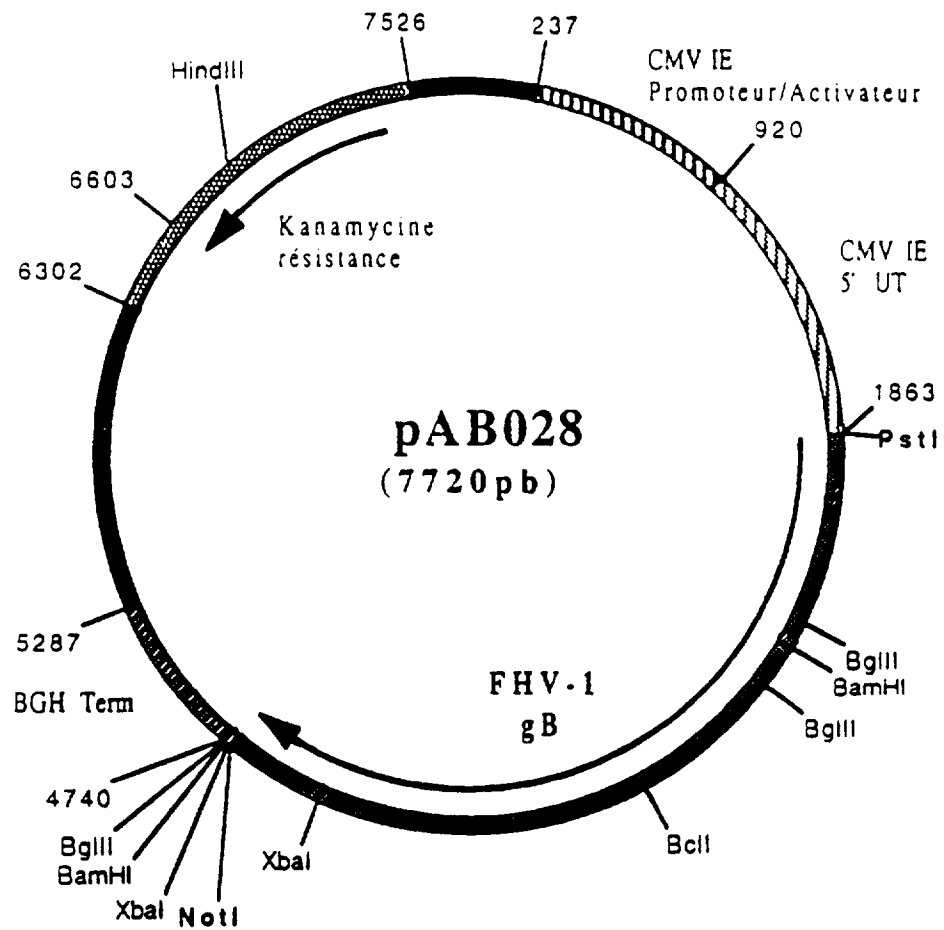


Figure N° 11

15/19

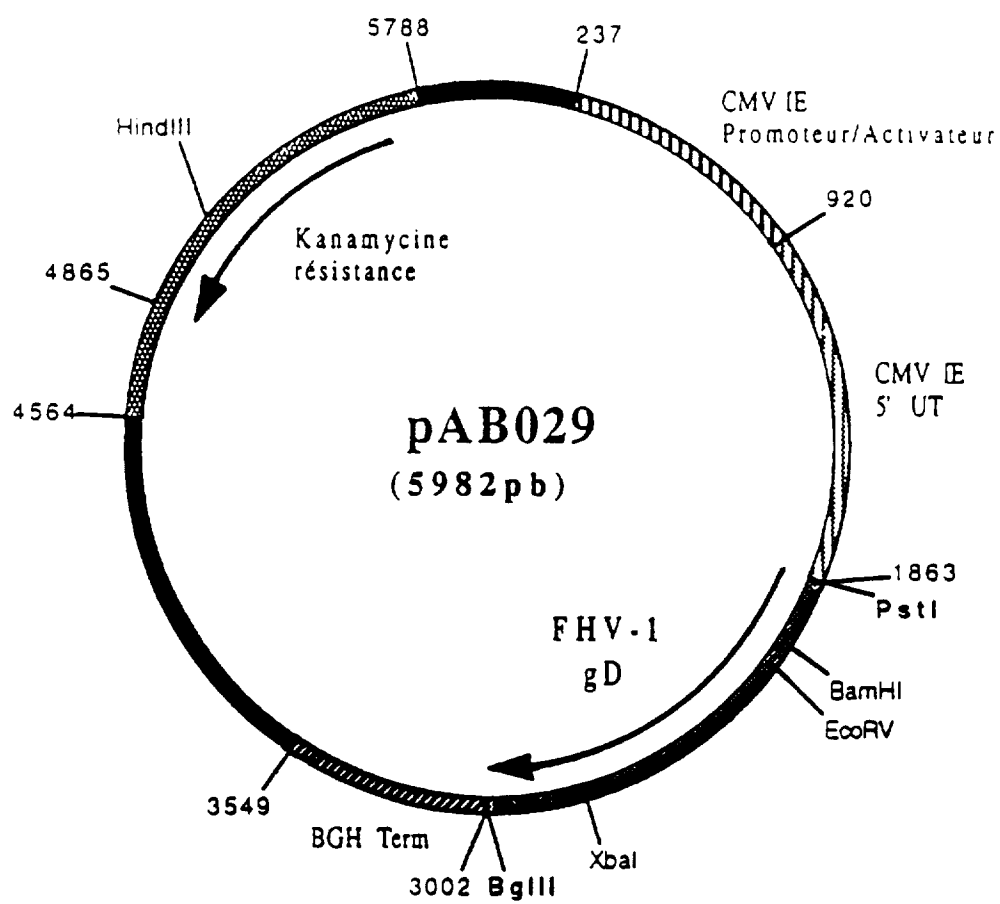


Figure N° 12

16/19

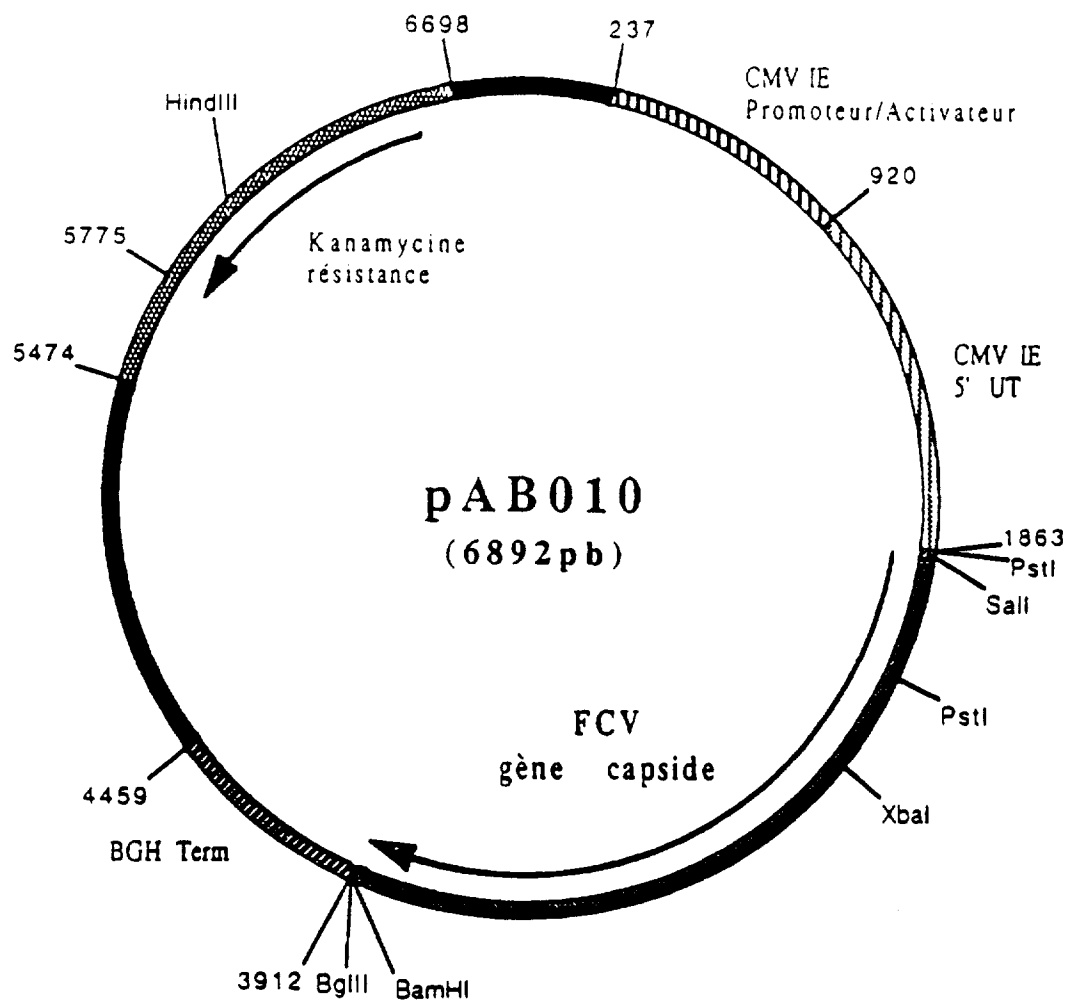


Figure N° 13

17/19

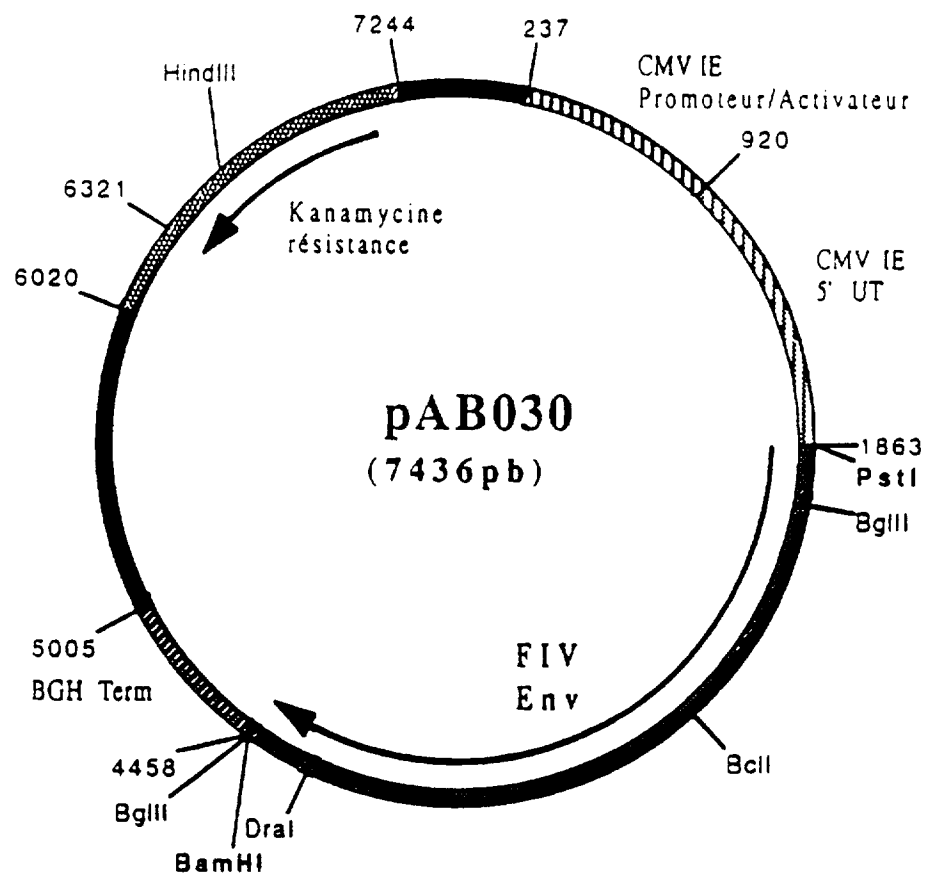


Figure N° 14

18/19

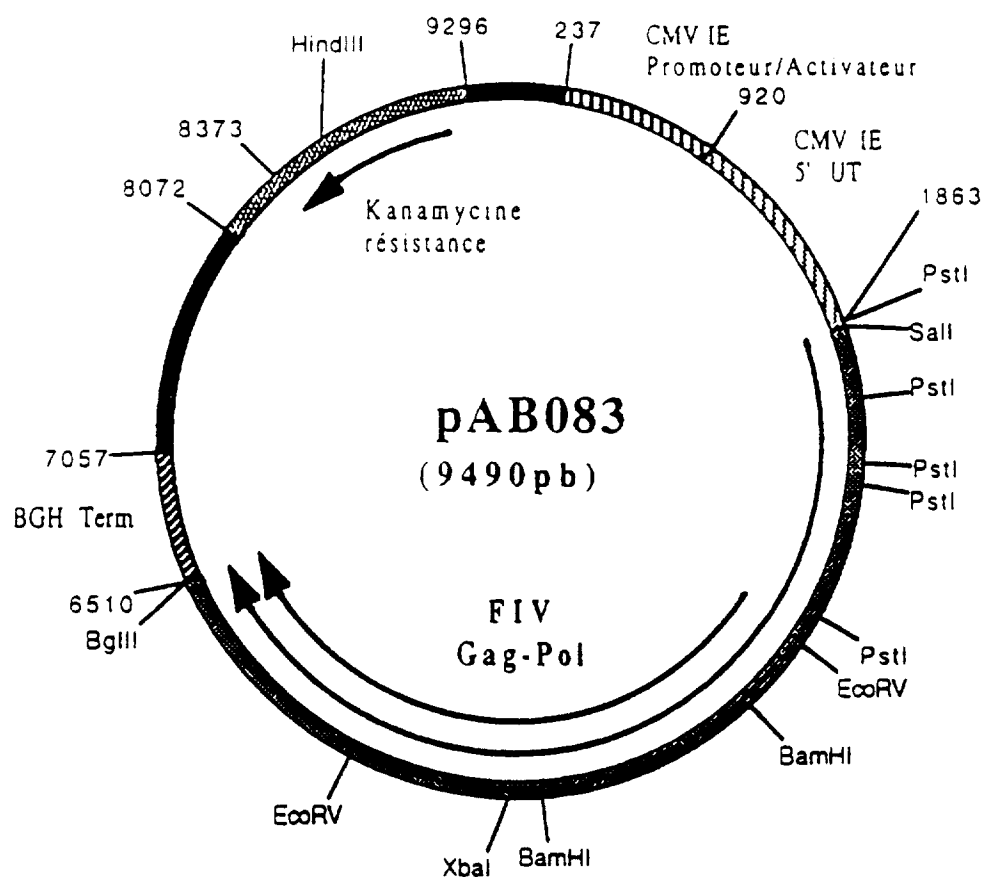


Figure N° 15

19/19

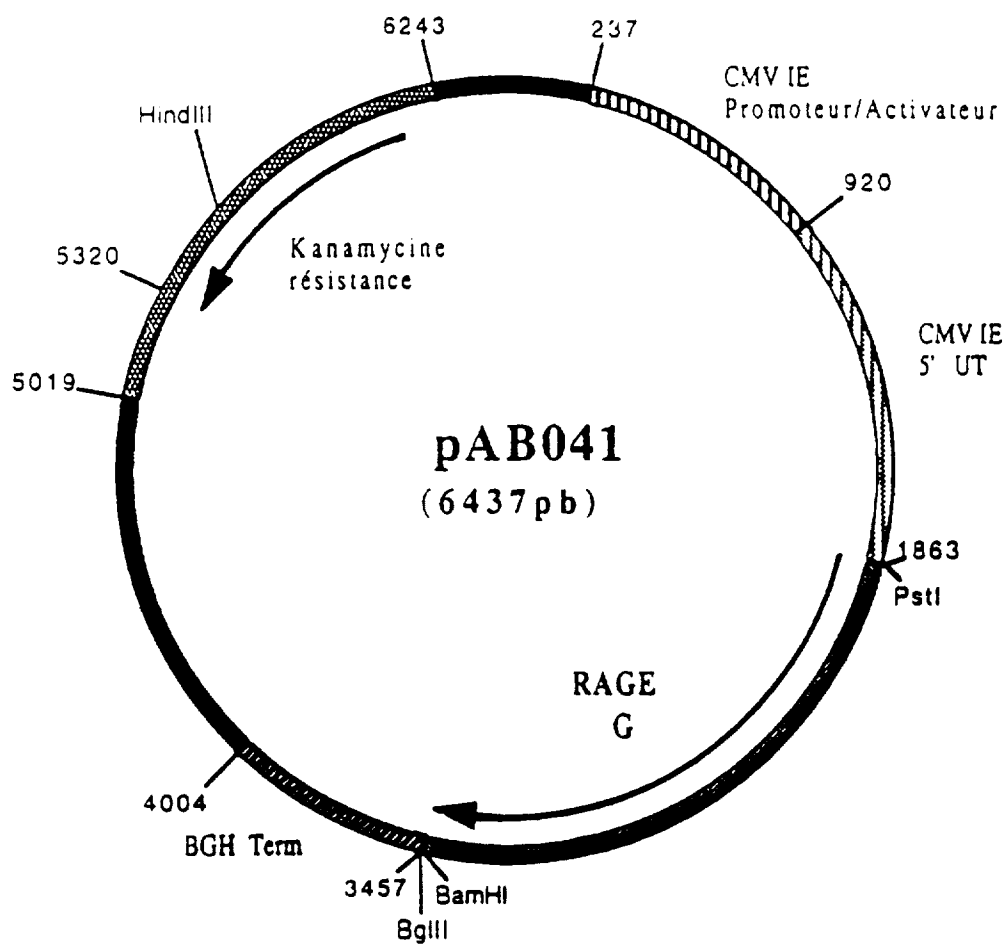


Figure N° 16

PCT/FR 97/01315

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER					
IPC 6	C12N15/48	C12N15/35	C12N15/50	C12N15/38	C12N15/40
