

REIVINDICACIONES

1. Una composición inmunógena que comprende
(i) un polipéptido que comprende
 - un fragmento inmunógeno de una proteína VP8 de rotavirus, y
 - un fragmento Fc de inmunoglobulina,y
(ii) al menos una sustancia inmunógena, diferente de dicho polipéptido.
2. La composición inmunógena de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicho fragmento Fc de inmunoglobulina está ligado al terminal C de dicho fragmento inmunógeno de una proteína VP8 de rotavirus a través de una porción ligadora.
o en donde dicho fragmento Fc de inmunoglobulina está ligado al terminal C de dicho fragmento inmunógeno de una proteína VP8 de rotavirus a través de un enlace peptídico entre el residuo de aminoácido del terminal N de dicho fragmento Fc de inmunoglobulina y el residuo de aminoácido del terminal C de dicho fragmento inmunógeno de una proteína VP8 de rotavirus.
3. La composición inmunógena de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en donde dicho polipéptido es una proteína de fusión de la fórmula x-y-z, en donde
x consiste en un fragmento inmunógeno de una proteína VP8 de rotavirus;
y es una porción ligadora; y
z es un fragmento Fc de inmunoglobulina.
4. La composición inmunógena de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde dicho rotavirus es un rotavirus porcino,
y/o en donde dicho rotavirus se selecciona del grupo que consiste en rotavirus A y rotavirus C.
5. La composición inmunógena de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde dicho fragmento inmunógeno de una proteína VP8 de rotavirus es un dominio similar a la lectina de una proteína VP8 de rotavirus con el terminal N extendido, en donde la extensión del terminal N es de 1 a 20 residuos de aminoácidos, en particular, de 5 a 15 residuos de aminoácidos de longitud.
6. La composición inmunógena de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde dicho rotavirus se selecciona del grupo que consiste en rotavirus de genotipo P[7], rotavirus de genotipo P[6] y rotavirus de genotipo P[13].
7. La composición inmunógena de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde el fragmento inmunógeno de una proteína VP8 de rotavirus es o

consiste en una secuencia de consenso de una porción de una proteína VP8 de rotavirus, en particular de una porción de una proteína VP8 de rotavirus A, y en donde dicha secuencia de consenso de una porción de una proteína VP8 de rotavirus se puede obtener preferentemente a través de un método que comprende las etapas de:

- traducir una pluralidad de secuencias de nucleótidos que codifican una porción de una proteína VP8 de rotavirus en secuencias de aminoácidos,
- alinear dichas secuencias de aminoácidos con las proteínas VP8 de rotavirus conocidas, preferentemente, mediante el software de alineación de secuencias MUSCLE, con parámetros de penalización por brecha y agrupación UPGMB predeterminados.
- someter dichas secuencias alineadas a un análisis filogenético y generar una reconstrucción de filogenia de unión de vecinos (*neighbor joining*) en función de la secuencia de la proteína VP8 de rotavirus, en particular, importar dichas secuencias de aminoácidos alineadas al *software* MEGA7 para su análisis filogenético y generar una reconstrucción de filogenia de unión de vecinos en función de la secuencia de la proteína VP8 de rotavirus.
- calcular el contenido óptimo mediante el uso del método de corrección Poisson con una prueba de filogenia de arranque (n=100),
- dibujar el contenido óptimo a escala con longitudes de ramificación iguales a las distancias evolutivas en unidades de sustituciones de aminoácidos por sitio en 170 posiciones totales,
- considerar significativos los nodos donde la asociación de cúmulos de arranque es mayor de 70 %,
- designar como grupos los nodos con una distancia aproximada de 10 % y las asociaciones de cúmulos de arranque superiores a 70 %, y
- seleccionar un grupo y generar las secuencias de consenso mediante la identificación de la mayor frecuencia por posición alineada dentro del grupo,
- y opcionalmente, en los casos donde se observan proporciones equivalentes de aminoácidos en una posición alineada, seleccionar el residuo de aminoácido en función de los datos epidemiológicos informados junto con un perfil de protección del producto predefinido.