	C12N15/49	C12N15/47	A61K39/295		

IPC 6 C07K A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WARDLEY R C ET AL: "THE USE OF FELINE HERPESVIRUS AND BACULOVIRUS AS VACCINE VECTORS FOR THE GAG AND ENV GENES OF FELINE LEUKAEMIA VIRUS" JOURNAL OF GENERAL VIROLOGY, vol. 73, no. PART 07, 1 July 1992, pages 1811-1818, XP000288657	8
A	* page 1811, abstract *	1-7,9,10
X	--- WO 96 06934 A (RHONE MERIEUX) 7 March 1996 cited in the application	8
A	see claims 1,11 ---	1-7,9,10
	--- -/--	

☒ Patent family members are listed in annex.

"8" document member of the same patent family

09/12/1997

Sitch, W

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 97/01315

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>WO 95 20660 A (UNIV MASSACHUSETTS MEDICAL ;ST JUDE CHILDREN S RESEARCH HO (US)) 3 August 1995 cited in the application see page 1, line 27 - page 3, line 13 see page 6, line 16 - page 13, line 33 -----</p>	1-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 97/01315

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
W0 9606934 A	07-03-96	FR 2724385 A	15-03-96
		AU 3261295 A	22-03-96
		CA 2198743 A	07-03-96
		EP 0778894 A	18-06-97

W0 9520660 A	03-08-95	CA 2181832 A	03-08-95
		EP 0740704 A	06-11-96
		JP 9508622 T	02-09-97
		US 5620896 A	15-04-97

PCT/FR 97/01315

page 1 de 2

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale No

PCT/FR 97/01315

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	<p>WO 95 20660 A (UNIV MASSACHUSETTS MEDICAL ;ST JUDE CHILDREN S RESEARCH HO (US)) 3 août 1995 cité dans la demande voir page 1, ligne 27 - page 3, ligne 13 voir page 6, ligne 16 - page 13, ligne 33 -----</p>	1-10

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande Internationale No

PCT/FR 97/01315

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 9606934 A	07-03-96	FR 2724385 A	15-03-96
		AU 3261295 A	22-03-96
		CA 2198743 A	07-03-96
		EP 0778894 A	18-06-97

WO 9520660 A	03-08-95	CA 2181832 A	03-08-95
		EP 0740704 A	06-11-96
		JP 9508622 T	02-09-97
		US 5620896 A	15-04-97