8. La composición inmunógena de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde el fragmento inmunógeno de la proteína VP8 de rotavirus consiste en

una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 %, preferentemente, al menos 95 %, con mayor preferencia, al menos 98 % o, incluso con mayor preferencia, al menos 99 % de identidad de secuencia con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 y SEQ ID NO: 6.

9. La composición inmunógena de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde dicho fragmento Fc de inmunoglobulina es un fragmento Fc de inmunoglobulina codificado por el genoma de una especie cuyas células intestinales son susceptibles a una infección por el rotavirus del que deriva el fragmento inmunógeno de una proteína VP8 de rotavirus,
y/o en donde dicho fragmento Fc de inmunoglobulina es preferentemente un fragmento Fc de IgG porcina,
y/o en donde dicho fragmento Fc de inmunoglobulina comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, preferentemente, al menos 80 %, con mayor preferencia, al menos 90 %, incluso con mayor preferencia, al menos 95 % o en particular 100 % de identidad de secuencia con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 7 y SEQ ID NO: 8.
10. La composición inmunógena de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde dicha porción ligadora es una secuencia de aminoácidos de 1 a 50 residuos de aminoácidos de longitud,
y/o en donde dicha porción ligadora comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 66 %, preferentemente, al menos 80 %, con mayor preferencia, al menos 90 %, incluso con mayor preferencia, al menos 95 % o en particular 100 % de identidad de secuencia con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 9 (Gly-Gly-Ser), SEQ ID NO: 10 y SEQ ID NO: 11.
11. La composición inmunógena de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde dicho polipéptido es una proteína que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, preferentemente al menos 80 %, con mayor preferencia al menos 90 %, incluso con mayor preferencia al menos 95 % o en particular al menos 100 % de identidad de secuencia con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15 y SEQ ID NO: 16.
12. La composición inmunógena de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde la al menos una sustancia inmunógena, diferente de dicho polipéptido,

consiste en dos o más sustancias inmunógenas, en donde todas esas sustancias inmunógenas son diferentes de dicho polipéptido y diferentes entre sí.

13. La composición inmunógena de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en donde el componente **(ii)** consiste en dos o más sustancias inmunógenas, en donde cada una de dichas sustancias comprende un antígeno de rotavirus, y en donde todos dichos antígenos de rotavirus son diferentes de dicho fragmento inmunógeno del componente **(i)** y diferentes entre sí.
14. La composición inmunógena de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en donde dicho polipéptido es un primer polipéptido que comprende
 - un primer fragmento inmunógeno de una proteína VP8 de rotavirus, y
 - un fragmento Fc de inmunoglobulina;

y

la al menos una sustancia inmunógena, diferente de dicho polipéptido, comprende o consiste en

un segundo polipéptido que comprende un segundo fragmento inmunógeno de una proteína VP8 de rotavirus, en donde dicho segundo fragmento inmunógeno es diferente de dicho primer fragmento inmunógeno,

y preferentemente un tercer polipéptido que comprende un tercer fragmento inmunógeno de una proteína VP8 de rotavirus, en donde dicho tercer fragmento inmunógeno es diferente de dicho primer y segundo fragmento inmunógeno,

y opcionalmente un cuarto polipéptido que comprende un cuarto fragmento inmunógeno de una proteína VP8 de rotavirus, en donde dicho cuarto fragmento inmunógeno es diferente de la totalidad de dicho primer al tercer fragmento inmunógeno.

15. La composición inmunógena de acuerdo con la reivindicación 14, en donde la al menos una sustancia inmunógena, diferente de dicho polipéptido, comprende o consiste en
 - un segundo polipéptido que comprende un segundo fragmento inmunógeno de una proteína VP8 de rotavirus, y
 - un tercer polipéptido que comprende un tercer fragmento inmunógeno de una proteína VP8 de rotavirus,

y en donde cada uno de dicho primer a tercer fragmento inmunógeno se selecciona individualmente del grupo que consiste en **X7**, **X6**, **X13** y **XC**,

en donde

X7 representa un fragmento inmunógeno de una proteína VP8 de rotavirus de genotipo P[7]

X6 representa un fragmento inmunógeno de una proteína VP8 de rotavirus de genotipo P[6],

X13 representa un fragmento inmunógeno de una proteína VP8 de rotavirus de genotipo P[13], y

XC representa un fragmento inmunógeno de una proteína VP8 de rotavirus C; siempre que cuando dicho primer fragmento inmunógeno sea **X7**, entonces dicho segundo fragmento inmunógeno es **X6** y dicho tercer fragmento inmunógeno se selecciona del grupo que consiste en **X13** y **XC**,

siempre que cuando dicho primer fragmento inmunógeno sea **X6**, entonces dicho segundo fragmento inmunógeno es **X7** y dicho tercer fragmento inmunógeno se selecciona del grupo que consiste en **X13** y **XC**,

siempre que cuando dicho primer fragmento inmunógeno sea **X13**, entonces dicho segundo fragmento inmunógeno es **X7** y dicho tercer fragmento inmunógeno se selecciona del grupo que consiste en **X6** y **XC**,

y siempre que cuando dicho primer fragmento inmunógeno sea **XC**, entonces dicho segundo fragmento inmunógeno es **X7** y dicho tercer fragmento inmunógeno se selecciona del grupo que consiste en **X6** y **X13**.

16. La composición inmunógena de acuerdo con la reivindicación 14 o 15, en donde la al menos una sustancia inmunógena, diferente de dicho polipéptido, comprende o consiste en

un segundo polipéptido y

un tercer polipéptido,

y en donde cada uno de dicho primer a tercer polipéptido se selecciona individualmente del grupo que consiste en **R7**, **R13**, **R6** y **RC**,

en donde

R7 es una proteína que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, preferentemente, al menos 80 %, con mayor preferencia, al menos 90 %, incluso con mayor preferencia, al menos 95 % o en particular 100 % de identidad de secuencia con una secuencia seleccionada del grupo que consiste

en SEQ ID NO: 12,

R13 es una proteína que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, preferentemente, al menos 80 %, con mayor preferencia, al menos 90 %, incluso con mayor preferencia, al menos 95 % o en particular 100 % de identidad de secuencia con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 14,

R6 es una proteína que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, preferentemente, al menos 80 %, con mayor preferencia, al menos 90 %, incluso con mayor preferencia, al menos 95 % o en particular 100 % de identidad de secuencia con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 13, y

RC es una proteína que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, preferentemente, al menos 80 %, con mayor preferencia, al menos 90 %, incluso con mayor preferencia, al menos 95 % o en particular 100 % de identidad de secuencia con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 15;

siempre que cuando dicho primer polipéptido sea **R7**, entonces dicho segundo polipéptido es **R13** y dicho tercer polipéptido se selecciona del grupo que consiste en **R6** y **RC**,

siempre que cuando dicho primer polipéptido sea **R6**, entonces dicho segundo polipéptido es **R7** y dicho tercer polipéptido se selecciona del grupo que consiste en **R13** y **RC**,

siempre que cuando dicho primer polipéptido sea **R13**, entonces dicho segundo polipéptido es **R7** y dicho tercer polipéptido se selecciona del grupo que consiste en **R6** y **RC**,

y siempre que cuando dicho primer polipéptido sea **RC**, entonces dicho segundo polipéptido es **R7** y dicho tercer polipéptido se selecciona del grupo que consiste en **R13** y **R6**.

17. La composición inmunógena de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, que comprende
 - (i) una proteína que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, preferentemente al menos 80 %, con mayor preferencia al menos 90 %, incluso con mayor preferencia al menos 95 % o en particular al menos 100 % de identidad de secuencia con una secuencia

seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 12, y

- (ii) una proteína que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, preferentemente al menos 80 %, con mayor preferencia al menos 90 %, incluso con mayor preferencia al menos 95 % o en particular al menos 100 % de identidad de secuencia con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 13 y SEQ ID NO: 15.

18. La composición inmunógena de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17 para su uso como medicamento, preferentemente para su uso como vacuna.
19. La composición inmunógena de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17 para su uso en un método para reducir o prevenir uno o más signos clínicos, mortalidad o excreción fecal causados por una infección por rotavirus en un sujeto, para su uso en un método para tratar o prevenir una infección por rotavirus en un sujeto,
y/o para su uso en un método para inducir una respuesta inmunitaria contra el rotavirus en un sujeto.
20. Un método para reducir o prevenir uno o más signos clínicos, mortalidad o excreción fecal causados por una infección por rotavirus en un lechón, en donde dicho método comprende
 - administrar la composición inmunógena de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17 a una cerda, y
 - permitir que dicho lechón sea amamantado por dicha cerda.
21. La composición inmunógena de acuerdo con la reivindicación 19 o el método de acuerdo con la reivindicación 20, en donde dichos uno o más signos clínicos se seleccionan del grupo que consiste en
 - diarrea,
 - colonización por rotavirus, en particular colonización por rotavirus del intestino,
 - lesiones, en particular lesiones macroscópicas,
 - disminución del aumento de peso diario promedio, y
 - gastroenteritis.
22. La composición inmunógena de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 19 o 21 o el método de acuerdo con la reivindicación 20 o 21, en donde
 - dicha infección por rotavirus es una infección con rotavirus de genotipo P[23] y/o rotavirus de genotipo P[7],

- dicha infección con un rotavirus es una infección con rotavirus de genotipo P[23] y/o rotavirus de genotipo P[7], o
 - dicha respuesta inmunitaria contra rotavirus es una respuesta inmunitaria contra rotavirus de genotipo P[23] y/o rotavirus de genotipo P[7].
23. Un método para producir la composición inmunógena de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, en donde el método comprende las etapas de:
- (a) permitir la infección de células susceptibles en cultivo con un vector que comprende una secuencia de ácidos nucleicos que codifica un polipéptido según se especifica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde dicho vector expresa dicho polipéptido;
 - (b) a partir de esto, recuperar dicho polipéptido, en particular en el sobrenadante del cultivo celular, en donde, preferentemente, los residuos celulares se separan de dicho polipéptido mediante una etapa de separación, preferentemente, que incluye una microfiltración a través de al menos un filtro, preferentemente, dos filtros, en donde el al menos un filtro, preferentemente, tiene un tamaño de poro de alrededor de 1 a alrededor de 20 μm y/o de alrededor de 0,1 μm a alrededor de 4 μm ;
 - (c) inactivar el vector mediante la adición de etilenimina binaria (BEI) a la mezcla de la etapa (b);
 - (d) neutralizar el BEI mediante la adición de tiosulfato de sodio a la mezcla resultante de la etapa (c); y
 - (e) concentrar el polipéptido en la mezcla resultante de la etapa (d) mediante la eliminación de una porción del líquido de la mezcla mediante una etapa de filtración mediante el uso de un filtro con una membrana de filtro que tiene un recorte de peso molecular de entre alrededor de 5 kDa y alrededor de 100 kDa, preferentemente, entre alrededor de 10 kDa y alrededor de 50 kDa;
- y en donde dicho método comprende las etapas de
- (f) mezclar la mezcla restante después de la etapa (e) con al menos una sustancia inmunógena, diferente de dicho polipéptido;
 - (g) y, opcionalmente, mezclar la mezcla restante después de la etapa (f) con un componente adicional seleccionado del grupo que consiste en portadores, adyuvantes, diluyentes y excipientes aceptables desde el punto de vista farmacéutico, y combinaciones de estos,
- o en donde dicho método comprende las etapas de
- (f) mezclar la mezcla restante después de la etapa (e) con un componente adicional

seleccionado del grupo que consiste en portadores, adyuvantes, diluyentes y excipientes aceptables desde el punto de vista farmacéutico, y combinaciones de estos, y

(g) mezclar la mezcla restante después de la etapa (f) con al menos una sustancia inmunógena, diferente de dicho polipéptido.